



AValiação DA CITOTOXICIDADE DA *Punica granatum* L. SOBRE CÉLULAS TUMORAIS

OLIVEIRA, Ligianne Pereira¹; PINHEIRO, Renata Canuto²; VALADARES, Marize Campos³

Palavras-chave: *Punica granatum* L.; romã; citotoxicidade celular

1. INTRODUÇÃO

A grande incidência de câncer em todo mundo faz com que cada vez mais aumente a busca de pesquisas e terapias, mais seguras e eficazes, para prevenção e combate do mesmo. Apesar dos esforços despendidos, o sucesso no tratamento de tumores tem se mostrado discreto, devido ao grau de agressividade da doença e os mecanismos de escape das células neoplásicas, e principalmente pela toxicidade medular causada pelos agentes anti-neoplásicos devido a ausência de seletividade destes para as células neoplásicas, o que limita suas doses fazendo com que muitas vezes elas sejam incapazes de eliminar todas as células tumorais (RAFFERTY et al., 1996). Estudos sobre fitoterápicos na busca de substâncias bioativas de origem natural vêm despertando interesse da comunidade científica e vários trabalhos têm sido publicados confirmando atividades farmacológicas de ervas de uso secular e empírico pela população, por desempenhar papel fundamental na prevenção de patologias. Estas informações demonstram, inquestionavelmente, a importância da pesquisa científica na identificação da atividade farmacológica e mecanismos de ação de plantas e/ou seus extratos, para novas descobertas em áreas como oncologia, imunoterapia, entre outras. Recentemente, pesquisadores investigaram a utilização da *Punica granatum* L. (PG) como agente quimioprotetor e adjuvante no tratamento do câncer de mama, o qual tem se mostrado promissor (KIM, et al., 2002). Sendo assim, nos propomos a estudar a citotoxicidade do extrato da *Punica granatum* sobre o modelo experimental do Tumor Ascítico de Ehrlich, que é bastante vantajoso frente a outros modelos tumorais por apresentar inespecificidade diante das diferentes linhagens murinas, ser facilmente transplantável, com porcentagem de “pega” de até 100% e permitir a utilização de diferentes vias de inoculação para a administração das células tumorais.

2. METODOLOGIA

Obtenção do extrato: o material botânico foi oriundo do horto da Faculdade de farmácia e o extrato preparado de acordo com a Farmacopéia Brasileira.

Cultura de células: Nos estudos *in vitro* utilizamos células ascítica de Ehrlich, que foram coletadas da cavidade abdominal de animais portadores (camundongos Balb/c). Para avaliar a citotoxicidade as células foram semeadas (2×10^6 cels/ml) em

placa de 96 poços e incubadas durante 24 e 48 horas, em estufa úmida, com 5% de CO₂ no ar, com diferentes concentrações (50 / 25 / 12,5 / 6,25 / 3,125 / 1,56 / 0,78 / 0,39 / mg/mL) do extrato alcoólico do PG.

Avaliação *in vitro* da citotoxicidade pelo método de viabilidade por azul de trypan: Após o período de incubação uma alíquota de 20 µl da suspensão de células foi retirada e diluída em 180 µl de Azul de Trypan (0,2%, Sigma ®). As células foram observadas por suas alterações morfológicas e contadas em Câmara de Neubauer. As células viáveis, que excluíram este corante, possuíam um aspecto translúcido e as células mortas apresentavam a coloração arroxeadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao testar várias concentrações do extrato Alcoólico da *Punica granatum* em culturas de células com Tumor Ascítico de Ehrlich, através do método de viabilidade por Azul de Tripán, notou-se que as diferentes concentrações da planta produziu um efeito citotóxico dose-dependente. A citotoxicidade é extrema nas doses de 50 e 25 mg/mL, ocasionando 100% de células mortas em relação ao controle, independente do período de incubação. Nas concentrações de 12,5 e 6,25 mg/mL observou-se 1,51% de células viáveis no período de 24h e nenhuma célula viável no período de 48h. A concentração de 3,25 mg/mL apresentou apenas células mortas nos dois períodos de incubação. Em 1,56 mg/mL não foi observada nenhuma célula viva no período de 24h, porém no de 48h detectou-se 35,08% de células viáveis. Nas concentrações de 0,78 e 0,39 mg/mL restaram respectivamente 6,06% e 36,36% de células vivas no período de 24h, sendo que em 48h não restaram células vivas (Figura 1).

