

Estudo experimental da erva mate (Ilex paraguariensis) como agente etiológico de neoplasia do trato aéro-digestivo: aspectos histológicos e evolução ponderal

RAFAEL JOSÉ VARGAS ALVES¹

ROBERTO CHACUR²

CAROLINE BUZZATTI²

MARTA ISABEL CARUCCIO HÜBNER²

MARINA DIAS DE OLIVEIRA²

TIAGO HERMES MAESO MONTES²

GERALDO PEREIRA JOTZ³

HONÓRIO SAMPAIO MENEZES⁴

CLÁUDIO GALLEANO ZETTLER⁴

EDUARDO WALKER ZETTLER⁴

RESUMO

Existem estudos que consideram o “chimarrão” como fator de risco para desenvolvimento do câncer de orofaringe, esôfago e laringe (infusão de erva mate, Ilex paraguariensis). Comparar a histologia do trato aéro-digestivo de ratos submetidos ao consumo de erva mate Ilex paraguariensis, com um grupo controle. Setenta e cinco ratos Wistar adultos foram testados, 60 bebendo mate na temperatura ambiente e 15 bebendo água (grupo controle), durante 5 meses. A histologia do trato aéro-digestivo destes animais foi

¹ Acadêmico do Curso de Medicina/ULBRA - Bolsista PROICT/ULBRA

² Acadêmicos do Curso de Medicina/ULBRA

³ Professor – Orientador do Curso de Medicina/ULBRA (jotz.voz@terra.com.br)

⁴ Professores do Curso de Medicina/ULBRA

analisada. Os animais apresentaram alterações nos exames anátomo-patológicos havendo diferença significativa ($p=0,02$) entre os que tomaram mate e o grupo controle. Não houve diferença estatística entre o peso corporal final dos grupos em estudo e o grupo controle ($p=0,65$). Este estudo indica que o consumo de mate afetou o trato aerodigestivo superior, mas não induziu câncer e não alterou o peso final dos animais estudados.

Palavras - chave: mate, câncer, esôfago, laringe.

ABSTRACT

Maté (*Ilex paraguariensis*) consumption has been associated with a risk factor to development oral, oropharyngeal, esophageal and laryngeal cancers. The purpose of this study is to compare histological findings on animal under maté intake and a control group. Seventy five adults Wistar rats were tested, 60 drinking maté at room temperature and 15 drinking water (control) during a period of five mounts. The histology of the aerodigestive tracts was analyzed. When the analysis was performed showed a significant difference ($p=0.02$) between maté drinkers and the control group. Final body weight had no difference among groups ($p=0.65$). There is evidence to suggest that the consumption of maté affects the upper aerodigestive tract in the animals studied, but not induce cancer nor influenced the final body weight.

Key words: maté, cancer, esophagus, larynx.

INTRODUÇÃO

O hábito de tomar mate, ou chimarrão, como também é conhecida esta bebida, uma infusão quente, feita com as folhas secas e picadas de *Ilex paraguariensis*, tem sido implicada como possível causa de câncer do trato aerodigestivo na América do Sul, onde elevadas taxas de incidência são observadas numa área que inclui o sul do Brasil, Uruguai e nordeste da Argentina. O mate uma infusão bebida através de um tubo metálico (bomba) que traz o líquido quente diretamente à parte posterior da língua e orofaringe, de onde é imediatamente deglutido.

Este hábito é comum em áreas com maior incidência de câncer esofágico e não é comum nas outras áreas com menor incidência (MUNOZ et al., 1987).

Um estudo de caso-controle mostrou associação do carcinoma epidermóide de esôfago com álcool, tabaco, consumo de carne e ingestão de mate (MUNOZ et al., 1987).

Outro estudo evidenciou um risco relativo 12,2 vezes maior de desenvolver câncer de esôfago para os bebedores de mais de 2,5 litros de mate por dia (VICTORA, 1990).

Os dois possíveis mecanismos envolvidos na elevação dos riscos para câncer de esôfago, o

primeiro envolveria substâncias carcinogênicas no extrato da planta e o segundo a injúria térmica potencializando a ação de outros carcinógenos ingeridos (VICTORA, 1990).

A injúria térmica foi estudada no Paraguai (PROLLA, 1993), no Japão (SEGI, 1975), no Irã (IARC, 1977), na União Soviética (KOLYCHEVA, 1980) e em Porto Rico (MARTINEZ, 1969), sugerindo associação entre a ingestão de bebidas quentes e o desenvolvimento de câncer esofágico, suspeitando-se que a alta temperatura em que é bebido, ou seja, a 69,5 °C (VICTORA, 1990; BARROS et al., 2000) possa potencializar a carcinogênese, especialmente quando associado com álcool e tabaco (KRUEL et al., 1995).

