



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE NA AMAZÔNIA
OCIDENTAL: CURSO DE MESTRADO

OYATAGAN LEVY PIMENTA DA SILVA

EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO E DO LÁTEX DE JANAÚBA (*Synadenium grantii*) SOBRE A INDUÇÃO TUMORAL EM CAMUNDONGOS

RIO BRANCO - AC

2019

OYATAGAN LEVY PIMENTA DA SILVA

EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO E DO LÁTEX DE JANAÚBA (*Synadenium grantii*) SOBRE A INDUÇÃO TUMORAL EM CAMUNDONGOS

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Romeu Paulo Martins Silva

Rio Branco - AC

2019

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

S586e Silva, Oyatagan Levy Pimenta da, 1989 -
Efeito do exercício físico e do látex de janaúba (*Synadeniumgrantii*) sobre a
indução tumoral em camundongos / Oyatagan Levy Pimenta da Silva; orientador:
Prof. Dr. Romeu Paulo Martins Silva . – 2019.
51 f.: il.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental, Rio Branco, 2019.
Inclui referências bibliográficas e anexos.

1. Exercício resistido. 2. Janaúba. 3. Câncer. I. Silva, Romeu Paulo Martins
(Orientador). II. Título.

CDD: 610.7


Bibliotecário: Uéilton Nascimento Torres CRB-11º/1074

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE NA AMAZÔNIA
OCIDENTAL: CURSO DE MESTRADO**


OYATAGAN LEVY PIMENTA DA SILVA

EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO E DO LÁTEX DE JANAÚBA (*Synadenium grantii*) SOBRE A INDUÇÃO TUMORAL EM CAMUNDONGOS

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Romeu Paulo Martins Silva
Universidade Federal de Goiás
Orientador/Presidente


Prof.ª Dr.ª Mariane Arnoldi Silva
Centro Universitário Meta
Membro Externo


Prof. Dr. Ricardo dos Santos Pereira
Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Acre
Membro Externo

Dissertação Aprovada em: 30/09/2019

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus pais, Manoel Cleudo e Maria Iolanda, por serem sempre meus incentivadores, e acreditarem que este é o melhor caminho. Com vocês, aprendi que Dedicação e Educação muda a vida, e hoje essa mudança é a minha realização. E ao meu Avô, Antônio Nivaldo (*in memoriam*) por todo empenho, quando necessário, para que tivesse a estrutura física necessária para realizar este estudo. Apesar de não estar fisicamente para ver o resultado, todo mérito será dado, e minha gratidão é eterna.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, meu **Princípio e Fim**, por ter permitido a chegada até aqui.

Aos **Meus Pais, Cleudo e Iolanda**, por todo incentivo, carinho e disponibilidade.

Ao **Meu Orientador, Prof. Dr. Romeu Paulo Martins Silva**, por acreditar na pesquisa, incentivar o aprimoramento, e por ter dado os primeiros passos para concretização do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Amazônica Ocidental da Universidade Federal do Acre, um marco para este Estado e mudança na vida acadêmica e profissional de muitos mestrandos.

Aos **Professores, Dr.^a Mariane Arnoldi Silva e Dr. Ricardo dos Santos Pereira**, por todas as considerações, acompanhamento e incentivos. Pela dedicação e atenção neste processo. Vocês são minha inspiração como docente.

As **Minhas Irmãs, Cleudilanda Paula e Danuza Anesca**, pelo auxílio nos momentos que precisei, e por todo incentivo nessa caminhada.

A uma **Grande Gestora, Paula Daniele Batista**, por no início dessa caminhada ter acreditado, incentivado e possibilitado a concretização de muitos passos. Ser incentivadora da Ciência é uma forma de marcar a Educação.

A **Técnica e Amiga, Erlenilce Lopes Ferreira**, pelo acompanhamento, atenção e ensino de muitos processos de análises.

Ao **Professor Sérgio Luiz Prolo Júnior**, pela atenção, amizade e companheirismo dados no processo de finalização neste estudo.

Aos **professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**, e em especial ao **Prof. Dr. Miguel Junior Sordi Bortolini**, por acompanhar, incentivar e mostrar caminhos para a pesquisa. E aos Professores **Dr. Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti e Dr. Orivaldo Florencio de Souza** que tornaram muitas pesquisas em publicações científicas durante o Curso.

Aos **Meus Amigos, Me. Anderson Freitas e Me. Diego Lima**, pelo início da caminhada no estudo experimental, experiências e desafios compartilhados.

Aos meus **Amigos e Familiares**, por toda torcida e apoio durante está caminhada.

E por fim, **Aos Meus Alunos, Danilo Oliveira, Hélio Neto, Larissa Moura e Matheus Eremith**, por toda dedicação, compromisso e disponibilidade. A caminhada ficou mais prazerosa com eles. Sem dúvidas, são pesquisadores natos. Muito obrigado por compartilharem preocupações e boas risadas.

Epígrafe

"A Ciência e a Educação são os caminhos para a transformação. Devemos acreditar incansavelmente."

Opatagan Lery

RESUMO

O câncer é um grupo de mais 100 doenças caracterizado pelo crescimento celular desordenado. Dano ao DNA provocados por fatores exógenos (ambientais) e endógenos (internos) são as principais causas para a quebra da homeostase celular e proliferação desordenada. As evidências atuais já demonstram os benefícios da atividade física. Especula-se que os efeitos benéficos do esporte nas neoplasias se deem por três motivos: diminuição da adiposidade corporal, produção de citocinas anti-inflamatórias e redução da expressão de receptores do tipo Toll nos monócitos e macrófagos. A Janaúba (*Synadenium grantii*) na qual tem-se associado atividade anti-inflamatória e na imunoregulação, tem sido utilizada com tratamento de patologias, inclusive o câncer. Esta pesquisa teve o objetivo de verificar o efeito do exercício físico e do látex de janaúba (*Synadenium grantii*) sobre a indução tumoral. Foram utilizados 60 camundongos machos, Swiss, *Mus musculus*, divididos em 10 grupos experimentais. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, obedecendo ao ciclo de claro e escuro na proporção de 12 horas claro e 12 horas escuro. Foi administrado o látex diluído em água na quantidade de 0,20ml de látex três vezes por semana através de gavagem. A indução tumoral foi realizada pelo tumor de Ehrlich intraperitonealmente. Após adaptação, os camundongos realizaram exercício físico resistido, suas cargas máximas em uma só repetição aferidas e em seguida colocada uma carga na calda iniciando-se com 60% do 1 RM, seguidos de 70% e 80% durante a segunda semana. O sangue para análise bioquímica foi coletado por punção cardíaca no primeiro dia após o término dos experimentos. Para a realização das análises estatísticas, foi utilizado o software GraphPad Prism 8.0. Foi estabelecido o valor de $P \leq 0,05$ para as diferenças significativas. Houve diferença na variação de peso corporal dos grupos controles e dos que passaram por tratamento. O grupo controle que realizou exercício apresentou diferença significativa em relação aos demais na medida de circunferência. O Lactato apresentou uma menor concentração nos grupos com indução tumoral que passaram por tratamento. O látex de janaúba (*Synadenium grantii*) apresentou um efeito redutor nos valores de lactato dos grupos com desenvolvimento de tumor ascítico de Ehrlich em camundongos Swiss.

Palavras-chave: Exercício resistido; Janaúba; Câncer

ABSTRACT

Cancer is a group of over 100 diseases characterized by disordered cell growth. DNA damage caused by exogenous (environmental) and endogenous (internal) factors are the main causes for cell homeostasis breakdown and disordered proliferation. Current evidence already demonstrates the benefits of physical activity. It is speculated that the beneficial effects of sports on neoplasms are due to three reasons: decreased body adiposity, production of anti-inflammatory cytokines and reduced expression of Toll receptors in monocytes and macrophages. Janauba (*Synadenium grantii*), which has been associated with anti-inflammatory activity and immunoregulation, has been used to treat pathologies, including cancer. This research aimed to verify the effect of exercise and latex of janauba (*Synadenium grantii*) on tumor induction. Sixty male, Swiss, *Mus musculus* mice were divided into 10 experimental groups. The animals were kept in polypropylene cages, following the cycle of light and dark in the ratio of 12 hours light and 12 hours dark. Latex diluted in water in the amount of 0.20ml of latex was administered three times a week by gavage. Tumor induction was performed by Ehrlich tumor intraperitoneally. After adaptation, the mice performed resistance exercise, their maximum loads in one repetition measured and then placed in the syrup starting with 60% of 1 RM, followed by 70% and 80% during the second week. Blood for biochemical analysis was collected by cardiac puncture on the first day after the end of the experiments. For the statistical analysis, the software GraphPad Prism 8.0 will be used. The value of $P \leq 0.05$ will be established for significant differences. There was a difference in body weight variation between the control and treatment groups. The control group that performed exercise showed a significant difference in relation to the others in the circumference measurement. Lactate had a lower concentration in the tumor-induced groups that underwent treatment. The janauba latex (*Synadenium grantii*) had a reducing effect on lactate values of Ehrlich ascites tumor developing groups in Swiss mice.

Keywords: Resistance exercise; Janauba; Cancer

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	10
Apresentação.....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	11
INTRODUÇÃO.....	12
REVISÃO DE LITERATURA.....	13
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	16
REFERÊNCIAS.....	17
CAPÍTULO II.....	19
Apresentação.....	19
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAL E MÉTODOS.....	22
Animais.....	22
Grupos Experimentais.....	22
Látex de Janaúba (<i>Synadenium grantii</i>).....	23
Manutenção do Tumor de Ehrlich.....	23
Inoculação das células tumorais.....	23
Aferição e Peso e Circunferência.....	24
Exercício Físico Resistido.....	24
Coleta de Sangue e análise bioquímica.....	24
Análise Estatística.....	24
RESULTADOS.....	25
DISCUSSÃO.....	30
REFERÊNCIAS.....	32
APÊNDICE I.....	35
ANEXO I.....	42
ANEXO II.....	43

CAPÍTULO I

Este capítulo foi estruturado em conformidade com a regras da Editora Stricto Senu (DOI: 10.35170/ ISBN: 80261), para a composição do Livro Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental – Volume 2 (ISBN: 978-65-80261-06-2), publicado no Capítulo 12 sob o DOI: 10.35170/ss.ed.9786580261062.12 (Apêndice I). Trata-se de uma revisão sistemática da etnofarmacologia e atividade antineoplásica da Janaúba (*Synadenium grantii*).

**ETNOFARMACOLOGIA E ATIVIDADE ANTINEOPLASICA DA JANAÚBA
(*Synadenium grantii*): UMA REVISÃO SISTÊMICA**

**ETNOFARMACOLOGY AND ANTINEOPLASTIC ACTIVITY OF JANAUBA
(*Synadenium grantii*): A SYSTEMATIC REVIEW**

Oyatagan Levy Pimenta da Silva^{1,2}, Hélio Fiesca Neto², Larissa Pereira de Moura², Matheus Eremith Carvalho², Maurício Belchior de Mendonça³, Carromberth Carioca Fernandes⁴, Romeu Paulo Martins Silva^{1,3}.

1. Universidade Federal do Acre (UFAC), Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Rio Branco, Acre, Brasil;
2. Centro Universitário Meta (UNIMETA), Escola de Saúde, Rio Branco, Acre, Brasil;
3. Universidade Federal do Acre (UFAC), Centro de Ciências da Saúde e do Desporto, Rio Branco, Acre, Brasil;
4. Universidade Federal do Acre (UFAC), Programa de Pós-Graduação da Bionorte, Rio Branco, Acre, Brasil.

RESUMO

O uso medicinal de plantas é uma prática realizada a milhares de anos principalmente por comunidades tradicionais. A *Synadenium grantii* popularmente conhecida como Janaúba, entre outros nomes, é utilizada para tratamento fitoterápico informal de várias enfermidades, incluindo vários tipos de Câncer. A partir dessas considerações, o presente trabalho realizou uma revisão sistemática da literatura com o objetivo de explicitar a importância da etnofarmacologia em estudos que visam a descoberta e possível ação farmacodinâmica de substâncias provenientes da *Synadenium grantii* no organismo de indivíduos com câncer. Esta revisão mostra o panorama geral de alguns estudos recentes realizados sobre a *Synadenium grantii* e seus possíveis agentes bioativos. Dentre esses agentes, destaca-se a descoberta de quimioterápicos de ação antioxidante como friedelina e o 3 β -friedelinol. Tanto estudos em estudos *in vivo* quanto *in vitro*, a partir do isolamento de substâncias antiproliferativas de célula malignas e entre outros métodos, evidenciam que a tradicional sabedoria popular pode contribuir imensamente para o desenvolvimento médico-científico e colaborar de maneira *sui generis* com toda sociedade.

