

Estudo Experimental da Erva Mate (Ílex Paraguariensis) como Agente Etiológico de Neoplasia do Trato Aéreo-digestivo

Mate (Ilex Paraguariensis) as an Etiological Agent of Neoplasia in the Aerodigestive Tract. An Experimental Study

Geraldo Pereira Jotz*, **Honório Sampaio Menezes****, **Claudio Galleano Zettler****, **Rafael José Vargas Alves*****, **Roberto Chacur******, **Caroline Buzzatti******, **Mariana Dias de Oliveira******, **Tiago Hermes Maeso Montes******, **Marta Hübner*******, **Eduardo Walker Zettler*******.

* Doutor em Medicina (ORL e CCP) pela UNIFESP (Chefe do Serviço de Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Universidade Luterana do Brasil).

** Doutor em Medicina (Professor Adjunto da ULBRA).

*** Acadêmico de Medicina - ULBRA (Acadêmico de Medicina - ULBRA).

**** Médico (a).

***** Acadêmico de Medicina - ULBRA (Acadêmico de Medicina - ULBRA).

***** Acadêmica de Medicina - ULBRA (Pesquisadora Associada).

***** Doutor em Medicina (Professor Adjunto da Ulbra).

Instituição: Universidade Luterana do Brasil.

Endereço para correspondência: Rua Dom Pedro II 891 conj. 604 – Porto Alegre / RS – CEP 90550-142

Este artigo foi submetido no SGP (Sistema de Gestão de Publicações) da R@IO em 8/8/2006 e aprovado em 26/9/2006 06:26:15.

RESUMO

- Introdução:** 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*).
- Objetivo:** Comparar a histologia do trato aéreo-digestivo de ratos submetidos ao consumo de erva mate *Ilex paraguariensis*, com um grupo controle.
- Material e Método:** 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 aéreo-digestivo destes animais foi analisada.
- Resultados:** Os animais apresentaram alterações nos exames anátomo-patológicos havendo diferença significativa ($p=0,02$) entre os que tomaram mate e o grupo controle. Houve diferença estatística entre o peso corporal dos grupos em estudo e o grupo controle ($p<0,001$).
- Conclusão:** Este estudo indica que o consumo de mate afeta o trato aerodigestivo superior e é responsável pela perda de peso dos animais estudados.
- Palavras-chave:** mate, câncer, esôfago, pulmão, faringe, traquéia.

SUMMARY

- Background:** There are studies that consider drinking “chimarrão” (an infusion of mate, *Ilex paraguariensis*) a risk factor for developing oropharynx, esophagus and larynx cancer.
- Aim:** To make a histological comparison between the aerodigestive tracts of a group of rats submitted to the consumption of erva-mate *Ilex paraguariensis*, with a control group.
- Methods:** Seventy-five adult Wistar rats were tested, 60 drinking mate at room temperature and 15 drinking water (control group), during a period of 5 months. The histology of the aerodigestive tracts of these animals was analyzed.
- Results:** The animals presented alterations in the anatomical-pathological exams. There was a significant difference ($p=0.02$) between those that were given mate and the control group.
- Conclusion:** There is evidence to suggest that the consumption of mate affects the upper aerodigestive tract in the animals studied, but not inducing cancer.
- Key words:** mate, cancer, esophagus, lung, pharynx, trachea.

INTRODUÇÃO

O hábito de tomar mate, ou chimarrão, como também é conhecida esta bebida, por 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.

Este hábito é comum em áreas com maior incidência de câncer esofágico e não é comum nas outras áreas com menor incidência (1).

MUNOZ et al. (1) relataram um estudo de caso-controle que mostrou associação do carcinoma epidermóide de esôfago com álcool, tabaco, consumo de carne e ingestão de mate.

VICTORA et al. (2) descreveram 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. 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 (2).

A injúria térmica foi estudada no Paraguai (3), no Japão (4), no Irã (5), na União Soviética (6) e em Porto Rico (7), 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 (2,8) possa potencializar a carcinogênese, especialmente quando associado com álcool e tabaco (9).

O mate também é usado pela medicina popular para perda de peso, como estimulante do sistema nervoso central, diurético e antireumático (10).