O mate também é usado pela medicina popular para perda de peso, como estimulante do sistema nervoso central, diurético e anti-reumático (GOSMANN et al., 1989).

As pesquisas utilizando modelos experimentais com animais têm sido de grande valor, pois permitem aos pesquisadores utilizarem métodos que não podem ser aplicados aos seres humanos.

O conhecimento dos casos de câncer, formas de manifestação, evolução e mortalidade são imprescindíveis para o conhecimento e aperfeiçoamento do tratamento bem como sua prevenção.

O presente estudo tem por objetivo avaliar o peso ponderal e a histologia do trato aérodigestivo de ratos submetidos ao consumo de erva mate *Ilex paraguariensis*, ingerida em temperatura ambiente, comparando com um grupo que recebeu somente água durante o período de estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi experimental, utilizando uma população de 75 ratos Wistar adultos (250-300g), divididos em 3 (três) grupos de 20 (vinte) ratos cada, que consumiram um preparado de erva-mate (com folhas do tipo I) com água ambiente durante 5 meses, e um grupo de 15 (quinze) ratos que consumiram água sem erva-mate, como grupo controle, sendo analisados os seus aparelhos aéro-digestivo com exame anatomopatológico (hematoxilina-eosina e imuno-histoquímica – Ki 67 e p53), no 8º (oitavo) mês de vida do rato.

Os grupos ingeriram a bebida em temperatura ambiente, porém preparada com água quente no modelo padrão do chimarrão tradicional (folhas de erva-mate moídas). Cada grupo de estudo consumiu um tipo de erva-mate, grupo 1: Erva-mate verde (produto com acentuado teor de grânulos finos, que conserva o paladar amargo e se destina à degustação como chimarrão, apresentando uma coloração verde e espuma. Este produto é o preferido pelo consumidor gaúcho); grupo 2: Erva-mate pura folha (erva-mate tipo exportação, que possui baixíssima quantidade de paus; passa por um processo de descanso e envelhecimento na armazenagem, configurando um produto menos verde, é mais suave, de acordo com o gosto de mercado externo) e o grupo 3: erva-mate *in natura* (produto elaborado pelos pesquisadores com folhas de origem controlada, com moagem intermediária entre os dois produtos anteriores).

Ratos com 3 meses de idade são considerados adultos, e com 8 meses são considerados idosos. Sendo assim, foi escolhido este período de 5 meses para melhor simular o consumo humano.

Os ratos, além do preparado da erva-mate, consumiram “Nuvilab ®”, ração especial para sua espécie. O mesmo tipo de ração foi oferecido para o grupo controle.

Tanto o consumo do preparado de erva mate (marcas A®, B® e C®; grupos 1, 2 e 3, respectivamente), como a ingestão de ração foram controlados diariamente, estabelecendo-se controle rígido de consumo para o três grupos de ratos. Cabe salientar que a erva mate da marca C é de cultivo controlado e conhecido (*in natura*).

Após a eutanásia dos ratos, procedeu-se a análise microscópica dos tecidos do trato aerodigestivo do animal. As peças anatômicas (língua, faringe, traquéia, esôfago, estômago, duodeno e pâncreas) foram avaliadas macro e microscopicamente. O material obtido foi processado em histotécnica com confecção de bloco de parafina, cortado em micrótomo, corado pelo método de hematoxilina e eosina. Após, as lâminas foram estudadas em microscópio óptico. As lesões encontradas foram ordenadas por grau de alteração celular e feita correlação entre o grau de alteração celular das lesões e o tipo de erva mate utilizada.

Os animais foram tratados de acordo com a Lei 6.638 de 08 de maio de 1979 e com o Manual para técnicos de biotério, que regulamenta e indica cuidados mínimos e dignos para animais de experimentação, bem como com orientações preconizadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa de ambas Instituições que sediaram o experimento.

Para registro e análise dos dados foi utilizado o sistema SPSS. Os resultados foram expressos em estatística descritiva, e utilizados o teste ANOVA, Tukey, exato de Fischer e o qui-quadrado. O limite alfa considerado nestas comparações será de 5%, com nível de significância alfa de 0,05.

RESULTADOS

O controle sobre 60 ratos recebendo mate diariamente e um grupo controle de 15 ratos, seguido de exames anátomo-patológicos do trato aerodigestivo permitiu colher os resultados abaixo discriminados.