Palavras-Chave: etnofarmacología, antineoplásicos, *Synadenium grantii*.

ABSTRACT

The medicinal use of thousands of years mainly per class. *Synadenium grantii* popularly known as Janauba, among other names, is used for the clinical treatment of

various diseases, including various types of cancer. From the above, the present work had a systematic review of the literature with the purpose of explaining the importance of ethnopharmacology in studies that aim at the discovery and the evaluation of the pharmacodynamics of sources coming from *Synadenium grantii*. This review shows the general picture of some recent studies on *Synadenium grantii* and its possible bioactive agents. Among these agents, we highlight the discovery of chemotherapeutics with antioxidant action such as friedelin and 3 β -friedelinol. Studies in in vivo studies, such as in vitro, from an isolation of antiproliferative substances from malignant cells and among other methods, show that a traditional popular health system can contribute immensely to medical-scientific development and collaborate in a common way society.

Keywords: ethnopharmacological, antineoplastic, *Synadenium grantii*

1. INTRODUÇÃO

A medicina popular é baseada no uso das chamadas plantas medicinais, fazendo parte da terapêutica popular e levando em conta aspectos como cultura, religião e flora regional, aspectos estes que se desdobraram promovendo especificidades etnofarmacológicas de cada região. O conhecimento tradicional de plantas fitoterápicas tem tanta ou mais relevância quanto os medicamentos convencionais, principalmente por pessoas mais idosas das comunidades que são detentoras desses conhecimentos populares. Assim, estudos etnofarmacológicos aliam o conhecimento popular a estudos científicos (MADEIRO; LIMA 2015). Dessa maneira, grande parte dos medicamentos encontrados no mercado é derivada direta ou indiretamente de produtos naturais, mostrando que essa fonte de conhecimentos é muito importante nos estudos de desenvolvimento de novos medicamentos (NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2000).

Valadares, Castro e Cunha (2007) assinalam que é fundamental o estudo de plantas medicinais para avaliar as características de seus extratos, sua segurança e eficácia, através do exame de suas ações por testes farmacológicos e toxicológicos em cultura de células e animais. Valadares, Castro e Cunha (2007) pontuam também a importância da análise da eficácia e segurança da aplicação químico-farmacêutica no homem para a relevância do estudo. Segundo Cunha et al. (2009), os estudos atuam desmistificando a falsa ideia de que produtos oriundos de plantas medicinais, como por exemplo extratos e fitoterápicos, por serem naturais, são isentos de efeitos tóxicos ou adversos. O fato de ser do uso popular destes, por si só, não servem como

validação da sua eficácia. Assim, os resultados informalmente empíricos necessitam de ensaios biológicos para comprovarem seus efeitos farmacológicos.

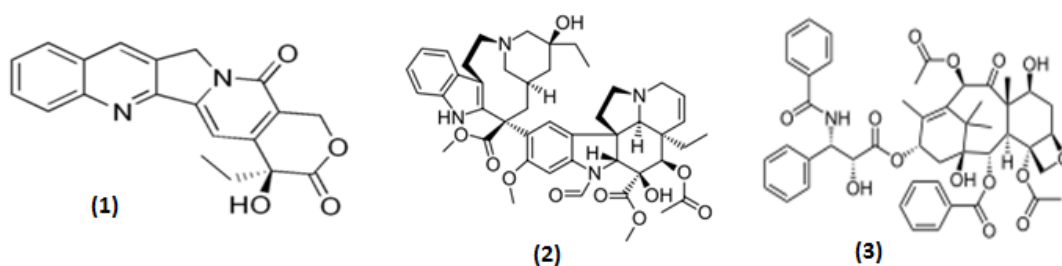
Atualmente, um notável conjunto de enfermidades com os tratamentos mais desafiadores são os cânceres e diversos trabalhos experimentais e epidemiológicos demonstraram que o consumo de algumas plantas pode promover ação quimiopreventiva e/ou antineoplásica (OLIVEIRA; MACHADO; RODRIGUES, 2014). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), nos países em desenvolvimento há um amplo uso de terapias alternativas ou complementares, como o uso de plantas medicinais, o que se atribui a uma maior disponibilidade e acesso destas. Já nos países desenvolvidos, o uso está impulsionado pela preocupação com os efeitos adversos dos fármacos sintetizados.

Entre as inúmeras plantas utilizada para fins medicinais, temos a espécie *Synadenium grantii*, popularmente conhecida como cega-olho, leitossinha, janaúba, cola-nota, arbusto de leite, tiborna, entre outros cognomes. Em alguns estados brasileiros, o látex da planta é utilizado geralmente na forma de “garrafada”, uma preparação que consiste na diluição de 18 gotas de látex a cada litro de água. Popularmente, suas aplicações se estendem topicamente na remoção de verrugas e na forma oral para tratamento de doenças gástricas, diabetes, inflamações e principalmente para os cânceres, de uma maneira geral. (OLIVEIRA, 2013); (MUNHOZ, 2013); (CAMPOS, 2015).

2. REVISÃO DE LITERATURA

Muitas plantas possuem uma longa história de uso no tratamento e prevenção de cânceres. Em combinação com essa tendência, o Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos (National Cancer Institute - NCI) promoveu, no ano de 1960, um programa de triagem em larga escala visando a busca de fármacos. Entre 1960 e 1982, estudos em mais de 35.000 plantas, deram origem a vários quimioterápicos, principalmente algumas substâncias ativas com ação neoplásicas, como por exemplo a camptotecina (1), vincristina (2), paclitaxel “Taxol®” (3) e vimblastina. Em decorrência do tema, observou-se que em torno de 60% dos fármacos anticâncer utilizados na atualidade provém de produtos naturais, isolados de plantas, microrganismos incluindo organismos marinhos (CRAGG; NEWMAN, 2005); (CRAGG; NEWMAN, 2013).

FIGURA 1: substâncias ativas com ação neoplásica, segundo Cragg e Newman 2013.



(Fonte: CRAGG; NEWMAN 2015)

A espécie *S. grantii* possui aplicação bastante difundida no conhecimento tradicional em vários tipos de neoplasias, porém sua administração via oral pode apresentar riscos de intoxicação devido à presença de glicosídeos cianogênicos presentes no extrato da planta (OLIVEIRA, 2013). Apesar da presença de componentes tóxicos, segundo estudos, a *S. grantii* também possui em sua constituição inúmeros compostos com possível atividade farmacológica, entre eles diterpenos, alcalóides, flavonoides.

FIGURA 2: *Synadenium grantii*



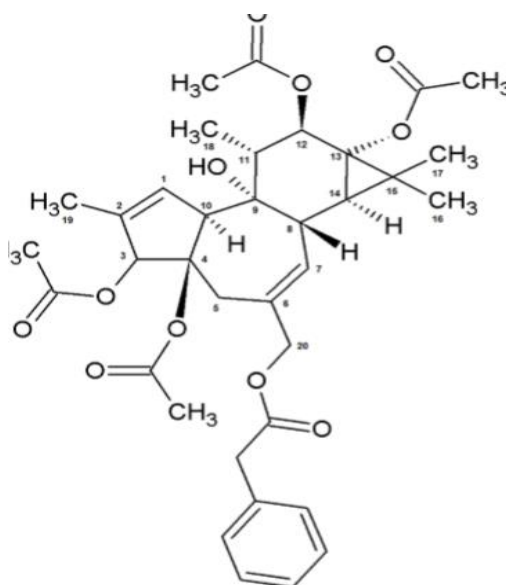
Fonte: MUNHOZ,2013.

A revisão sistemática da literatura resultou em um conhecimento atualizado, principalmente no que se refere a estudos brasileiros realizados recentemente com a

Synadenium grantii, o que permite entender algumas potencialidades da mesma em relação ao tratamento de neoplasias.

Considerando que a progressão de células malignas que dão origem ao câncer ocorre pela proliferação desenfreada e devido a uma desestabilidade genética, estudos realizados por Campos (2015) teve entre seus objetivos avaliar a propriedade antiproliferativa dos extratos e frações obtidas da *S. grantii* por meio de ensaios *in vitro* utilizando cultura de células tumorais. Nesse estudo, foi isolado um composto raro na fração CHCl_3 do caule (FIGURA 1) com atividade antiproliferativa relevante.

FIGURA 3. Estrutura molecular do composto 20-fenilacetato de 3,4,12,13tetraacetilforbol



Fonte: Campos, 2015.

A ação oxidante de radicais livres está associada a inúmeras enfermidades, entre elas os cânceres. Em pesquisas feitas por Munhoz (2013), com objetivo de isolar e identificar compostos bioativos, identificou-se o potencial antioxidante e antimicrobiano do extrato bruto das cascas do caule da *S. grantii* e suas frações, resultando no isolamento de três triterpenos: o Eufol, a friedelina e o 3β -friedelinol, o que demonstra que as cascas do caule de *S. grantii* apresentam potencial antioxidante e ação *scavenger* contra oxidantes importantes.

Em estudos recentes realizados por Souza (2017), foi determinado o teor mineral advindo das folhas de *S. grantii*. Os resultados obtidos demonstraram que as folhas são boas fontes em “K”, mas não de “Na e P”. No entanto, as folhas de *Synadenium grantii* são ricas em elementos como “Mg, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn”.

Considerando a deficiência de estudos nessa área, é de grande importância de se saber a concentração desses microelementos para entender as possíveis ações farmacológicas, sendo indispensável na síntese de novos fármacos.

Oliveira (2013) realizou estudos específicos com o látex, avaliando entre outros aspectos a atividade antitumoral da *S. grantii* de forma *in vitro*, frente à linhagem celular de melanoma, e *in vivo*, considerando as alterações histológicas dos animais tratados com a forma popular de uso do látex da planta. Os resultados demonstraram que o látex de *S. grantii* apresenta efeito citotóxico sobre as células de melanoma e apresentou ainda parada do ciclo celular. Nos ensaios *in vivo* o látex de *S. grantii*, demonstrou redução significativa no volume do tumor de camundongos portadores de melanoma tratados com a forma popular de uso, mas as análises histológicas dos órgãos avaliados foram semelhantes no grupo tratado e não tratado.

Quanto às propriedades químicas dos extratos de *S. Grantii*, Giardini (2012) constatou que a variabilidade da composição química dos extratos brutos obtidos a partir do *S. grantii* de diferentes procedências, após utilização de diferentes métodos de extração (trituração com gelo, sem gelo, maceração dinâmica e turbólise), forneceu diferentes resultados no rendimento geral do extrato bruto, na resposta da atividade antiproliferativa *in vitro* e nas análises monitoradas por Espectrometria de massas com ionização electrospray (ESI-MS). Quanto ao armazenamento, constatou-se que existem componentes no extrato bruto que se decompõem pela temperatura e que se polimerizam com o tempo prolongado de extração. Esses fatos sugeriram que por meio de plantas de diferentes procedências, armazenamento e/ou métodos de extração resultam em diferentes compostos químicos e, conseqüentemente, em diferentes mecanismos de ação farmacológicos

Giardini (2012) também constatou que a fração 2FF do extrato de *S. Grantii* apresentou melhor valor de *Total Growth Inhibition* (TGI) para a linhagem de célula NCI-H460 do pulmão em carcinoma tipo não pequenas células.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento tradicional das plantas medicinais aliado ao conhecimento científico promovem a evolução e melhorias no que se conhece sobre o tratamento de neoplasias. Em consonância com estudos da literatura a espécie *S. grantii*, se comprova esses efeitos da medicina popular em relação ao científico, verificando-se

descobertas e informações importantes em relação a planta estudada. Observou ainda que pesquisadores isolaram substâncias oriundas do metabolismo secundário, promovendo inclusive a elucidação estruturas desses, cujos efeitos biológicos indicam uma potencial fonte de agentes quimioterápicos a serem utilizados em prováveis bioativos com atividades tumorais.

4. REFERÊNCIAS

CAMPOS, A. **Análise fitoquímica e avaliação da atividade antiproliferativa de espécies adaptadas da flora catarinense: *Synadenium grantii*, *Cipura paludosa*, *Epidendrum mosenii* e *Maytenus robusta*** (Tese). Programa de Doutorado em Ciências Farmacêuticas. Universidade do Vale do Itajaí. 2015.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Plants as a source of anti-cancer agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, n.1-2, p.72-79, 2005.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1830, p.3670–3695, 2013.

CUNHA, L.C, et.al. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 19(2A): 403-411 p. 2009.

MADEIRO, A. A. S; LIMA, C. R. **Estudos Etnofarmacológicos de plantas medicinais utilizadas no Brasil: revisão de literatura**. Ciências Biológicas e da Saúde, Maceió. v. 3, n.1, p. 69-76 Novembro 2015.

