

Estudo de parâmetros biológicos após o tratamento com óleo essencial de *Eugenia Uniflora* L em células de câncer cervical humano

Jisette González Núñez - Orientadora: Dr^a Alessandra Nejar Bruno
Departamento de Biotecnologia do IFRS-POA

INTRODUÇÃO

O câncer de colo uterino humano é a terceira neoplasia mais presente na população feminina do Brasil e a quarta, mundialmente. A alta prevalência e morbidade deste tipo de tumor, além dos efeitos adversos dos tratamentos atualmente disponíveis, justificam a importância de estudos que avaliam o potencial antineoplásico de ativos vegetais. *Eugenia uniflora* L. (pitangueira) é uma planta nativa brasileira com efeitos já descritos na literatura, tais como: antioxidante (LIMA; MÉLO; SILVA, 2002), anti-inflamatório (SCHAPOVAL et al., 1994), antimicrobiano (SIQUI et al., 2000) e hipoglicemiante (LEE et al., 2000).

OBJETIVOS

Este estudo visa avaliar diferentes parâmetros biológicos em células de câncer cervical humano após o tratamento com óleo essencial de *E. uniflora* L., bem como investigar a possível toxicidade em células não tumorais humanas.

METODOLOGIA

CÉLULAS

Células da linhagem SiHa e HacaT (linhagem não tumoral) foram cultivadas em meio *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM)/10% de Soro Fetal Bovino (SFB) e mantidas em estufa de CO₂ a 5% e 37°C.

ANÁLISE QUÍMICA: CROMATOGRAFIA GASOSA

Óleo analisado numa concentração de 2% em éter etílico.

