

## Avaliação do potencial antineoplásico do extrato bruto aquoso de *Eugenia uniflora* L. em células de câncer cervical humano.

Jisette G. Núñez\*<sup>1</sup>, Allan Pereira<sup>1</sup>, Jordânia dos Santos P.<sup>2</sup>, Gabriel F. Silveira<sup>3</sup>, Aline Beckenkamp<sup>4</sup>, Andréia Buffon<sup>4</sup> e Alessandra N. Bruno<sup>5</sup>.

1. Estudante de curso Técnico em Biotecnologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul– Campus Porto Alegre. \*jisetteglez@hotmail.com
2. Estudante da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
3. Técnico do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul– Campus Porto Alegre
4. Pesquisadora da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
5. Pesquisadora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul– Campus Porto Alegre

Palavras Chave: *pitangueira*, *SiHa*, *HaCat*

### Introdução

O câncer de colo uterino humano é, mundialmente, a quarta neoplasia mais comum entre as mulheres e a terceira no Brasil (INCA, 2016). Tendo em vista a alta prevalência e morbidade deste tipo de tumor tornam-se pertinentes estudos envolvendo ativos vegetais para a geração de novas abordagens terapêuticas que possam diminuir os efeitos adversos provocados pelos tratamentos convencionais

*Eugenia uniflora* L. (pitangueira) é uma planta nativa brasileira, com propriedades biológicas já descritas na literatura, tais como: antiinflamatório, antioxidante, antimicrobiano e hipoglicemiante. Entretanto, não existem estudos que relacionem tais efeitos com células de câncer cervical humano. Dessa forma, este trabalho visa avaliar parâmetros biológicos em células de câncer cervical humano, após o tratamento com extrato bruto aquoso de *E. uniflora* L. e investigar a possível toxicidade em células não tumorais humanas.

### Resultados e Discussão

Foram utilizadas células tumorais de câncer de colo uterino humano (SiHa) e queratinócitos humanos imortalizados (Hacat), como o controle não tumoral. Ambas as linhagens foram cultivadas em meio Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino e mantidas em estufa a 5% de CO<sub>2</sub>, e 37°C. Após identificação botânica, as folhas de *E. uniflora* L. foram lavadas, secas em estufa, trituradas e solubilizadas em meio de cultura para obtenção do extrato. As células foram semeadas em placas de cultivo e tratadas com o extrato bruto nas concentrações de 0,5 - 20 µg/mL por 24, 48 ou 72 horas.

Realizou-se ensaio de MTT (0,5 mg/mL) nas células tratadas e controle (DMEM) nas linhagens SiHa e HaCat.

O ensaio de adesão celular foi realizado após o tratamento com o extrato bruto aquoso (5, 10 e 15 µg/mL) e as células foram contadas com azul de tripan. O estudo de migração celular foi verificado através do ensaio de *wound healing* que consiste na realização de uma ruptura na monocamada celular a qual é quantificada antes e depois do tratamento com o IC<sub>50</sub> do extrato de 7,8 µg/mL. A capacidade de formação de colônias foi analisada através do ensaio clonogênico, assim como o ensaio *washout* para a observação da capacidade de recuperação da viabilidade celular após a retirada do tratamento, ambos com a concentração inibitória média IC<sub>50</sub>. A análise das características apoptóticas, como condensação e fragmentação cromossômica, procedeu-se através da utilização do corante Hoechst® 33258 (1mg/mL) após o

tratamento de 24 horas com o IC<sub>50</sub> e análise em microscópio de fluorescência. A citometria de fluxo, utilizando anexina V/Iodeto de propídeo, visou a investigação do mecanismo de morte celular por apoptose/necrose.

Os resultados do ensaio de MTT revelaram uma inibição significativa da viabilidade celular de 17% a 41% após 24 horas de tratamento; 35% a 65% após 48 horas e 11% a 61% após 72 horas. O tratamento diminuiu a capacidade de adesão e migração das células tumorais, bem como, a capacidade de formação de colônias em 81%. Além disso, após cinco dias da retirada do tratamento, apenas 2% das células foram capazes de recuperar a sua viabilidade. A análise da morfologia nuclear demonstrou que o tratamento foi capaz de aumentar o número de células com características apoptóticas em relação ao respectivo controle. A citometria de fluxo revelou, principalmente, uma morte mediada por apoptose após 48 horas de tratamento. Além disso, o tratamento não apresentou toxicidade significativa nas células não tumorais (Hacat) até a concentração de 15 µg/mL.

### Conclusões

Estes resultados demonstram que o extrato bruto aquoso de *E. uniflora* L. foi capaz de interferir de forma significativa em parâmetros celulares importantes para a linhagem tumoral utilizada. Dessa forma, evidenciamos a relevância de estudos envolvendo esta planta nativa como uma nova e potencial alternativa terapêutica para o câncer cervical humano.

### Agradecimentos

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – Câmpus Porto Alegre.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA) JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2016.

Slowing, K., E. Carretero & A. Villar. 1996. Anti-inflammatory compounds of *Eugenia jambos*. *Phytotherapy Research* 10:S126-S127.

SILVA, S. M. Pitanga. *Revista Brasileira de Fruticultura* 28: 1. 2006.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Efeito da luz e da temperatura de congelamento sobre a estabilidade das antocianinas da pitanga roxa. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, p. 92-94, 2005.

Fiuza TS, Rezende MH, de Sabóia-Morais SMT, Bara MT, Tresvenzol LMF, de Paula JR. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). *Revista Eletrônica de Farmácia*. 2008; 5(2): 01-11.

CONSOLINI, Alicia E.; SARUBBIO, Marisol Gracia. Pharmacological effects of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) aqueous crude extract on rat's heart. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 81, n. 1, p. 57-63, 2002.