MUNHOZ, A. C. M. **Avaliação fitoquímica e da atividade antioxidante e antimicrobiana de cascas do caule de *synadenium grantii* hook. f. (*euphorbiaceae*)**. (Dissertação). Universidade Estadual de Ponta Grossa. 2013.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. The influence of natural products upon drug discovery. **Natural Product Reports**, vol.17. no.3. p 215–234. 2000

OLIVEIRA, L.A.R.; MACHADO, R.D. ; RODRIGUES, A.J.L. Levantamento sobre o uso de plantas medicinais com a terapêutica anticâncer por pacientes da Unidade Oncológica de Anápolis. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n.1, p.32-40, 2014.

OLIVEIRA, T. L. **Estudo fitoquímico e avaliação antitumoral do látex de *Synadenium grantii* Hook. f. (Euphorbiaceae)** (Dissertação). Universidade Estadual de Ponta Grossa. 2013

VALADARES, M.C., CASTRO, N.C.C., CUNHA, L.C. *Synadenium umbellatum*: citotoxicidade e danos ao DNA de células da medula óssea de camundongos. **Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas**, vol.43. n.4. São Paulo. 2007.

GIARDINI, I.J.M.; **Atividade antiproliferativa in vitro do látex, de extratos brutos e de frações obtidas a partir do *Synadenium grantii* Hook. f. 2012. 131 p.** (Tese). Mestrado na área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica da Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, SP. 2012.

CAPÍTULO II

Artigo científico estrutura em conformidade com as diretrizes para autores
(Anexo II) da Revista *Cancer Science*, ISSN: 1349-7006.

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial de Saúde (2016), a qualidade e expectativa de vida nos países ocidentais aumentou consideravelmente, alcançando uma média de 82 anos no Canadá e com ganhos consideráveis também em países em desenvolvimento, como o Brasil, com esperança de vida chegando aos 75 anos no ano de 2015. Contudo, o aumento da longevidade está associado a maior prevalência de doenças crônicas não transmissíveis, entre essas o câncer, o maior problema de saúde pública do mundo (Siegel, Miller e Jemal, 2016).

O termo neoplasia significa literalmente novo crescimento e define condições de proliferação celular anormal, encontrada tanto em tumores benignos quanto em malignos (Libenson e Jean, 2008). Entretanto, os tumores benignos são massas celulares circunscritas, de crescimento lento e que mantem características teciduais, sendo geralmente separadas do tecido adjacente por intermédio de uma cápsula (Harrington, 2016).

Com base no documento World Cancer Report 2014 da International Agency for Research on Cancer, da Organização Mundial da Saúde (OMS), é inquestionável que o câncer é um problema de saúde pública, especialmente entre os países em desenvolvimento, onde é esperado que, nas próximas décadas, o impacto do câncer na população corresponda a 80% dos mais de 20 milhões de casos novos estimados para 2025.

Conforme o Fundo Mundial de Pesquisa do Câncer (2017), esta enfermidade, é um grupo de mais 100 doenças caracterizado pelo crescimento celular desordenado; dano ao DNA provocados por fatores exógenos (ambientais) e endógenos (internos) são as principais causas para a quebra da homeostase celular e proliferação desordenada.

Má nutrição, inatividade física e obesidade são os maiores fatores de risco para o câncer, estima-se que um quarto a um terço de todos os cânceres nos Estados Unidos seja atribuído ao sedentarismo e a dieta (American Cancer Society, 2015). As evidências atuais já demonstram os benefícios da atividade física, Betof, Dewhirst e Jones (2013) afirmam em sua revisão de literatura que existe crescente reconhecimento e aceitação do papel benéfico do treinamento físico na reabilitação, na atenuação dos efeitos do tratamento e/ou em retardar o reaparecimento da doença.

Para que o exercício possa exercer seus efeitos benéficos a American College of Sport Medicine (2011) recomenda a adesão ao treinamento cardiorrespiratório por no mínimo 150 minutos semanais, associando com exercícios resistidos.

Shalamzari et al. (2013) observou efeitos positivos do exercício em animais experimentais portadores de câncer de mama, com diminuição de interleucina-6 e volume do tumor. Rundqvist et al. (2013) avaliando os efeitos do exercício físico em células tumorais *in vitro* constatou que estas se proliferavam menos no soro sanguíneo de indivíduos treinados.

Gleeson (2011) especula que os efeitos benéficos do esporte nas neoplasias se deem por três motivos: diminuição da adiposidade corporal, produção de citocinas anti-inflamatórias e redução da expressão de receptores do tipo Toll nos monócitos e macrófagos, evidenciando seu potencial modulador do sistema imune.

A região amazônica conta com a flora mais diversificada do mundo, e muitas plantas são usadas pela população local para o tratamento de doenças. Ao longo dos anos a ciência tem se beneficiado da sabedoria popular e das plantas para extrair compostos com potencial comercial. Dentre essas plantas encontra-se a Janaúba (*Synadenium grantii*) na qual tem-se associado atividade anti-inflamatória (Souza et al., 2005) e na imunoregulação (Rogerio et al., 2007).

Embora existam fármacos consagrados no tratamento do câncer, nenhuma das abordagens terapêuticas atuais é capaz de regredir completamente as suas diferentes manifestações (Dickens e Ahmed, 2017). Portanto, a descoberta de novos compostos bioativos com capacidade antitumoral e antineoplásica é crucial para o desenvolvimento de um tratamento efetivo com a minimização dos efeitos colaterais.

O gênero *Synadenium grantii* (Janaúba) é bastante amplo e outras espécies deste gênero são utilizadas no Brasil pela medicina popular há muitos anos. O uso desta planta foi muito difundido para a cura de variados tipos de cânceres, mas há relatos de populares utilizando a planta para outras enfermidades, tais como diabetes e úlcera gástrica (Oliveira et al., 2013).

Oliveira et al. (2013) avaliou o potencial antitumoral *in vitro* e *in vivo* do látex extraído da planta e obteve diminuição da viabilidade celular de melanoma *in vitro* e diminuição de 40% do tumor em camundongos.

Dessa forma, considerando o potencial da Janaúba (*Synadenium grantii*) no tratamento de neoplasia e os benefícios do exercício físico resistido esta pesquisa

pretende associar esses fatores, uma planta típica da região Amazônica e os efeitos do exercício de força, e verificar os efeitos na indução tumoral *in vivo*.

Considerando estes fatos, a pesquisa tem por objetivo analisar os efeitos do exercício físico e do látex de janaúba (*Synadenium grantii*) sobre a indução tumoral em camundongos.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 60 camundongos machos, Swiss, *Mus musculus*, adultos (a partir da 12ª semana de vida). Os animais receberam água potável e ração padrão, *ad libitum*, permanecendo em condições ambientais de temperatura de 22°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa de média de 55% ($\pm 2\%$) e exaustão contínua, obedecendo ao ciclo de claro e escuro na proporção de 12 horas claro e 12 horas escuro, sendo as luzes ligadas às 07h00min e desligadas às 19h00min, o estudo teve a duração de 2 semanas. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno retangulares grandes (49x34x16cm) em grupos de três animais.

O Projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de Animais – CEUA da Universidade Federal do Acre - UFAC sob o protocolo de processo 23107.026601/2016-25, e parecer de N.º 02/2017 (Anexo I).

Grupos Experimentais

Os camundongos foram divididos em grupos de 6 animais por grupo:

Grupo I – Controle e Água (CA)

Grupo II – Controle e Látex de Janaúba com 36 gotas (CJ36)

Grupo III – Controle e Exercício Físico (CE)

Grupo IV – Controle, Látex de Janaúba com 36 gotas e Exercício Físico (CJE)

Grupo V – Tumor e Água (TA)

Grupo VI – Tumor e Janaúba com 36 gotas (TJ36)

Grupo VII – Tumor e Exercício Físico (TE)

Grupo VIII – Tumor, Exercício e Janaúba com 36 gotas (TEJ36)

Grupo IX – Tumor e Janaúba com 42 gotas (TJ42)

Grupo X – Tumor e Janaúba com 30 gotas (TJ30)

Látex de Janaúba (*Synadenium grantii*)

O látex foi coletado em uma propriedade privada na BR 317, Km 60, Ramal Alcoolbras, zona rural do município de Capixaba – Acre. O látex foi diluído em três concentrações, a primeira 2,3472g (36 gotas) de látex em 1 litro de água, a segunda 1,956g (30 gotas) em 1 litro de água, e a terceira 2,7384g (42 gotas) em um litro de água, mantido em temperatura ambiente, conforme consumido pela população. Foram administrados 0,20ml do látex três vezes por semana através de gavagem, conforme descrição de preparo de Ortêncio (1997).

Manutenção do Tumor de Ehrlich

Foi estimulado a neoplasia pelo tumor de Ehrlich que se manteve no Biotério na forma ascítica. Semanalmente, cerca de 0,2 mL de fluido ascítico eram coletados destes animais e imediatamente inoculado intraperitonealmente em outros animais saudáveis. A manutenção do tumor in vivo foi realizada pela injeção intraperitoneal de 2×10^6 células a cada dez dias em camundongos receptores (Bala et al., 2010).

Inoculação das células tumorais

No dia da inoculação tumoral, foram coletados 2,0 mL de fluido ascítico dos camundongos pré-inoculados há aproximadamente 10 dias com tumor de Ehrlich. Esse fluido foi centrifugado com 5,0ml de Tampão Fosfato-Salino (PBS) a 1.500rpm durante cinco minutos. O sobrenadante foi descartado, e as células foram ressuspensas em 8,0ml de PBS e centrifugadas novamente, este processo foi repetido por mais uma vez.

Para ajuste da concentração de células, foi realizada a contagem e o teste de viabilidade dessas células tumorais. Para isto, 30µl de suspensão celular devidamente homogeneizada foram adicionados a 270µl de PBS. Depois de homogeneizar, foram retirados 100 µl dessa suspensão diluída, e adicionado 300µl de PBS e 500µl de corante Azul de Tripán a 0,1%.

A contagem foi feita na câmara de Neubauer, sendo contadas as células contidas nos quatro quadrantes externos. As células coradas em azul, devido ao corante, foram consideradas inviáveis, e as células translúcidas consideradas viáveis.

Após a confirmação da viabilidade celular, foi administrado 500µl do fluido em cada camundongo dos grupos com a indução tumoral ascítica por meio intraperitoneal.

Aferição e Peso e Circunferência

O peso e circunferência foram aferidos seis vezes durante o estudo, nos dias de tratamentos. O peso em balança digital, e circunferência com fita antropométrica de fio de vidro inelásticas.

Exercício Físico Resistido

Foi realizado a semana de adaptação do exercício resistido, na qual os animais foram colocados no aparato de escala com o instrumento de carga afixado na calda, sem peso extra.

No primeiro dia da primeira semana pós-adaptação, os camundongos tiveram suas cargas máximas em uma só repetição (1RM, uma repetição máxima) aferidas e em seguida foi colocado uma carga na calda iniciando-se com 60% do 1 RM, na primeira semana de experimento, sendo aumentado para 70% e 80% durante a segunda semana de treinamento. O peso do tubo tipo falcon e das bolas de chumbo foram aferidas com balança digital (Bortolini, 2014)

A frequência utilizada foi de duas sessões/semana, conforme protocolo de Bortolini (2014). Os camundongos realizaram 10 séries com três a quatro minutos de descanso com apenas uma repetição em cada série, que tem um tempo estimado de duração de 14 a 15 segundos.

Coleta de sangue e análise bioquímica

Os animais foram anestesiados por via intramuscular com associação com o protocolo de cloridrato de xilazina, cloridrato de quetamina e água para injeção, com doses de 0,10ml/10g. Em seguida foram eutanasiados por exsanguinação, com a coleta de aproximadamente 800µl de sangue por punção cardíaca. O material coletado foi acondicionado em tubos de ensaio com gel separador, centrifugado e armazenado a 5 °C. As análises realizadas foram de glicemia de lactato para este estudo.