O presente estudo tem por objetivo avaliar o peso ponderal e a histologia do trato aerodigestivo 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, analisando-se apenas o efeito do produto, sem o efeito térmico.

MATERIAL E MÉTODO

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 aerodigestivo 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 o estudo histológico dos tecidos do trato aerodigestivo, incluindo traquéia, pulmões, língua, faringe, esôfago, estômago, duodeno e pâncreas. O material obtido foi processado em histotécnico com confecção de blocos de parafina, com cortes em micrótomo na espessura de 5 micras. Foram obtidos três cortes, sendo o primeiro parafina e utilizado para a coloração pelo método de hematoxilina e eosina. Os dois seguintes, foram obtidos em organossilano para estudo imunohistoquímico dos anticorpos p53 e ki67.

Aspectos éticos

Os animais foram tratados de acordo com a Lei 6.638

Tabela 1. Resultados dos exames anátomo-patológicos e imuno-histoquímicos (Ki 67 e p53) nas peças coletadas (língua, faringe, traquéia, esôfago, estômago, duodeno, pâncreas) 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

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

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.

Análise estatística

Para registro e análise dos dados foi utilizado o sistema SPSS. Os resultados foram expressos em estatística descritiva, e utilizados o teste 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 língua e a orofaringe não apresentaram alterações histológicas relevantes.

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

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 (Mesotelioma de mediastino) dentre os animais do grupo que tomou mate, relacionado ao mediastino, sendo este, um achado ocasional. O trato respiratório foi o mais atingido, tendo sido observado um grande número de alterações inflamatórias respiratórias (traqueíte, bronquillite, traqueíte crônica, metaplasia escamosa da traqueia, pneumonia, hiperplasia glandular traqueal e fibrose pleural).

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

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 ($p<0,001$) e 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 aerodigestivo 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 (11).

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 (12) e no sul do Brasil (13), 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 (14). O câncer de língua foi estudado no Uruguai (15) 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 entretanto, 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 (16). VICTORA et al. (17) 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. (16) descreveram que mate contém taninos, responsável sobre o aumento de câncer de esôfago.

ROLON et al. (18), CASTELLSAGUE et al. (19) 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. (20) e PINTOS et al. (13). 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.

MUNOZ et al. (1) 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 (1,14, 18, 21). Ainda, os derivados fenotéricos, 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 (16, 22).

Em estudo *in vitro* FONSECA et al. (21) 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 (23). 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 (11). 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. (24), justificando a alta taxa de câncer de bexiga no Uruguai. Além disto, a exposição a este tipo de erva (Tipo D) bem como as três marcas estudadas não nos permitem afirmar que a ingestão de mate não tenha efeitos carcinógenos.

O emagrecimento (ou o pouco peso ganho) dos animais está de acordo com o efeito esperado para a ingesta de mate, como refere GOSMANN et al. (10), provavelmente por seu efeito diurético e estimulante do sistema nervoso central. Entretanto, neste estudo utilizamos apenas erva-mate tipo I e, ao compararmos as erva-mates comerciais (A, B e C) entre si e com o grupo controle, podemos observar diferença significativa em relação ao

peso ponderal, com diferença significativamente maior para o grupo controle. Ao comparamos 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), comprovando que o fator diurético de algumas ervas comerciais 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 aerodigestivo 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, de achado ocasional. As infusões preparadas com erva mate diminuíram significativamente o ganho de peso dos ratos que ingeriram o mate em relação ao controle, durante o período estudado.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Munoz N, Victora CG, Crespi M, Saul C, Braga NM, Correa P. Hot maté drinking and precancerous lesions of the oesophagus: na endoscopic survey in southern Brazil. *Int J Câncer* 1987;39:708-9.
2. Victora CG, Munoz N, Horta BL, Ramos EO. Patterns of maté drinking in a Brazilian city. *Cancer Res* 1990;50:7112-5.
3. Prolla JC, Dietz J, Da Costa LA. Diferenças geográficas na mortalidade por câncer de esôfago no Rio Grande do Sul. *Ver Assoc MÉD Brás* 1993;39:217-20.
4. Segi M. Tea-gruel as a possible factor for cancer of the esophagus. *Gann* 1975;66:199-202.
5. IARC/Iran Study Group. Esophageal cancer studies in the Caspian litoral of Iran; results of population studies. A prodrome. *J Natl Cancer Inst* 1977;59:1127-38.