A Tabela 1 revela os resultados dos exames a que foram submetidas às peças.

Tabela 1 - Resultados dos exames anátomo-patológicos e imuno-histoquímicos (Ki 67 e p53) nas peças coletadas (língua, faringe, traquéia, esôfago, estômago, duodeno, pâncreas, rim e bexiga) de acordo com os grupos do estudo.

Grupo	Grupo 1 (A) (N=20)	Grupo 2 (B) (N=20)	Grupo 3 (C) (N=20)	Controle (N=15)
Sem alteração	8	15	7	10
Traqueíte	6	0	3	1
Bronquiolite	6	2	7	2
Mesotelioma mediastino	0	1	0	0
Traqueíte crônica	0	1	0	1
Metaplasia escamosa da traquéia	0	0	1	0
Pneumonia	0	1	0	0
Fibrose pleural	0	0	1	0
Hiperplasia glandular traqueal	0	0	1	0
Hiperplasia epitelial do esôfago	0	0	0	1

Os animais apresentaram alterações nos exames anátomo-patológicos (Tabela 1) havendo diferença significativa ($p=0,02$) entre os que tomaram mate (os três grupos como um todo) e o grupo controle. Ocorreu apenas um tumor

maligno dentre os animais do grupo que tomou mate, relacionado ao mediastino. O trato respiratório foi o mais atingido.

A variação do peso corporal foi anotada e produziu os resultados demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Resultados da análise da evolução dos pesos dos animais de acordo com os grupos do estudo.

Grupo	Grupo 1 (A) (N=20)	Grupo 2 (B) (N=20)	Grupo 3 (C) (N=20)	Controle (N=15)
Peso inicial	385,90	390,85	369,50	297,13
Peso final	438,35	452,15	452,55	444,40
Variação %	13,87	15,69	23,65	44,08

Tukey $p=0,65$, sem diferença no peso final. ANOVA peso inicial diferente $p=0,001$

O grupo 1 teve ganho ponderal médio de 13,87% (DP=6,49), o grupo 2 teve ganho ponderal médio de 15,69 (DP=3,78), o grupo 3 teve ganho ponderal médio de 23,65% (DP=14,33) e o grupo controle teve ganho ponderal médio de 44,08% (DP=5,82). Houve diferença estatística entre os grupos em estudo e o grupo controle ($p<0,001$) diferença essa anulada quando feito o ajuste do peso inicial do grupo controle assim ficando $p=0,65$. A diferença entre o grupo que usou erva da *marca C* (*in natura*) e os grupos que usaram erva comercial (A e B) ficou em $p<0,03$.

DISCUSSÃO

Este estudo avaliou as alterações de peso e histológicas do trato aéro-digestivo de ratos submetidos ao consumo de erva mate *Ilex paraguariensis*, ingerida em temperatura ambiente, eliminando o fator de confusão da temperatura alta da água, uma vez que este fato é relatado como fator de risco para desenvolvimento de câncer nos bebedores de mate (GOLDENBERG et al., 2003).

Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento de neoplasia maligna do trato aerodigestivo, a erva mate (hábito de tomar chimarrão) tem sido referenciada na literatura como um fator importante. Um fator em que ainda não se observou um consenso na literatura é a quantidade de mate consumido, assim como a já referida temperatura da infusão. Entretanto, como nós não infundimos líquidos quentes, o fator temperatura foi descartado.

O câncer de laringe, de boca, orofaringe em indivíduos tomadores de mate tem alta prevalência no Uruguai (De STEFANI et al., 1987) e no sul do Brasil (PINTOS et al., 1994), apresentando fator de risco dobrado em comparação com sujeitos que não tomam mate. Quando foram associados fatores de risco como tabaco e álcool (vinho) o risco aumentou cinco vezes (De STEFANI et al., 1988). O câncer de língua foi estudado no Uruguai (OREGGIA et al., 1991) onde o risco é de 2,5 entre os tomadores de mate. No câncer de boca e orofaringe existe o fator do calor local na gênese de alterações epiteliais, pois em nosso estudo não conseguimos demonstrar que a erva-mate pudesse ter potencial carcinógeno, não descartando entre-

tanto, os possíveis efeitos relacionados a sua exposição a longo prazo.

O câncer de esôfago em áreas onde o hábito de beber mate é prevalente, como no Uruguai e no Sul do Brasil, existe alta incidência deste tipo de tumor (VASSALO et al., 1985). VICTORA et al. (1987) encontraram uma taxa de 1.9 de risco de desenvolvimento do câncer de esôfago em tomadores de mate em comparação com não tomadores. VASSALO et al. (1985) descreveram que mate contém taninos, responsável sobre o aumento de câncer de esôfago.