Análise Estatística

A tabulação e análise estatística descritiva foi realizada com auxílio do software Microsoft Excel® 2013, expondo em números absolutos, porcentagens, médias e desvio padrão. Para a análise inferencial foram aplicados: teste de Normalidade Shapiro-Wilk; Análise de Variância one-way, com pós-teste de Tukey, ANOVA two-

way (análise fatorial), com pós-teste de Tukey. A análise inferencial e elaboração dos gráficos foi realizada no programa GraphPad Prism® 8.0, considerando significativo quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

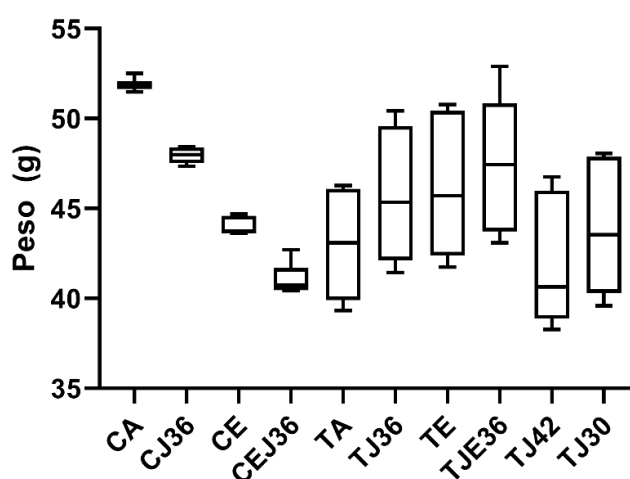
Na tabela 01 constam os dados do peso em gramas dos diferentes grupos experimentais dos camundongos, medido em dias alternados no experimento.

Tabela 01 – Análise dos valores mínimo, máximo, média e desvio padrão da variável peso nos grupos amostrais.

Peso	CA	CJ36	CE	CEJ36	TA	TJ36	TE	TJE36	TJ42	TJ30
Mínimo	45.30	42.20	33.30	35.70	31.50	31.20	34.90	38.20	30.50	34.40
Máximo	57.60	53.20	48.00	46.90	53.10	58.70	60.00	56.40	57.50	55.00
Média	51.91	47.95	43.99	41.07	42.99	45.70	46.14	47.49	41.86	43.85
Desvio Padrão	± 3.323	± 3.263	± 4.757	± 3.214	± 6.043	± 6.797	± 6.408	± 5.040	± 6.478	± 5.548

Houve diferença na variação do peso corporal dos grupos controles e dos grupos com indução tumoral, conforme pode ser observado no gráfico 01. Os grupos controles mantiveram o ganho de peso constante com um desvio padrão menor que os grupos que passaram pela indução tumoral. A diferença de ganho de peso dentro do mesmo grupo experimental, pode estar correlacionada com as respostas fisiológicas diferenciadas ao crescimento do tumor, considerando que este foi desenvolvido na forma ascítica, e que o fluido tumoral pode alterar a medida do peso total a partir do desenvolvimento. Principalmente a partir da primeira semana de inoculação celular.

Gráfico 01 – Valores dos pesos/grupo em gramas representados em quartis



Foi realizado uma Análise Fatorial (2-way ANOVA) com o teste de múltipla comparação de Tukey para verificar se houve diferença do peso ao longo dos dias e entre os diferentes tratamentos. Foi confirmado que houve diferença tanto no tempo quanto nos tratamentos realizados nos grupos. E para apresentar a diferença, a tabela 02 descreve em quais grupos existiu significância na relação entre tempo e tratamento na variável peso.

Tabela 02 – Grupos que apresentaram diferença da correlação peso segundo a Análise do Tukey

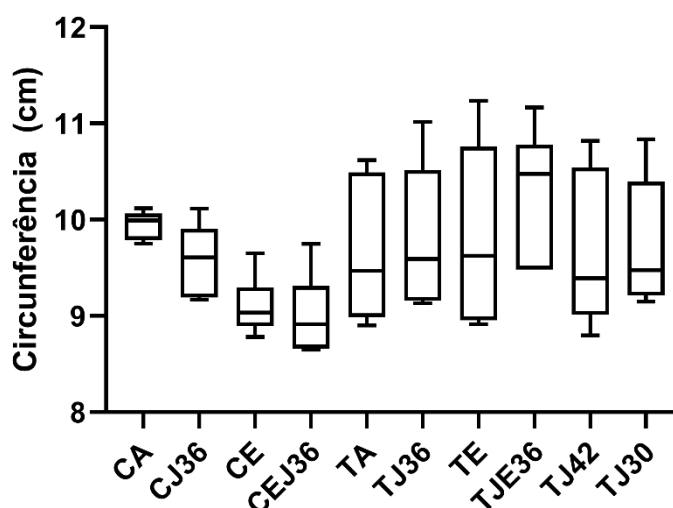
Grupos	Diferença Média	p
CA vs. CJ36	3.956	0.0001
CA vs. CE	7.917	<0.0001
CA vs. CEJ36	10.83	<0.0001
CA vs. TA	8.919	<0.0001
CA vs. TJ36	6.203	0.0004
CA vs. TE	5.767	0.0005
CA vs. TJE36	4.414	0.0018
CA vs. TJ42	10.05	<0.0001
CA vs. TJ30	8.058	<0.0001
CJ36 vs. CE	3.961	0.0042
CJ36 vs. CEJ36	6.878	<0.0001
CJ36 vs. TA	4.964	0.0024
CJ36 vs. TJ42	6.092	0.0002
CJ36 vs. TJ30	4.103	0.0113
CEJ36 vs. TJ36	-4.631	0.0177
CEJ36 vs. TE	-5.067	0.0034
CEJ36 vs. TJE36	-6.419	<0.0001
TA vs. TJE36	-4.506	0.0319
TJE36 vs. TJ42	5.633	0.0040

Na tabela 03 constam os dados das circunferências em centímetros dos diferentes grupos experimentais dos camundongos, mesurado em dias alternados no experimento.

Tabela 03 – Análise dos valores mínimo, máximo, média e desvio padrão da variável circunferência nos grupos amostrais.

Circunferência	CA	CJ36	CE	CEJ36	TA	TJ36	TE	TJE36	TJ42	TJ30
Mínimo	9.000	8.500	7.800	7.800	7.800	7.600	8.300	8.300	7.800	8.000
Máximo	10.80	10.60	10.50	10.60	11.30	11.60	12.60	11.80	11.50	11.70
Média	9.950	9.589	9.103	9.011	9.653	9.808	9.828	10.29	9.656	9.736
Desvio Padrão	±0.364	±0.524	±0.606	±0.648	±0.941	±0.889	±1.076	±0.813	±0.979	±0.812

Conforme representado no gráfico 02 houve uma diferenciação dos animais que faziam parte do mesmo grupo que passaram pela indução tumoral. Os grupos CA e CE foram os que apresentam maior uniformidade na medida da circunferência.

Gráfico 02 – Valores das circunferências/grupo em centímetros representados em quartis

Foi realizado uma Análise Fatorial (2-way ANOVA) com o teste de múltipla comparação de Tukey para verificar se houve diferença da circunferência ao longo do tempo e dos diferentes tratamentos nos grupos.

A partir do teste foi confirmado que houve diferença tanto no tempo quanto nos tratamentos realizados nos grupos. E para apresentar a diferença, a tabela 04 descreve em quais grupos existiu significância na relação entre tempo e tratamento na variável circunferência.

Tabela 04 – Grupos que apresentaram diferença da correlação circunferência (cm) segundo a Análise do Tukey

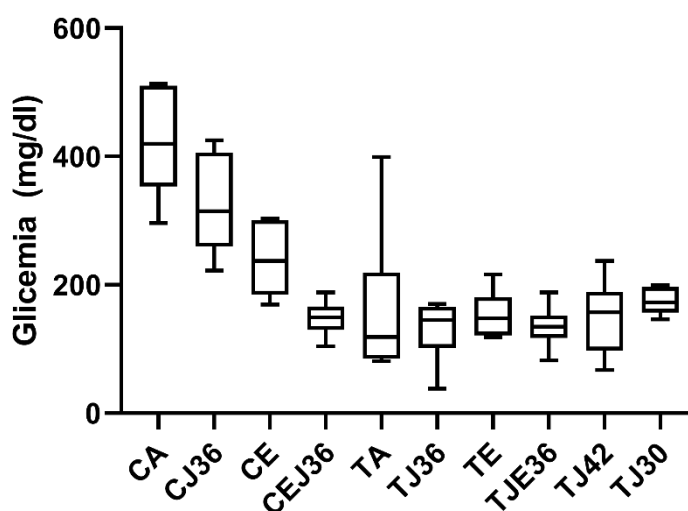
Grupos	Diferença Média	p
CA vs. CJ36	0.3611	0.0371
CA vs. CE	0.8472	<0.0001
CA vs. CEJ36	0.9389	<0.0001
CJ36 vs. CE	0.4861	0.0178
CJ36 vs. CEJ36	0.5778	0.0035
CJ36 vs. TJE36	-0.7000	0.0021
CE vs. TJ36	-0.7056	0.0076
CE vs. TE	-0.7250	0.0274
CE vs. TJE36	-1.186	<0.0001
CE vs. TJ30	-0.6333	0.0131
CEJ36 vs. TA	-0.6417	0.0396
CEJ36 vs. TJ36	-0.7972	0.0019
CEJ36 vs. TE	-0.8167	0.0089
CEJ36 vs. TJE36	-1.278	<0.0001
CEJ36 vs. TJ42	-0.6444	0.0490
CEJ36 vs. TJ30	-0.7250	0.0032

Na tabela 05 está detalhado os valores mínimo, máximo, média e desvio padrão da glicemia em mg/dl nos grupos experimentais. No gráfico 03 demonstra em quartis a diferença dentro do mesmo grupo experimental, quando aos valores de glicemia das amostras.

Tabela 05 – Análise dos valores mínimo, máximo, média e desvio padrão da variável glicemia (mg/dl) nos grupos amostrais.

Circunferência	CA	CJ36	CE	CEJ36	TA	TJ36	TE	TJE36	TJ42	TJ30
Mínimo	296.0	222.0	169.0	104.0	81.00	38.00	118.0	82.00	67.00	146.0
Máximo	513.0	425.0	303.0	188.0	399.0	170.0	216.0	188.0	237.0	199.0
Média	421.5	324.7	239.3	147.8	160.3	130.8	153.3	134.7	149.8	174.3
Desvio Padrão	±83.76	±77.05	±58.39	±27.53	±120.5	±49.58	±37.83	±33.74	±58.33	±21.51

Gráfico 03 – Valores de glicemia/grupo (mg/dL) representados em quartis



Foi realizado uma Análise de Variância (ANOVA) com o teste de múltipla comparação de Tukey para verificar se houve diferença da glicemia e lactato entre os diferentes tratamentos. As diferenças entre os grupos encontrados foram descritas na tabela 06 e 08, demonstrando assim os grupos com significância quando relacionados a partir do tipo de tratamento.

Na tabela 07 constam os valores mínimo, máximo, médio e desvio padrão do lactato (mmol/l) nos grupos experimentais. Apresentando um menor desvio padrão nos grupos TA, TJ36 e TJE36. Sendo menor no grupo que foi submetido a indução tumoral, ingestão de janaúba na concentração de 36 gotas e realizou exercício.

Tabela 06 – Grupos que apresentaram diferença da correlação glicemia (mg/dl) segundo a Análise do Tukey

Grupos	Diferença Média	p
CA vs. CE	182.2	0.0003
CA vs. CEJ36	273.7	<0.0001
CA vs. TA	261.2	<0.0001
CA vs. TJ36	290.7	<0.0001
CA vs. TE	268.2	<0.0001
CA vs. TJE36	286.8	<0.0001
CA vs. TJ42	271.7	<0.0001
CA vs. TJ30	247.2	<0.0001
CJ36 vs. CEJ36	176.8	0.0006
CJ36 vs. TA	164.3	0.0017
CJ36 vs. TJ36	193.8	0.0001
CJ36 vs. TE	171.3	0.0009
CJ36 vs. TJE36	190.0	0.0002
CJ36 vs. TJ42	174.8	0.0007
CJ36 vs. TJ30	150.3	0.0056

Tabela 07 – Análise dos valores mínimo, máximo, média e desvio padrão da variável lactato (mmol/l) nos grupos amostrais.

Circunferência	CA	CJ36	CE	CEJ36	TA	TJ36	TE	TJE36	TJ42	TJ30
Mínimo	7.800	7.400	10.30	7.200	3.400	3.700	0.8000	4.000	1.000	2.600
Máximo	14.60	16.90	12.70	17.40	5.300	5.100	5.800	5.200	8.000	6.700
Média	10.52	11.52	11.27	10.45	4.650	4.350	3.000	4.683	4.700	5.117
Desvio Padrão	±2.827	±3.388	±0.898	±3.759	±0.683	±0.561	±2.098	±0.440	±2.682	±1.671

O gráfico 04, apresenta em quartis a representação do lactato nas amostras dos grupos experimentais, mostrando uma diferenciação principalmente nos grupos que não tiveram a indução tumoral.