6. Kolycheva NI. Epidemiology of esophageal cancer in the USSR. Joint USA/USSR. Monograph, 1980.
7. Martinez I. Factors associated with cancer of the esophagus, mouth and pharynx in Puerto Rico. *J Natl Câncer Inst* 1969;42:1069-94.
8. Barros SGS, Ghisolfi ES, Luz LP, Barlem GG, Vidal RM, Wolf FH et al. Mate (chimarrão) é consumido em alta temperatura por população sob risco para o carcinoma epidermóide de esôfago. *Arq Gastroenterol* 2000;37(1):25-30.
9. Kruehl CDP, Gurski R, Cavazzola LT, Kruehl CRP, Madruga G, Sfair JA. Hot-water effect in the esophageal carcinogenesis experimental model in mice. In: sixth world congress of international society for diseases of the esophagus, Milan, Italy. Abstract. 1995. p.199.
10. Gosmann G, Schenkel EP, Seligmaa O. A new saponin from mate, *Ilex paraguariensis*. *J Natl Prod* 1989;52:438-441.
11. Goldenberg D, Gotz A, Joachims HZ. The beverage mate: a risk factor for cancer of the head and neck. *Head & Neck* 2003, 25(7):595-601
12. De Stefani E, Correa P, Oreggia F et al. Risk factors for laryngeal cancer. *Cancer* 1987;60:3087-3091.
13. Pintos J, Franco EL, Oliveira BV, Kowalski LP, Curado MP, Dewar R. Mate, coffee, and tea consumption and risk of cancers of the upper aerodigestive tract in southern Brazil. *Epidemiology* 1994;5:583-590.
14. De Stefani E, Correa P, Oreggia F et al. Black tobacco, wine and mate in oropharyngeal cancer. Case-control study from Uruguay. *Rev Epidemiol Sante Publique* 1988;36:389-394.
15. Oreggia F, De Stefani E, Correa P, Fierro L. Risk factors for cancer of the tongue in Uruguay. *Cancer* 1991;67:180-183.
16. Vassalo A, Correa P, De Stefani E, et al. Esophageal cancer in Uruguay: a case-control study. *J Natl Cancer Inst* 1985;75:1005-1009.
17. Victora CG, Munoz N, Day NE, Barcelos LB, Peccin DA, Braga NM. Hot beverages and oesophageal cancer in southern Brazil: a case-control study. *Int J Cancer* 1987;39:710-716.
18. Rolon PA, Catellsague X, Benz M, Munoz N. Hot and cold mate drinking and esophageal cancer in Paraguay. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995;4:595-605.

19. Castellsague X, Munoz N, De Stefani E, Victora CG, Castelletto R, Rolon PA. Influence of mate drinking, hot beverages and diet on esophageal cancer risk in South America. *Int J Cancer* 2000;88:658-664.
20. De Stefani E, Munoz N, Esteve J, Vasallo A, Victora CG, Teuchmann S. Mate drinking, alcohol, tobacco, diet, and esophageal cancer in Uruguay. *Cancer Res* 1990;50:426-431.
21. Fonseca CA, Otto SS, Paumgarten FJ, Leitão AC. Non-toxic, mutagenic, and clastogenic activities of mate-chimarrão (*Ilex paraguariensis*). *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2000;19:333-346.
22. Lima VLAG, Mélo EA, Lima DES. Nota prévia: teor de compostos fenólicos totais em chás brasileiros. *Braz J Food Technol* 2004; 7(2):187-190.
23. De Stefani E, Fierro L, Correa P, Fontham E, Ronco A, Larrinaga M, Balbi J, Mendilaharsu M. Mate drinking and risk of lung cancer in males: a case-control study from Uruguay. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5:515-519.
24. De Stefani E, Correa P, Fierro L, Fontham E, Chen V, Zavala D. Black tobacco, mate, and bladder cancer. *Cancer* 1991;67:536-40.