ROLON et al. (1995), CASTELLSAQUE et al. (2000) estudaram a relação de câncer de esôfago com tomadores de mate quente, não relacionando com o hábito de tomar mate frio, indicando a água muito quente como fator desencadeador do risco de câncer esofágico, fato não confirmado por outros pesquisadores como De STEFANI et al. (1996) e PINTOS et al. (1994). Em nosso estudo, entretanto, não observamos alterações ao exame anátomo-patológico no trato digestivo, mostrando que ao retirarmos o calor como fator de risco, os tipos de erva-mate estudadas não se mostraram danosas ao tecido.

MUNHOZ et al. (1987) confirmaram histologicamente a ocorrência de esofagite em bebedores de mate, fato não encontrado em nossas amostras.

Embora a injúria térmica tem sido sugerida como mecanismo de ação, a carcinogênese química do mate não foi excluída ainda, pois se observa na literatura que vários autores indicam que a erva-mate em si possui um componente carcinogênico e mutagênico intrínseco, independente da infusão com água quente e do produto final (MUNHOZ et al., 1987; De STEFANI et al., 1988;

ROLON et al., 1995; FONSECA et al., 2000). Ainda, os derivados fenatrênicos, incluindo o benzopireno, já foram identificados nas frações químicas do mate, estas substâncias têm se mostrado como carcinogênico em laboratórios animais, quando purificados e aplicados sobre a pele destes (VASSALO et al., 1985; LIMA et al., 2004).

Em estudo *in vitro* FONSECA et al. (2000) encontraram extratos de mate genotóxicos, mutagênicos e indutor de aberrações cromossômicas em linfócitos periféricos tratados com mate. Estes compostos presentes no mate podem ser responsáveis pelo aumento do risco de câncer de pulmão observado em estudo caso-controle no Uruguai (De STEFANI et al., 1996). No presente estudo aparecem alterações patológicas evidentes nos tecidos do trato aéreo (traquéia, brônquios e pulmões), muito provavelmente pela ação indireta destas substâncias, uma vez que há uma diferença significativa entre os grupos de ratos que ingeriram mate e os ratos do grupo controle.

Na literatura não encontramos dados sobre a carcinogenicidade da ingestão de mate por animais de experimentação (GOLDENBERG et al., 2003). Entretanto, observamos em nosso estudo a presença de um rato portador de neoplasia (mesotelioma de mediastino) entre aqueles que ingeriram mate, sendo a única víscera com alterações neoplásicas dentre as vísceras dos ratos estudados, o que não descarta a hipótese de que, ao combinarmos outros fatores de risco com a ingestão do mate, este exerça um efeito potencializador de carcinogênese, como o fato referido por De STEFANI et al. (1988), justificando a alta taxa de câncer de bexiga no Uruguai. Além disto, a exposição a este tipo de erva (Tipo I) bem como as três marcas estudadas não nos permitem afirmar que a ingestão de mate não tenha efeitos carcinógenos.

O emagrecimento dos animais tratados, efeito esperado como refere GOSMANN et al. (1989), provavelmente por seu efeito diurético e estimulante do sistema nervoso central, não pode ser comprovado na presente amostra uma vez que o peso dos animais ao final do experimento, após ajuste do peso inicial do grupo controle, não apresentou diferença significativa entre os grupos estudados e o grupo controle. Ao compararmos os grupos que ingeriram as ervas-mates, observamos diferença significativa ($p < 0,03$) entre o grupo que usou erva da *marca C (in natura)* e os grupos que usaram erva comercial (A e B), sugerindo que o fator diurético de algumas ervas comerciais pode ser maior do que outras.

O estudo aqui conduzido eliminou fatores de confusão e analisou um período longo da vida de animais de experimentação, sendo o mate foi preparado de acordo com o costume local e deixado esfriar. O que poderia ser modificado, eventualmente, seria a concentração da infusão e o número de animais utilizados.

CONCLUSÃO

De acordo com os dados apresentados é possível concluir que os animais que ingeriram a infusão de erva mate apresentaram alterações no trato respiratório nos exames anátomo-patológicos, havendo diferença estatisticamente significativa entre estes e o grupo controle. Ocorreu um tumor maligno de mediastino entre os animais de experimentação do grupo que tomou mate. As infusões preparadas com erva mate não alteraram o peso final dos ratos havendo igualdade entre os grupos e o grupo controle nesta variável.