Gráfico 04 – Valores do lactato/grupo (mmol/l) representados em quartis

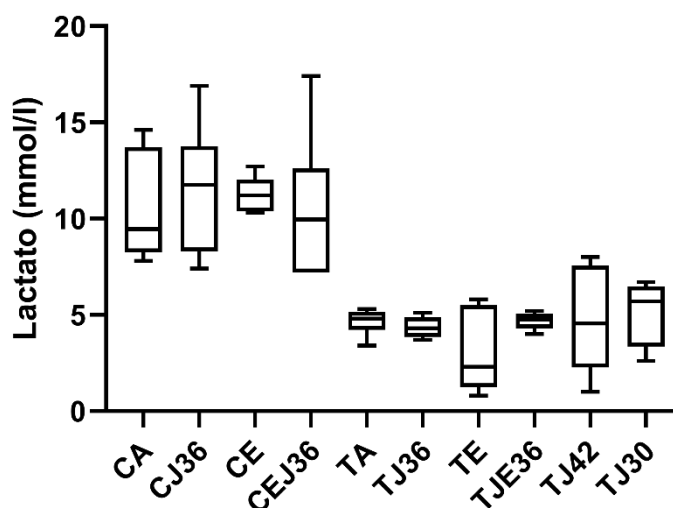


Tabela 08 – Grupos que apresentaram diferença da correlação lactato (mmol/dl) segundo a Análise do Tukey

Grupos	Diferença Média	p
CA vs. TA	5.867	0.0013
CA vs. TJ36	6.167	0.0006
CA vs. TE	7.517	<0.0001
CA vs. TJE36	5.833	0.0014
CA vs. TJ42	5.817	0.0015
CA vs. TJ30	5.400	0.0041
CJ36 vs. TA	6.867	<0.0001
CJ36 vs. TJ36	7.167	<0.0001
CJ36 vs. TE	8.517	<0.0001
CJ36 vs. TJE36	6.833	0.0006
CJ36 vs. TJ42	6.817	0.0006
CJ36 vs. TJ30	6.400	0.0006
CE vs. TA	6.617	0.0006
CE vs. TJ36	6.917	<0.0001
CE vs. TE	8.267	<0.0001
CE vs. TJE36	6.583	0.0006
CE vs. TJ42	6.567	0.0006
CE vs. TJ30	6.150	0.0006
CEJ36 vs. TA	5.800	0.0015
CEJ36 vs. TJ36	6.100	0.0006
CEJ36 vs. TE	7.450	<0.0001
CEJ36 vs. TJE36	5.767	0.0015
CEJ36 vs. TJ42	5.750	0.0015
CEJ36 vs. TJ30	5.333	0.0015

DISCUSSÃO

Segundo Stratton et al., (2009) o câncer é uma terminologia que designa um conjunto de mais de cem doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células que apresentam capacidade de invadir tecidos e órgãos adjacentes, podendo por via linfática ou hematogênica, espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo. Dividindo-se rapidamente, essas células possuem elevada agressividade, desencadeando um processo de proliferação incontrolável, que culmina com a formação dos tumores malignos (Harrington, 2016).

Neste estudo, todos os grupos submetidos aos tratamentos diferiram significativamente o peso do grupo CA, no qual era sedentário e apenas passou pelo estresse da gavagem com água. Na variável peso, os grupos que passaram por indução tumoral apresentaram uma maior variabilidade nos pesos, podem caracterizar respostas fisiológicas diferentes no mesmo grupo.

De acordo o estudo desenvolvido por Moshcov (2013), o desenvolvimento mais significativo da ascite provocada pelo tumor de erlich ocorre após o 7º dia de inoculação, o que foi confirmado no experimento.

No que se refere a circunferência, os grupos controle CA, CJ36, CE e CEJ36 diferiram os grupos que passam por indução tumoral, fato que está relacionado ao desenvolvimento do líquido ascítico com o desenvolvimento das células tumorais.

O exercício físico regular está diretamente ligado a uma boa saúde. Nesta perspectiva pode-se verificar que várias instituições ligadas à saúde recomendam a prática de atividade física regular (Pollock et al., 2000; Fletcher et al., 2001; Pescatello et al., 2004; Haskell et al., 2007; Nelson et al., 2007; McGuire, 2011). A Organização Mundial de Saúde (2010), com base nesses estudos, fez recomendações sobre exercícios físicos regulares, e para todas as idades (WHO, 2010).

Exercícios aeróbicos e de força são recomendados para todos os adultos acima de 18 anos (WHO, 2010). Assim, tendo como base a literatura citada que recomenda exercícios físicos para manter ou melhorar a saúde de diferentes grupos de pessoas, pode-se afirmar que a prática regular de exercícios físicos é de fundamental importância para uma boa saúde.

Evidências experimentais tanto de animais quanto de humanos dão suporte aos efeitos benéficos de exercício na função cognitiva. A atividade física promove um melhor desempenho no aprendizado, na preservação da memória (Fordyce; Wehner, 1993), facilita a recuperação após injúria cerebral (Grealy; Johnson; Rushton, 1999) e combate o declínio mental associado com a senescência (Laurin et al., 2001). Além disso, em especial, o exercício físico regular melhora o sistema imunológico em diferentes aspectos (Walsh et al., 2001).

Nos grupos que realizaram exercício e tinham indução tumoral apresentaram o valor menor de lactato, quando comparado com os grupos que não foram induzidos o tumor. Mesmo com os valores de glicemia menores nos grupos com indução tumoral, o que pode estar relacionados com os substratos energéticos utilizados pelo tumor. Os valores de lactatos apresentaram-se baixo.

O látex de janaúba (*Synadenium grantii*) apresentou um efeito redutor nos valores de lactato dos grupos com desenvolvimento de tumor ascítico de Ehrlich em camundongos Swiss. Como o látex bruto contém uma diversidade de composto, podem haver potenciais bioativos com maior efeito quando isolado. Recomenda-se o seu fracionamento e a aplicação das frações em diferentes concentrações em novos

testes de verificação do efeito antitumoral, para potencialização dos efeitos e possível identificação dos princípios ativos.

REFERÊNCIAS

American Cancer Society. Cancer Prevention & Early Detection Facts & Figures 2015-2016. Atlanta: American Cancer Society; 2015.

American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2011 Jul;43(7):1334-59

Bala A, Kar B, Haldar PK, Mazumder UK, Bera S. Evaluation of anticancer activity of *Cleome gynandra* on Ehrlich's Ascites Carcinoma treated mice. *Journal of Ethnopharmacology.* 2010; 129:131-4.

Betof AS, Dewhirst MW, Jones LW. Effects and potential mechanisms of exercise training on cancer progression: A translational perspective. *Brain Behav Immun.* 30:75-87, 2013.

Bortolini MJS. Avaliação da influência do exercício físico regular na modulação do sistema imunológico de camundongos infectados com *Toxoplasma gondii* [Tese de Doutorado]. Universidade Federal do Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicada, 2014.

Dickens E, Ahmed S. Principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surg (United Kingdom)* [Internet]. 2018;36(3):134-8.

Fletcher GF, et al. Exercise standards for testing and training: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*, v. 104, n. 14, p. 1694-740, Oct 2 2001.

Fordyce DE, Wehner JM. Physical activity enhances spatial learning performance with an associated alteration in hippocampal protein kinase C activity in C57BL/6 and DBA/2 mice. *Brain Res*, v. 619, n. 1-2, p. 111-9, Aug 13 1993.

Gleson M, Bishop NC, Stensel DJ, Lindley MR, Mastana SS, Nimmo MA. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nature reviews: Immunology.* 2011; 11:607- 615.

Grealy MA, Johnson DA, Rushton SK. Improving cognitive function after brain injury: the use of exercise and virtual reality. *Arch Phys Med Rehabil*, v. 80, n. 6, p. 661-7, Jun 1999.

Harrington KJ. The biology of cancer. *Med (United Kingdom)* [Internet]. 2016;44(1):1-5.

Haskell WL, et al. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation*, v. 116, n. 9, p. 1081-93, Aug 28 2007.

Laurin D, et al. Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Arch Neurol*, v. 58, n. 3, p. 498-504, Mar 2001.

Libenson L, Jena M. On The Defition, Cause and Nomenclature of Cancer. *Med Hypotheses*. 1978;4(2):277–81.

Mcguire SUS. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services, *Dietary Guidelines for Americans, 2010. 7th Edition*, Washington, DC: U.S. Government Printing Office, January 2011. *Adv Nutr*, v. 2, n. 3, p. 293-4, May 2011.

Moshkov DA, Romanchenko SP, Parnyshkova EY, Bezgina EN, Zaichkina SI, Pavlik LL. Effect of dopamine on ehrlich ascites carcinoma cells. *Bull Exp Biol Med*. 2013;154(5):686–91.

Nelson ME, et al. Physical activity and public health in older adults: recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc*, v. 39, n. 8, p. 1435-45, Aug 2007.

Oliveira TL, Munhoz ACM, Lemes BM, Minozzo BR, Nepel A, Barison A, Fávero GM, Campagnoli EB, Beltrame FL. Antitumoral effect of synadenium grantii Hook f. (Euphorbiaceae) látex. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 150, issue 1, pages 263-269, 2013.

Ortêncio WB . *Medicina popular do Centro-Oeste. 2ª Edição*. Brasília: Thesaurus, 1997.

PescatelloLS, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and hypertension. *Med Sci Sports Exerc*, v. 36, n. 3, p. 533-53, Mar 2004.

Pollock ML, et al. AHA Science Advisory. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: benefits, rationale, safety, and prescription: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association; Position paper endorsed by the American College of Sports Medicine. *Circulation*, v. 101, n. 7, p. 828-33, Feb 22 2000.

Rogério AP, Cardoso CR, Fontanari C, Souza MA, Cardoso SRA, Silva EVG, Koyama NS, Basei FL, Soares EG, Calixto JB, Stowell SR, Baruffi MD, Faccioli LH. Anti-asthmatic potential of a D-galactose-binding lectin from *Synadenium carinatum* latex. *Glycobiology* 17, 795–804. 2007.

Rundqvist H, Augsten M, Stromberg A, Rullman E, Mijwel S, Kharazilha P, Panaretakis T, Gustafsson T, Ostman A. Effect of Acute Exercise on Prostate Cancer Cell Growth. *PLoS One*. 8(7):1-9.2013

Shalamzari SA, Agha-alinejad H, Alizadeh S, Shahbazi S, Khatib ZK, Kazemi A, Saei MA, Minayi N. The effect of exercise training on the level of tissue IL-6 and vascular

endothelial growth factor in breast cancer bearing mice. *Iran J Basic Med Sci* 2014; 17: 231-236.

Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer Journal for Clinicians*. 66(1):7-30, 2016.

Souza MA, Amancio PF, Cardoso CRB. Isolation and partial characterization of a D-galactose binding lectin from the latex of *Synadenium carinatum*. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48, 705–716. 2005.

Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature* [Internet]. 2009;458(7239):719–24.

WALSH NP, et al. Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev*, v. 17, p. 6-63, 2011.

WHO - World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report. Geneva, 2004. (WHO – Technical Report Series, 894).

WHO. Global recommendations on physical activity for health. Geneva: World Health Organization 2010.

World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC: AICR, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Healthy Life Expectancy. Geneva, 2016.

Zhou, J.; Mukherjee, P.; Gugger, E.; Tanaka, T.; Blackburn; Clinton, S.K. Inhibition of murine bladder tumorigenesis by soy isoflavones via alterations in cell cycle, apoptosis, and angiogenesis. *Cancer Res.*, v. 58, p.5231-5238, 1998.

CAPÍTULO 12

ETNOFARMACOLOGIA E ATIVIDADE ANTINEOPLÁSICA DE *Synadenium grantii* (JANAÚBA): UMA REVISÃO SISTÊMICA

Oyatagan Levy Pimenta da Silva^{1,2}, Hélio Fiesca Neto², Larissa Pereira de Moura²,
Matheus Eremith Carvalho², Maurício Belchior de Mendonça³, Carromberth Carioca
Fernandes⁴, Romeu Paulo Martins Silva^{1,3}

1. Universidade Federal do Acre (UFAC), Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde na Amazônia Ocidental, Rio Branco, Acre, Brasil;
2. Centro Universitário Meta (UNIMETA), Escola de Saúde, Rio Branco, Acre, Brasil;
3. Universidade Federal do Acre (UFAC), Centro de Ciências da Saúde e do Desporto, Rio Branco, Acre, Brasil;
4. Universidade Federal do Acre (UFAC), Programa de Pós-Graduação da Bionorte, Rio Branco, Acre, Brasil.