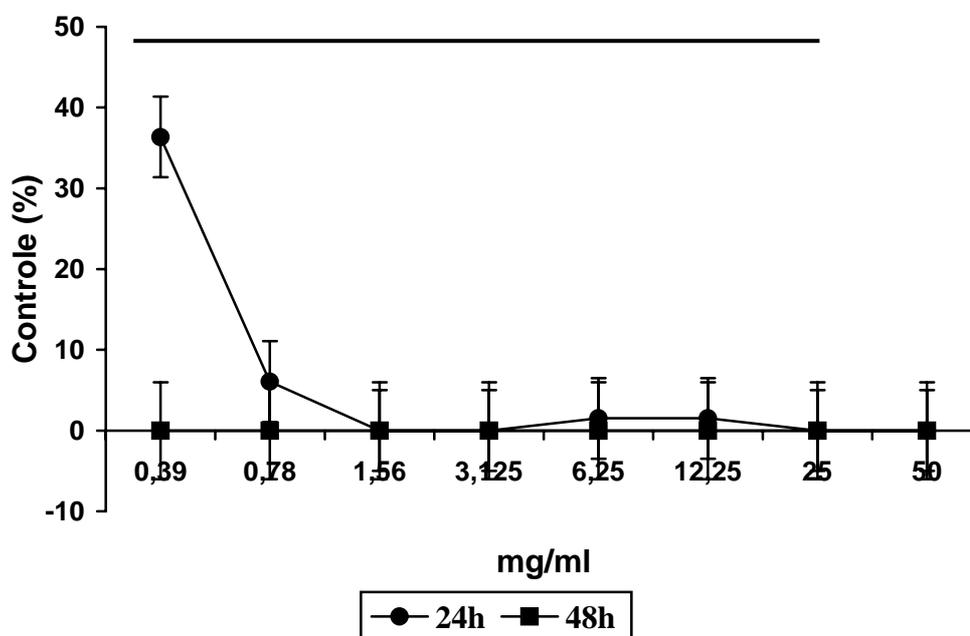


Figura 1- Viabilidade celular de células ascíticas do Tumor de Ehrlich após 24 e 48 h de exposição a diferentes concentrações da PG (0,39 a 50 mg/ml) pelo método de azul de trypan. Cada ponto representa a média da triplicata. A barra horizontal representa 50% de morte celular (CL_{50%}).

4. CONCLUSÃO

Diante dos dados apresentados, podemos concluir que o EPG possui um efeito citotóxico sobre as células do Tumor ascítico de Ehrlich. Este efeito se apresentou de forma dose-dependente. Maiores estudos deverão ser realizados com diferentes doses para confirmação do efeito citotóxico e encontrarmos a concentração letal para 50% das células (CL_{50%}).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

HOLETZ, F.B.; PESSINE, G.L.; SANCHES, N.R. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 97(7): 1027-1031, Outubro, 2002.

KIM N.D.; MEHTA R.; YU W.P. Chemopreventive and adjuvant therapeutic potential of pomegranate (*Punica granatum*) for human breast cancer Breast Cancer Research And Treatment 71 (3): 203-217 Fevereiro, 2002.

MOREIRA, F. Hemus Editora Ltda, São Paulo, 1985.

NAVARRO, V.; VILLAREAL, M.L.; ROJAS, G.; LOZOYA, X. Journal of Ethnopharmacology, 53, 143, 1996.

RAFFERTY, J.A.; HICKSON, I.; LASHFORD, L.S. Chemoprotection of normal tissues by transfer of drug resistance genes. Cancer Metastasis Rev, 15: 365, 1996.

FONTE DE FINANCIAMENTO:



¹ Voluntária de iniciação científica. Faculdade de Farmácia – NEPET-UFG - Núcleo de Estudos e Pesquisas Toxicológicas, ligianne@gmail.com

² Voluntária de iniciação científica. Faculdade de Farmácia – NEPET-UFG - Núcleo de Estudos e Pesquisas Toxicológicas, canutorenata@yahoo.com.br

³ Orientadora/Faculdade de Farmácia/UFG, NEPET-UFG, marizecv@farmacia.ufg.br