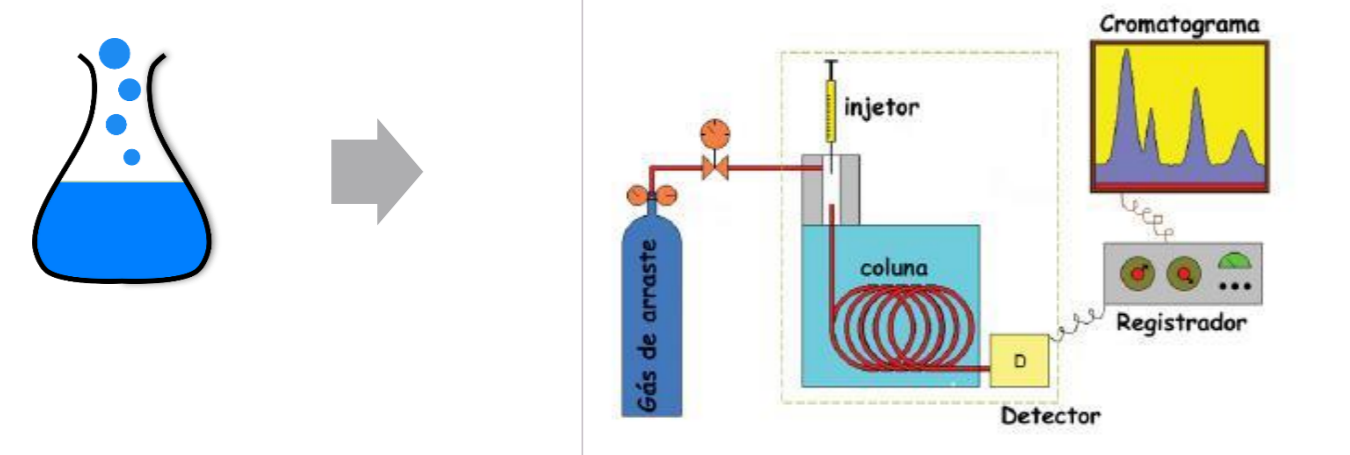
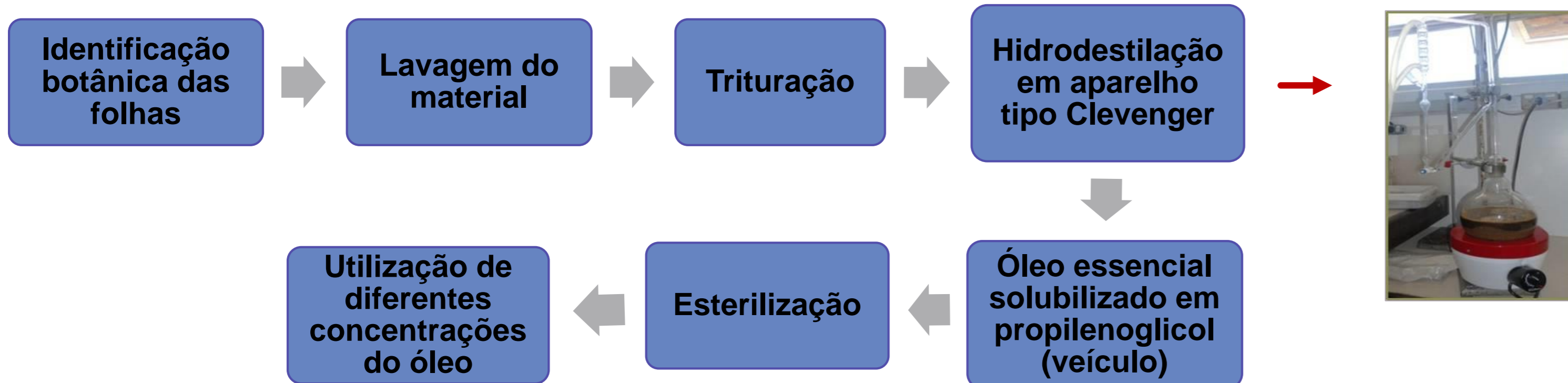
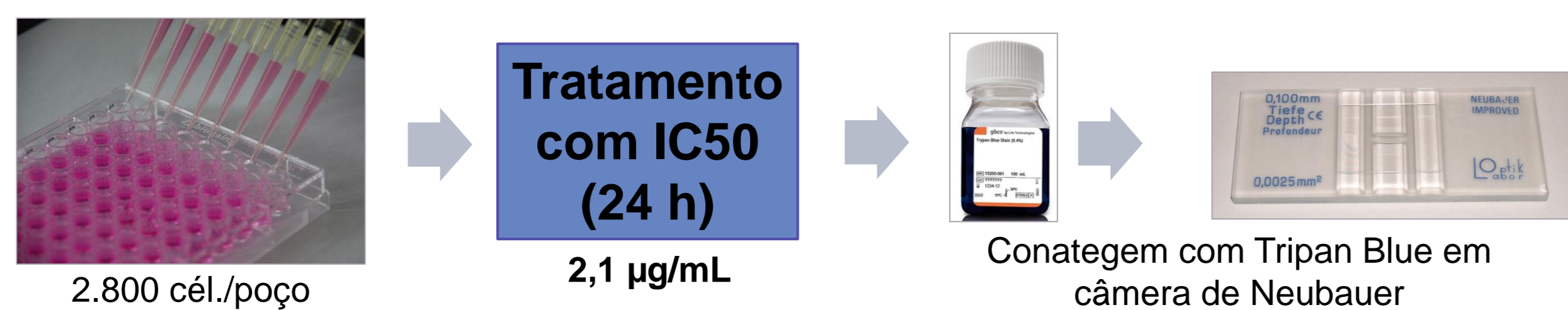


Figura 1: Cromatógrafo à gás acoplado a um detector de massas (CG-EM).
Fonte: http://ppegeo-local.igc.usp.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-75362008000200002&lng=en&nrm=iso