RESUMO

O uso medicinal de plantas é uma prática realizada a milhares de anos principalmente por comunidades tradicionais. A *Synadenium grantii* popularmente conhecida como Janaúba, entre outros nomes, é utilizada para tratamento fitoterápico informal de várias enfermidades, incluindo vários tipos de Câncer. A partir dessas considerações, o presente trabalho realizou uma revisão sistemática da literatura com o objetivo de explicitar a importância da etnofarmacologia em estudos que visam a descoberta e possível ação farmacodinâmica de substâncias provenientes da *Synadenium grantii* no organismo de indivíduos com câncer. Esta revisão mostra o panorama geral de alguns estudos recentes realizados sobre a *S. grantii* e seus possíveis agentes bioativos. Dentre esses agentes, destaca-se a descoberta de quimioterápicos de ação antioxidante como friedelina e o 3 β -friedelinol. Tanto estudos em estudos *in vivo* quanto *in vitro*, a partir do isolamento de substâncias antiproliferativas de célula malignas e entre outros métodos, evidenciam que a tradicional sabedoria popular pode contribuir imensamente para o desenvolvimento médico-científico e colaborar de maneira *sui generis* com toda sociedade.

Palavras-Chave: Etnofarmacologia, antineoplásicos e *Synadenium grantii*.

ABSTRACT

The medicinal use of thousands of years mainly per class. *Synadenium grantii* popularly known as Janauba, among other names, is used for the clinical treatment of various diseases, including various types of cancer. From the above, the present work had a systematic review of the literature with the purpose of explaining the importance of ethnopharmacology in studies that aim at the discovery and the evaluation of the pharmacodynamics of sources coming from *Synadenium grantii*. This review shows the general picture of some recent studies on *Synadenium grantii* and its possible bioactive agents. Among these agents, we highlight the discovery of chemotherapeutics with antioxidant action such as friedelin and 3 β -friedelinol. Studies in *in vivo* studies, such as *in vitro*, from an isolation of antiproliferative substances from malignant cells and among other

methods, show that a traditional popular health system can contribute immensely to medical-scientific development and collaborate in a common way society.

Keywords: ethnopharmacological, antineoplastic and *Synadenium grantii*

1. INTRODUÇÃO

A medicina popular é baseada no uso das chamadas plantas medicinais, fazendo parte da terapêutica popular e levando em conta aspectos como cultura, religião e flora regional, aspectos estes que se desdobraram promovendo especificidades etnofarmacológicas de cada região. O conhecimento tradicional de plantas fitoterápicas tem tanta ou mais relevância quanto os medicamentos convencionais, principalmente por pessoas mais idosas das comunidades que são detentoras desses conhecimentos populares. Assim, estudos etnofarmacológicos aliam o conhecimento popular a estudos científicos (MADEIRO; LIMA 2015). Dessa maneira, grande parte dos medicamentos encontrados no mercado é derivada direta ou indiretamente de produtos naturais, mostrando que essa fonte de conhecimentos é muito importante nos estudos de desenvolvimento de novos medicamentos (NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2000).

Valadares, Castro e Cunha (2007) assinalam que é fundamental o estudo de plantas medicinais para avaliar as características de seus extratos, sua segurança e eficácia, através do exame de suas ações por testes farmacológicos e toxicológicos em cultura de células e animais. Valadares, Castro e Cunha (2007) pontuam também a importância da análise da eficácia e segurança da aplicação químico-farmacêutica no homem para a relevância do estudo. Segundo Cunha et al. (2009), os estudos atuam desmistificando a falsa ideia de que produtos oriundos de plantas medicinais, como por exemplo extratos e fitoterápicos, por serem naturais, são isentos de efeitos tóxicos ou adversos. O fato de ser do uso popular destes, por si só, não servem como validação da sua eficácia. Assim, os resultados informalmente empíricos necessitam de ensaios biológicos para comprovarem seus efeitos farmacológicos.

Atualmente, um notável conjunto de enfermidades com os tratamentos mais desafiadores são os cânceres e diversos trabalhos experimentais e epidemiológicos demonstraram que o consumo de algumas plantas pode promover ação quimiopreventiva e/ou antineoplásica (OLIVEIRA; MACHADO; RODRIGUES, 2014). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), nos países em desenvolvimento há um amplo uso de terapias alternativas ou complementares, como o uso de plantas medicinais, o que se

atribui a uma maior disponibilidade e acesso destas. Já nos países desenvolvidos, o uso está impulsionado pela preocupação com os efeitos adversos dos fármacos sintetizados.

Entre as inúmeras plantas utilizada para fins medicinais, temos a espécie *Synadenium grantii*, popularmente conhecida como cega-olho, leitossinha, janaúba, colanota, arbusto de leite, tiborna, entre outros cognomes. Em alguns estados brasileiros, o látex da planta é utilizado geralmente na forma de “garrafada”, uma preparação que consiste na diluição de 18 gotas de látex a cada litro de água. Popularmente, suas aplicações se estendem topicamente na remoção de verrugas e na forma oral para tratamento de doenças gástricas, diabetes, inflamações e principalmente para os cânceres, de uma maneira geral (OLIVEIRA, 2013; MUNHOZ, 2013; CAMPOS, 2015).

2. REVISÃO DE LITERATURA

Muitas plantas possuem uma longa história de uso no tratamento e prevenção de cânceres. Em combinação com essa tendência, o Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos (National Cancer Institute - NCI) promoveu, no ano de 1960, um programa de triagem em larga escala visando a busca de fármacos. Entre 1960 e 1982, estudos em mais de 35.000 plantas, deram origem a vários quimioterápicos, principalmente algumas substâncias ativas com ação neoplásicas, como por exemplo a camptotecina (1), vincristina (2), paclitaxel “Taxol®” (3) e vimblastina. Em decorrência do tema, observou-se que em torno de 60% dos fármacos anticâncer utilizados na atualidade provém de produtos naturais, isolados de plantas, microrganismos incluindo organismos marinhos (CRAGG; NEWMAN, 2005; CRAGG; NEWMAN, 2013).

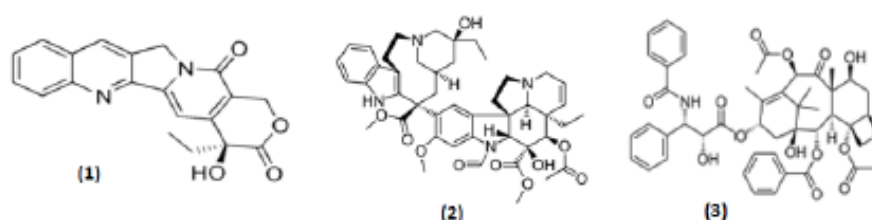


Figura 1. Substâncias ativas com ação neoplásica, segundo Cragg e Newman 2013.
Fonte: (CRAGG; NEWMAN 2015)

A espécie *S. grantii* possui aplicação bastante difundida no conhecimento tradicional em vários tipos de neoplasias, porém sua administração via oral pode apresentar riscos de intoxicação devido à presença de glicosídeos cianogênicos presentes no extrato da planta (OLIVEIRA, 2013). Apesar da presença de componentes tóxicos, segundo estudos, a *S. grantii* também possui em sua constituição inúmeros compostos com possível atividade farmacológica, entre eles diterpenos, alcalóides, flavonoides.



Figura 2. *Synadenium grantii*
Fonte: (MUNHOZ,2013).

A revisão sistemática da literatura resultou em um conhecimento atualizado, principalmente no que se refere a estudos brasileiros realizados recentemente com a *Synadenium grantii*, o que permite entender algumas potencialidades da mesma em relação ao tratamento de neoplasias.

Considerando que a progressão de células malignas que dão origem ao câncer ocorre pela proliferação desenfreada e devido a uma desestabilidade genética, estudos realizados por Campos (2015) teve entre seus objetivos avaliar a propriedade antiproliferativa dos extratos e frações obtidas da *S. grantii* por meio de ensaios *in vitro*

utilizando cultura de células tumorais. Nesse estudo, foi isolado um composto raro na fração CHCl_3 do caule (FIGURA 1) com atividade antiproliferativa relevante.

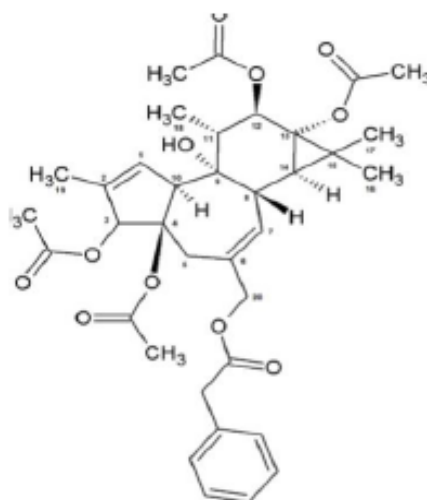


Figura 3. Estrutura molecular do composto 20-fenilacetato de 3,4,12,13tetraacetilforbol.

Fonte: (CAMPOS, 2015).

A ação oxidante de radicais livres está associada a inúmeras enfermidades, entre elas os cânceres. Em pesquisas feitas por Munhoz (2013), com objetivo de isolar e identificar compostos bioativos, identificou-se o potencial antioxidante e antimicrobiano do extrato bruto das cascas do caule da *S. grantii* e suas frações, resultando no isolamento de três triterpenos: o Eufol, a friedelina e o 3β -friedelinol, o que demonstra que as cascas do caule de *S.grantii* apresentam potencial antioxidante e ação *scavenger* contra oxidantes importantes.

Em estudos recente realizados por Souza (2017), foi determinado o teor mineral advindo das folhas de *S grantii*. Os resultados obtidos demonstraram que as folhas são boas fontes em "K", mas não de "Na e P". No entanto, as folhas de *Synadenium grantii* são ricas em elementos como "Mg, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn". Considerando a deficiência de estudos nessa área, é de grande importância de se saber a concentração desse microelementos para entender as possíveis ações farmacológicas, sendo indispensável na síntese de novos fármacos.

Oliveira (2013) realizou estudos específicos com o látex, avaliando entre outros aspectos a atividade antitumoral da *S. grantii* de forma *in vitro*, frente à linhagem celular de melanoma, e *in vivo*, considerando as alterações histológicas dos animais tratados com a

forma popular de uso do látex da planta. Os resultados demonstraram que o látex de *S. grantii* apresenta efeito citotóxico sobre as células de melanoma e apresentou ainda parada do ciclo celular. Nos ensaios *in vivo* o látex de *S. grantii*, demonstrou redução significativa no volume do tumor de camundongos portadores de melanoma tratados com a forma popular de uso, mas as análises histológicas dos órgãos avaliados foram semelhantes no grupo tratado e não tratado.

Quanto às propriedades químicas dos extratos de *S. Grantii*, Giardini (2012) constatou que a variabilidade da composição química dos extratos brutos obtidos a partir do *S. grantii* de diferentes procedências, após utilização de diferentes métodos de extração (trituração com gelo, sem gelo, maceração dinâmica e turbólise), forneceu diferentes resultados no rendimento geral do extrato bruto, na resposta da atividade antiproliferativa *in vitro* e nas análises monitoradas por Espectrometria de massas com ionização electrospray (ESI-MS). Quanto ao armazenamento, constatou-se que existem componentes no extrato bruto que se decompõem pela temperatura e que se polimerizam com o tempo prolongado de extração. Esses fatos sugeriram que por meio de plantas de diferentes procedências, armazenamento e/ou métodos de extração resultam em diferentes compostos químicos e, conseqüentemente, em diferentes mecanismos de ação farmacológicos

Giardini (2012) também constatou que a fração 2FF do extrato de *S. Grantii* apresentou melhor valor de *Total Growth Inhibition* (TGI) para a linhagem de célula NCI-H460 do pulmão em carcinoma tipo não pequenas células.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento tradicional das plantas medicinais aliado ao conhecimento científico promovem a evolução e melhorias no que se conhece sobre o tratamento de neoplasias. Em consonância com estudos da literatura a espécie *S. grantii*, se comprova esses efeitos da medicina popular em relação ao científico, verificando-se descobertas e informações importantes em relação a planta estudada. Observou ainda que pesquisadores isolaram substâncias oriundas do metabolismo secundário, promovendo inclusive a elucidação estruturas desses, cujos efeitos biológicos indicam uma potencial fonte de agentes quimioterápicos a serem utilizados em prováveis bioativos com atividades tumorais.

4. REFERÊNCIAS

CAMPOS, A. **Análise fitoquímica e avaliação da atividade antiproliferativa de espécies adaptadas da flora catarinense: *Synadenium grantii*, *Cipura paludosa*, *Epidendrum mosenii* e *Maytenus robusta*** (Tese). Programa de Doutorado em Ciências Farmacêuticas. Universidade do Vale do Itajaí. 2015.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of Ethnopharmacology*, v.100, n.1-2, p.72-79, 2005.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1830, p.3670–3695, 2013.

CUNHA, L.C, et.al. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v.19, n.2ª, p. 403-411, 2009.

MADEIRO, A. A. S; LIMA, C. R. **Estudos Etnofarmacológicos de plantas medicinais utilizadas no Brasil: revisão de literatura**. Ciências Biológicas e da Saúde, Maceió. v. 3, n.1, p. 69-76 Novembro 2015.