Agradecimentos: Agradecemos ao Antonio Rios pelo apoio logístico no trato com os animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, S.G.S. et al. Mate (chimarrão) é consumido em alta temperatura por população sob risco para o carcinoma epidermóide de esôfago. *Arquivos de Gastroenterologia*, v.37, n.1, p.25-30, 2000.

CASTELLSAGUE, X. et al. Influence of mate drinking, hot beverages and diet on esophageal cancer risk in South America. *International Journal of Cancer*, v.88, p.658-664, 2000.

DE STEFANI, E. et al. Black tobacco, mate, and bladder cancer. *Cancer*, v.67, p.536-540, 1991.

DE STEFANI, E. et al. Black tobacco, wine and mate in oropharyngeal cancer. Case – control study from Uruguay. *Revue d'Épidemiologie et de Santé Publique*, v.36, p.389-394, 1988.

DE STEFANI, E. et al. Risk factors for laryngeal cancer. *Cancer*, v. 60, p.3087-3091, 1987.

DE STEFANI, E. et al. Mate drinking and risk of lung cancer in males: a case-control study from Uruguay. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, v.5, p.515-519, 1996.

DE STEFANI, E. et al. Mate drinking, alcohol, tobacco, diet, and esophageal cancer in Uruguay. *Cancer Research*, v.50, p.426-431, 1990.

- FONSECA, C.A. et al. Non-toxic, mutagenic, and clastogenic activities of mate-chimarrão (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**, v.19, p.333-346, 2000.
- GOLDENBERG, D.; GOTZ, A.; JOACHIMS, H.Z. The beverage mate: a risk factor for cancer of the head and neck. **Head & Neck**, v.25, n.7, p.595-601, 2003.
- GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P.; SELIGMA, A.O. A new saponin from mate, *Ilex paraguariensis*. **Journal of Natural Products**, v.52, p.438-441, 1989.
- IARC/IRAN STUDY GROUP. Esophageal cancer studies in the Caspian litoral of Iran; results of population studies. A prodrome. **Journal of the National Cancer Institute**, v.59, p.1127-1138, 1977.
- KOLYCHEVA, N.I. **Epidemiology of esophageal cancer in the USSR**. Joint USA/USSR., 1980. Monograph.
- KRUEL, C.D.P. et al. Hot-water effect in the esophageal carcinogenesis experimental model in mice. In: WORLD CONGRESS OF INTERNATIONAL SOCIETY FOR DISEASES OF THE ESOPHAGUS, 6., 1995, Milan. **Abstracts...** Milan, 1995. p.199.
- LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A.; LIMA, D.E.S. Nota prévia: teor de compostos fenólicos totais em chás brasileiros. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.7, n.2, p.187-190, 2004.
- MARTINEZ, I. Factors associated with cancer of the esophagus, mouth and pharynx in Puerto Rico. **Journal of the National Cancer Institute**, v.42, p.1069-1094, 1969.
- MUNOZ, N. et al. Hot maté drinking and precancerous lesions of the oesophagus: an endoscopic survey in southern Brazil. **International Journal of Cancer**, v.39, p.708-709, 1987.
- OREGGIA, F. et al. Risk factors for cancer of the tongue in Uruguay. **Cancer**, v.67, p.180-183, 1991.
- PINTOS, J. et al. Mate, coffee, and tea consumption and risk of cancers of the upper aerodigestive tract in southern Brazil. **Epidemiology**, v.5, p.583-590, 1994.
- PROLLA, J.C.; DIETZ, J.; DA COSTA, L.A. Diferenças geográficas na mortalidade por câncer de esôfago no Rio Grande do Sul. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.39, p.217-220, 1993.
- ROLON, P.A. et al. Hot and cold mate drinking and esophageal cancer in Paraguay. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v.4, p.595-605, 1995.
- SEGI, M. Tea-gruel as a possible factor for cancer of the esophagus. **GAMM – Mitteilungen**, v.66, p.199-202, 1975.
- VASSALO, A. et al. Esophageal cancer in Uruguay: a case-control study. **Journal of the National Cancer Institute**, v.75, p.1005-1009, 1985.
- VICTORA, C.G. et al. Hot beverages and oesophageal cancer in southern Brazil: a case-control study. **International Journal of Cancer**, v.39, p.710-716, 1987.
- VICTORA, C.G. et al. Patterns of maté drinking in a Brazilian city. **Cancer Research**, v.50, p.7112-7115, 1990.