MUNHOZ, A. C. M. **Avaliação fitoquímica e da atividade antioxidante e antimicrobiana de cascas do caule de *synadenium grantii* hook. f. (euphorbiaceae)**. (Dissertação). Universidade Estadual de Ponta Grossa. 2013.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. The influence of natural products upon drug discovery. *Natural Product Reports*, vol.17. no.3. p 215–234. 2000


OLIVEIRA, L.A.R.; MACHADO, R.D. ; RODRIGUES, A.J.L. Levantamento sobre o uso de plantas medicinais com a terapêutica anticâncer por pacientes da Unidade Oncológica de Anápolis. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Campinas, v.16, n.1, p.32-40, 2014.

OLIVEIRA, T. L. **Estudo fitoquímico e avaliação antitumoral do látex de *Synadenium grantii* Hook. f. (Euphorbiaceae)** (Dissertação). Universidade Estadual de Ponta Grossa. 2013

VALADARES, M.C., CASTRO, N.C.C., CUNHA, L.C. *Synadenium umbellatum*: citotoxicidade e danos ao DNA de células da medula óssea de camundongos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, vol.43. n.4. São Paulo. 2007.

GIARDINI, I.J.M.; **Atividade antiproliferativa in vitro do látex, de extratos brutos e de frações obtidas a partir do *Synadenium grantii* Hook. f.** 2012. 131 p. (Tese). Mestrado na área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica da Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba, SP. 2012.

ANEXO I

	UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE Comitê de Ética no Uso dos Animais														
<p>CERTIFICADO</p> <p>Certifico que a proposta intitulada "EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO E DO EXTRATO DE JANAÚNA (<i>Synadenium grantii</i>) NO CÂNCER EM CAMUNDONGOS", registrada com o número de processo 23107.026601/2016-25 e número de protocolo 02/2017, sob responsabilidade de Romeu Paulo Martins Silva que envolve a produção manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA – UFAC) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE, em reunião de 08/08/2017.</p> <table border="1" data-bbox="379 1037 1198 1229"> <thead> <tr> <th>Finalidade</th> <th>() Ensino (x) Pesquisa Científica</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Vigência da autorização</td> <td>01/03/2017 até 30/11/2017</td> </tr> <tr> <td>Espécie/linhagem/raça</td> <td>Camundongo/Swiss</td> </tr> <tr> <td>Nº de animais</td> <td>Nº 64</td> </tr> <tr> <td>Peso/Idade</td> <td>8 – 35 semanas/30 – 35g</td> </tr> <tr> <td>Sexo</td> <td>Macho</td> </tr> <tr> <td>Origem</td> <td>Biotério.</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">  Prof. Dra. Soraiá Figueiredo de Souza Coordenadora CEUA/UFAC Portaria nº 1.620, de 16 de junho de 2017 </p>		Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica	Vigência da autorização	01/03/2017 até 30/11/2017	Espécie/linhagem/raça	Camundongo/Swiss	Nº de animais	Nº 64	Peso/Idade	8 – 35 semanas/30 – 35g	Sexo	Macho	Origem	Biotério.
Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica														
Vigência da autorização	01/03/2017 até 30/11/2017														
Espécie/linhagem/raça	Camundongo/Swiss														
Nº de animais	Nº 64														
Peso/Idade	8 – 35 semanas/30 – 35g														
Sexo	Macho														
Origem	Biotério.														
<p> <small> Campus Universitário Raimundo Azeiteiro Alves de Souza, BR 364, Km 04 - Distrito Industrial - Rio Branco - AC, CEP: 69.915-900 Fone (068) 3433-3300 http://www.ufac.br </small> </p>															

ANEXO II

Author Guidelines

Cancer Science is fully open access since 2014!

Manuscripts accepted for publication will be published as open access articles, immediately free to read, download and share. Authors or their funder will be required to pay an Article Publication Charge upon acceptance. Please refer to the [article publication charges page](#) for more details including the JCA member discounts. For inquires, contact CancerScience@wiley.com.

Average submission to first decision is 17 days.

Cancer Science is the official journal of the Japanese Cancer Association. *Cancer Science* publishes original articles, editorials, and letters to the editor, describing original research in the fields of basic, translational and clinical cancer research. The Journal also accepts reports and case reports. Reports are intended to present highly significant and timely findings. They are not intended simply to be short versions of original articles. Case reports should describe new findings that have a significant clinical impact on oncologists or that may alter the disease concept of a tumor. Case reports of the following contents will not be accepted for publication: description of a rare tumor or condition without new findings to be added to previous reports; combination of different tumors without new suggestive findings for oncological research; remarkable effect of already known treatments without suggestive data to explain the exceptional result. Review articles may also be published. The following subject categories are covered:

- Basic and Clinical Immunology
- Carcinogenesis
- Cell, Molecular, and Stem Cell Biology
- Clinical Research
- Drug Discovery and Delivery
- Epidemiology and Prevention
- Genetics, Genomics, and Proteomics
- Inflammation and Virology
- Pathology

Cancer Science does not accept work that is funded in any part by tobacco industry sources (effective from 1 January 2017).

EDITORIAL REVIEW AND ACCEPTANCE

The acceptance criteria for all papers are the quality and originality of the research and its significance to our readership. Except where otherwise stated, manuscripts are single-blind peer reviewed by two anonymous reviewers, the Associate Editor, and the Editor. Final acceptance or rejection rests with the Editors, who reserve the right to refuse any material for publication. Authors may present names of potential reviewers and of reviewers whom they would prefer not to review the manuscript. The choice of reviewers remains the Editor's prerogative. A manuscript requiring revision will be returned to the author by email, along with specific suggestions for revision. Authors should follow the instructions below to submit revised manuscripts:

- The author should reply to the suggestions clearly in the "Author's Response" section by indicating places where revisions have been made, and/or by stating reasons for disregarding other suggestions if they are thought to be unacceptable.
- Modified parts should be highlighted using underline, colored font, the highlight function or track changes. The revised manuscript should then be resubmitted. Revised manuscripts should be returned to the Editorial Office within 2 months (minor revision) or 3 months (not acceptable in present form: major revision); otherwise they are considered to be new submissions and will be assigned a new date of receipt.

Manuscripts should be written so that they are intelligible to the professional reader who is not a specialist in the particular field. They should be written in a clear, concise, direct style. Where contributions are judged as acceptable for publication on the basis of scientific content, the Editor and the Publisher reserve the right to modify typescripts to eliminate ambiguity and repetition and to improve communication between author and reader. If extensive alterations are required, the manuscript will be returned to the author for revision.

Before review, all manuscripts submitted to *Cancer Science* is checked with the iThenticate software to detect instances of overlapping and similar text. To find out more about iThenticate and Similarity Check visit <http://www.crossref.org/crosscheck.html>.

Reproduction of Copyright Material

If excerpts from copyrighted works owned by third parties are included, credit must be shown in the contribution. It is the author's responsibility to also obtain written permission for reproduction from the copyright owners. For more information visit Wiley's Copyright Terms & Conditions FAQ at http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-terms--conditions_301.html

Publishing copyright material in an Open Access paper. If your re-use permission does not allow the material to be covered by an open access agreement, please state this clearly by supplying the following credit line alongside the material:

Title of content

Author, Original publication, year of original publication, by permission of [rights holder]

This image/content is not covered by the terms of the Creative Commons licence of this publication. For permission to reuse, please contact the rights holder.

Duplicate Publication and Scientific Fraud

In cases of suspected scientific misconduct (fabrication or falsification of data, double publication (including duplicate submission), or plagiarism), the journal will conduct a preliminary investigation. If scientific misconduct is found, the journal will contact the corresponding author's institution and funding agencies. *Cancer Science* will not consider publication of any papers by the offending authors for a period of 1 year or longer depending on the circumstances of each case. Please also refer to the Editorial for the journal policy to plagiarism at: [Plagiarism](#).

Corrections

Corrections to a manuscript are published at the sole discretion of the editors. The Journal does not accept any changes of authorship after a manuscript is accepted for publication.

SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

All articles submitted to the Journal must comply with these instructions. Failure to do so will result in return of the manuscript and possible delay in publication. Manuscripts can be submitted [online](#). For assistance, please contact the Editorial Office of *Cancer Science* at the address below:

Editorial	Office	Wiley	of <i>Cancer</i>	<i>Science</i>
c/o				Japan
Koishikawa	Sakura		Bldg.,	4F
1-28-1		Koishikawa,		Bunkyo-ku
Tokyo		112-0002		Japan
E-mail:	CancerScience@wiley.com			
Tel:	81	3	3830	1282
Fax:	81	3	5689	7278

New phone number from 2 December 2018

All pages should be numbered consecutively in the top right-hand corner, beginning with the title page.

PREPRINT POLICY

Cancer Science will consider for review articles previously available as preprints on non-commercial servers such as ArXiv, bioRxiv, psyArXiv, SocArXiv, engrXiv, etc. Authors are requested to update any pre-publication versions with a link to the final published article. Authors may also post the final published version of the article immediately after publication. Allowing submission does not, of course, guarantee that an article will be sent out for review.

ORCID

As part of our commitment to supporting authors at every step of the publishing process, the journal requires the submitting author (only) to provide an ORCID iD when submitting a manuscript. This takes around 2 minutes to complete. For [more information](#).

COVERING LETTER

A submission template of a covering letter is available [here](#). A covering letter should be attached and the following information should be included:

- **A declaration** that the paper is being submitted for consideration for publication in *Cancer Science*. The content has not been published or submitted for publication elsewhere except as a brief abstract in the proceedings of a scientific meeting or symposium.
- **All authors' agreement:** acknowledgment that all authors have contributed significantly, and that all authors are in agreement with the content of the manuscript. In keeping with the latest guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors, each author's contribution to the paper is to be quantified.
- **Contact details** at which the corresponding author can be contacted, including mailing address, telephone and fax numbers, and an email address.
- **If tables or figures have been reproduced from another source**, a letter from the copyright holder (usually the Publisher), stating authorization to reproduce the material, must be attached to the covering letter.
- **The salient and novel findings** of the paper in a concise paragraph.
- **The subject category** that applies to the manuscript (please choose one only): Basic and Clinical Immunology; Carcinogenesis; Cell, Molecular, and Stem Cell Biology; Clinical Research; Drug Discovery and Delivery; Epidemiology and Prevention; Genetics, Genomics, and Proteomics; Inflammation and Virology; Pathology (effective from 1 November 2009).
- If the **word count** of the manuscript inevitably exceeds the limit, authors must state the reason for it. Exceeding the word count limit may be allowed at the editors' discretion.
- For **Case Reports**, authors must state that consent for publication in print and electronically has been obtained from the patient or, if this is not possible, the next of kin.

AUTHOR MATERIAL ARCHIVE POLICY

Authors who require the return of any submitted material that is accepted for publication should inform the Editorial Office after acceptance. If no indication is given that author material should be returned, Wiley will dispose of all hardcopy and electronic material two months after publication.

DISCLOSURE

All authors should declare any financial support or relationship that may pose conflict of interest as "Disclosure Statement" between Acknowledgements and References sections. All authors will be required to complete a conflict of interest disclosure form as part of the initial manuscript submission process. The corresponding author is responsible for obtaining completed forms from all authors of the manuscript. Please visit [here](#) to check the details of the updated disclosure guideline. The latest form can be downloaded from [here](#).

Please be advised that for articles which are accepted after April 1, 2012, in any case that the conflict of interest related to the articles submitted are not properly disclosed, there might be possibilities of imposing a penalty.

ETHICAL CONSIDERATIONS

Authors must state that the protocol for the research project has been approved by a suitably constituted Ethics Committee of the institution within which the work was undertaken and that it conforms to the provisions of the [Declaration of Helsinki](#) (as revised in Fortaleza, Brazil, October 2013).

All investigations on human subjects must include a statement that the subject gave informed consent. Patient anonymity should be preserved. Photographs need to be cropped sufficiently to prevent human subjects being recognized (or an eye bar should be used). Any experiments involving animals must be demonstrated to be ethically acceptable and where relevant conform to national guidelines for animal usage in research.

Data Sharing and Data Accessibility

The journal encourages authors to share the data and other artefacts supporting the results in the paper by archiving it in an appropriate public repository. Authors should include a data accessibility statement, including a link to the repository they have used, in order that this statement can be published alongside their paper.

CLINICAL TRIALS

Cancer Science requires that all clinical trials submitted for its consideration are registered in a publicly accessible database. Authors should include the name of the trial register and their clinical trial registration number at the end of their abstract.

STYLE OF THE MANUSCRIPT

Manuscripts should follow the style of the Vancouver agreement detailed in the International Committee of Medical Journal Editors' revised ['Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication'](#).

Spelling. The Journal uses US spelling and authors should therefore follow the latest edition of the Merriam–Webster's Collegiate Dictionary.

Units. All measurements must be given in SI or SI-derived units. Please go to the Bureau International des Poids et Mesures (BIPM) website for more information about SI units.

Abbreviations. Abbreviations used should be consistent with recommended international nomenclature. If there are few abbreviations used initially use the word in full, followed by the abbreviation in parentheses. Thereafter use the abbreviation only. If there are many non-standard abbreviations, a list of the abbreviations should be prepared. Click [here](#) for a list of Standard Abbreviations that can be used without definition.

Keywords. Five key words, for the purposes of indexing, should be supplied below the abstract, in alphabetical order, and should be taken from those recommended by the US National Library of Medicine's Medical Subject Headings (MeSH) browser list at <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>.

Nomenclature.

Names of chemical compounds should conform to the International Union for Pure and Applied Chemistry (IUPAC) nomenclature and biochemical terms to those of the International Union of Biochemistry (IUB). Chemical substances should be referred to by the generic name only. Drugs should be referred to by their generic names. If proprietary drugs have been used in the study, refer to these by their generic name, mentioning the proprietary name, and the name and location of the manufacturer, in parentheses. Names of enzymes should conform to the nomenclature recommended by IUB, the name to be followed by the enzyme number (EC) in parentheses.

Genetic nomenclature. Standard genetic nomenclature should be used. For further information, including relevant websites, authors should refer to [the genetic nomenclature guide in Trends in Genetics](#) (Elsevier Science, 1998). Nucleotide sequence data can be submitted in electronic form to any of the three major collaborative databases: DDBJ, EMBL or GenBank. It is only necessary to submit to one database as data are exchanged between DDBJ, EMBL and GenBank on a daily basis. The suggested wording for referring to accession-number information is: 'These sequence data have been submitted to the DDBJ/EMBL/GenBank databases under accession number U12345.'

Links are as follows: [DNA Data Bank of Japan \(DDBJ\)](#) [EMBL Nucleotide Sequence Submissions](#) [GenBank](#)

PARTS OF THE MANUSCRIPT

Manuscripts parts should be presented in the following order: (i) title page, (ii) abstract, abbreviations, and clinical trial register and their clinical registration number at the end of abstract, (iii) text (including Introduction, Material and Methods, Results, Discussion), (iv) acknowledgments (if any), (v) disclosure statement (if any), (vi) references, (vii) appendices (if any), (viii) figure legends, (ix) a list of Supporting Information (if any; with codec used if they are videos), (x) tables (each table complete with title and footnotes) and (xi) figures. Footnotes to the text are not allowed and any such material should be incorporated into the text as parenthetical matter.

Word

count:

Papers should not exceed the number of words set for each article type. For Original Article, the title page, abstract, figure legends are included in the word count. For the other article types, the title page, abstract, references, figure legends are included in the word count.

- Original article: up to 5000 words (excluding references), including an abstract of no more than 250 words. The number of tables and figures is not limited. A submission template of an original article is available [here](#)
- Review article: 4000-5000 words (including up to 80 references), including an abstract of no more than 250 words and 4–6 tables or figures in total. A submission template of a review article is available [here](#)
- Report: up to 2000 words (including up to 25 references), and up to 4 tables or figures in total, including an abstract of no more than 250 words. Results and Discussion sections (which may be combined) and Acknowledgements. It must contain highly significant and timely findings.
- Case report: up to 2000 words (including up to 25 references), and up to 3 tables or figures in total. Abstract should be up to 100 words. In the covering letter and in the text of the manuscript, authors must state that consent for publication in print has been obtained from the patient or, if this is not possible, the next of kin.
- Letter to the Editor: up to 1000 words (including 10 references), and up to 3 figures or tables in total.

File Format

- Main document: Word.
- Tables: Word is preferred (tables of image data and grouping of text boxes should be avoided.) Excel will be accepted.
- Graphic figures: JPG/TIF/EPS (PDF is acceptable only for submission for ease of transmission during the review process.) Upon acceptance of the article, high-resolution figures (at least 300 d.p.i.) saved as .jpg or .tif files should be provided. Digital images supplied only as low-resolution files cannot be used.
- Line figures: EPS/ Word/Excel.
- Videos: QuickTime/ MPEG/AVI.

Please note that we cannot accept PowerPoint files. These files must be converted to one of the following file types: TIF/EPS/JPG (use maximum quality). Converting PowerPoint files frequently results in unexpected changes to the figures (e.g. missing or shifted text; shifted image elements).

We recommend you not to create figures by PowerPoint. If you do try to convert from PowerPoint to one of these file types, be very careful to compare the final version to your original.

Title **page**

The title page should contain: (i) the title of the paper, (ii) the full names of the authors, (iii) the addresses of the institutions at which the work was carried out, (iv) the full postal and email address, plus facsimile and telephone numbers, of the author to whom correspondence about the manuscript should be sent. The present address of any author, if different from that where the work was carried out, should be supplied in a footnote, (v) the precise word count of the manuscript (excluding references for Original Articles; including references for Review Articles, Reports, Case Reports, and Letters to the Editor), (vi) number of tables/figures, (vii) quantity of supporting information. The title should be short (preferably less than 120 letters), informative and contain the major key words. Do not use unnecessary words such as 'Study of' or 'Results on', or abbreviations in the title.

Abstract

All articles must have an abstract that states in 250 words or fewer the purpose, basic procedures, main findings and principal conclusions of the study. Data such as the number of test subjects and controls, strains of animals or viruses, drug dosages and routes of administration, tumor yields and latent periods, length of observation period, and magnitude of activity should be included. The abstract should not contain abbreviations or references.

Text

Authors should use the following subheadings to divide the sections of their manuscript: Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion.

Introduction. The introduction should mention the purpose of the investigation, its relation to other work in the field, and the reasons for undertaking the research. Brief reference to the most relevant papers is sufficient.

Materials and Methods. Description of methods should be brief, but with sufficient detail to enable others to reproduce the experiments. When published procedures are used, the appropriate references should be cited. Only new and significant modifications of previously published procedures require complete description. Names of products and manufacturers with their locations (city and state/country) should be given and sources of animals and tumors should always be indicated.

Results. The results should be described concisely. Tables and figures should be used only if they are indispensable for the comprehension of data.

Discussion. The results should be interpreted and related to existing knowledge in the field. Information already given in the introduction or results should not be repeated.

Acknowledgments

The source of financial grants and other funding must be acknowledged, including a frank declaration of the authors' industrial links and affiliations. The contribution of colleagues or institutions should also be acknowledged. Personal thanks and thanks to anonymous reviewers are not appropriate.

Disclosure

All authors should declare any financial support or relationship that may pose conflict of interest as "Disclosure Statement" between Acknowledgements and References sections. Examples of the disclosure statement will be found [here](#).

References

All references should be numbered consecutively in order of appearance and should be as complete as possible. In text citations should cite references in consecutive order using Arabic superscript numerals. Sample references follow:

Journal article:

1. Chenevix-Trench G, Spurdle AB, Gatei M, et al. Dominant negative ATM mutations in breast cancer families. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94:205-215.

Journal articles published ahead of issue (print or online) An online article that has not yet been published in an issue (therefore has no volume, issue or page numbers) can be cited by its Digital Object Identifier (DOI). The DOI will remain valid and allow an article to be tracked even after its allocation to an issue.

Electronic Journal articles:

2. Okumura H, Ishii H, Pichiorri F, et al. Fragile gene product, Fhit, in oxidative and replicative stress responses. *Cancer Sci.* 2009;100:1145-1150. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2009.01168.x>

3. Benz PJ, Soll J, Bölter B. Protein transport in organelles: the composition, function and regulation of the Tic complex in chloroplast protein import. *FEBS J.* 2009;276:1166-1176. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.06874.x>

Journal article published online ahead of print:

4. Chau NG, Haddad RI. Antiangiogenic agents in head and neck squamous cell carcinoma: tired of going solo [published online ahead of print September 20, 2016]. *Cancer.* <https://doi.org/10.1002/cncr.30352>.

Book:

5. Ringsven MK, Bond D. *Gerontology and Leadership Skills for Nurses.* 2nd ed. Albany, NY: Delmar Publishers; 1996.

Chapter in a Book:

6. Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, eds. *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis, and Management.* 2nd ed. New York, NY: Raven Press; 1995:465-478.

Published on the World Wide Web:

7. Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial online]. 1995;1:457-460. <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/index.htm>. Accessed June 5, 1996.

Theses and dissertations:

8. Knoll EG. *Mental Evolution and the Science of Language: Darwin, Miiller, and Romanes on the Development of the Human Mind* [dissertation]. Chicago, IL: Committee on the Conceptual Foundations of Science, University of Chicago; 1987.

If the title of a paper is in English, French or German, it should be written in the original language. The present policy of *Cancer Science* is to reduce to a minimum citation of works which are not widely available to the international scientific community. However, if the title of an essential citation is in another language, such as Japanese or Russian, it should be translated into English, and the original language should be indicated in parentheses.

For more information about AMA reference style - [AMA Manual of Style](#)

Appendices

These should be placed at the end of the paper, numbered in Roman numerals and referred to in the text. If written by a person other than the author of the main text, the writer's name should be included below the title.

Tables

Tables should be self-contained and complement, but not duplicate, information contained in the text. Number tables consecutively in the text in Arabic numerals. Type tables on a separate sheet with the legend above. Legends should be concise but comprehensive – the table, legend and footnotes must be understandable without reference to the text. Vertical lines should not be used to separate columns. Column headings should be brief, with units of measurement in parentheses; all abbreviations must be defined in footnotes. Footnote symbols should be given as lowercase letters in alphabetical order. Statistical measures such as SD or SEM should be identified in the headings. Tables should be submitted in Microsoft Word or Excel. Image files and groupings of text boxes should be avoided.

Figures

All illustrations (line drawings and photographs) are classified as figures. Figures should be cited in consecutive order in the text. Figures should be sized to fit within the column (88 mm), intermediate (114 mm) or the full text width (180 mm). Materials of inappropriate size will be reduced by the Editorial Office. Magnifications should be indicated using a scale bar on the illustration. Figures should be supplied as separate files, with the figure number incorporated in the file name.

- Photographic and scanned images should be supplied meeting all three of the following criteria: (i) TIF or JPG file, (ii) 300 d.p.i. in resolution (or greater); (iii) 86 mm in image width (or greater). For submission, figures saved as .eps or .pdf files will be accepted, for ease of transmission during the review process. Upon acceptance of the article, high-resolution figures (at least 300 d.p.i.) saved as .jpg, .eps or .tif files should be provided.
- Line figures should be supplied as EPS, Excel or Word files. Please provide the original version of these figures, that is, the file from the program they were drawn in.
- For figures that contain both line and photographic elements, please supply the line elements in the program in which they were drawn and the photographic elements in a separate file according to the instructions above.
- For more information regarding digital figures, please refer to our [Electronic Artwork Information for Authors page](#).

Figure

legends.

Type figure legends on a separate sheet. Legends should be concise but comprehensive – the figure and its legend must be understandable without reference to the text. Include definitions of any symbols used and define/explain all abbreviations and units of measurement.

Supporting

Information

Supporting Information can be a useful way for an author to include important but ancillary information with the online version of an article. Examples of Supporting Information include additional tables, data sets, figures, movie files, audio clips, 3D structures, and other related nonessential multimedia files. Supporting Information should be cited within the article text, and a descriptive legend should be included. It is published as supplied by the author, and a proof is not made available prior to publication; for these reasons, authors should provide any Supporting Information in the desired final format. For further information on recommended file types and requirements for submission, please visit: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/suppinfo.asp>

- Supporting figures, tables and text must be numbered Fig. S1, Fig. S2, etc., Table S1, Table S2, etc. and Doc. S1, Doc S2, etc, respectively.
- The availability of supporting information needs to be indicated in the main manuscript by a paragraph, to appear after the References, headed 'Supporting information' and providing titles of figures, tables and text.
- An author's website cannot be used as supporting information.

MANUSCRIPTS

Authors are required to provide electronic copies of their manuscripts to be submitted online. The following instructions should be adhered to:

- Lines should be double-spaced.
- Do not use the carriage return (Enter) at the end of lines within a paragraph.
- Turn the hyphenation option off; include only those hyphens that are essential to the meaning.
- Specify any special characters used to represent non-keyboard characters.
- Take care not to use l (ell) for 1 (one), O (capital o) for 0 (zero) or ß (German esszett) for β (Greek beta).

- Use a tab, not spaces, to separate data points in tables. If you use a table editor function, ensure that each data point is contained within a unique cell (i.e. do not use carriage returns within cells).