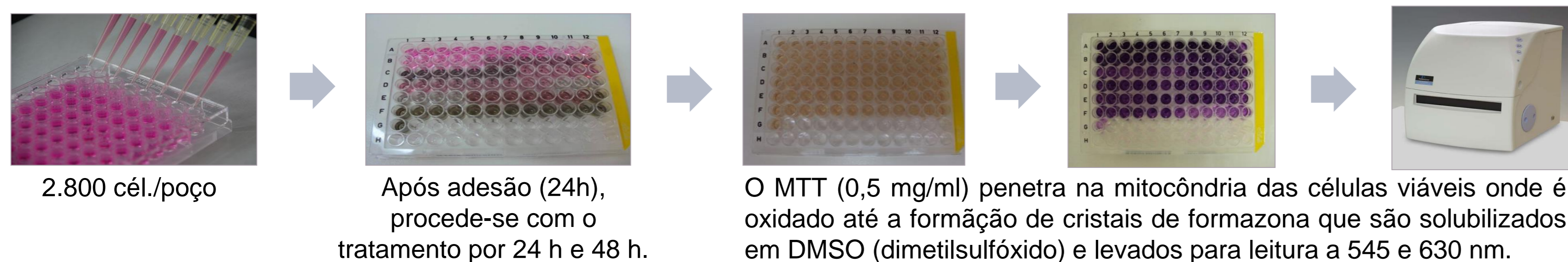
PREPARO DA SOLUÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL



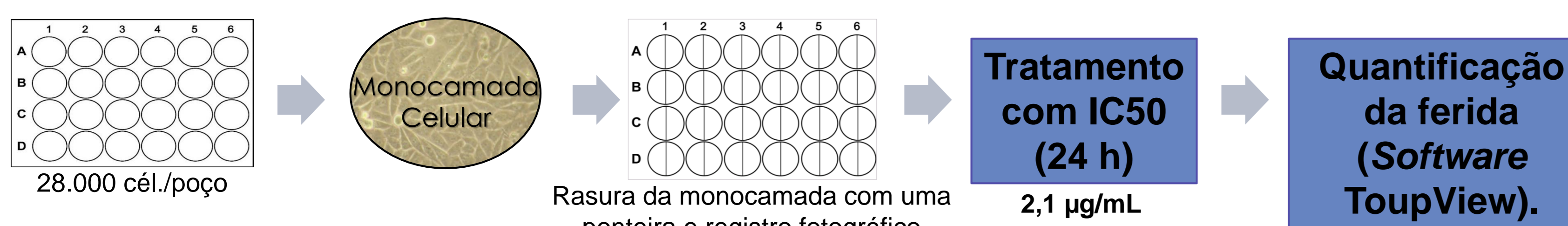
ENSAIO DE ADESÃO



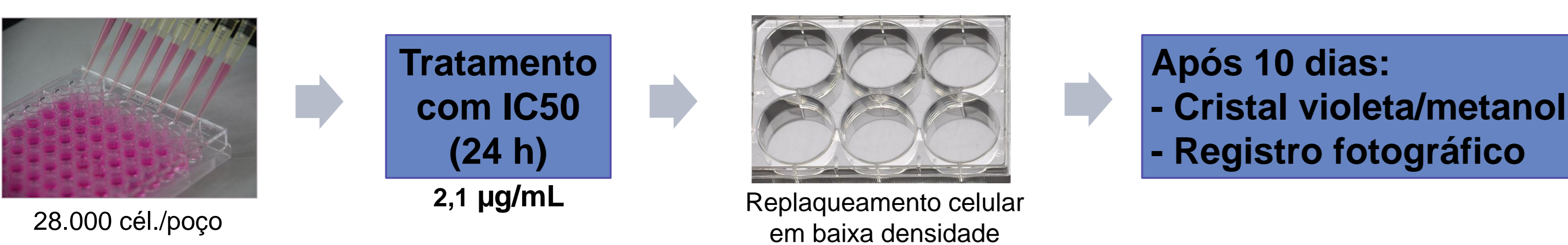
ENSAIO DE MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio): VIABILIDADE CELULAR



ENSAIO WOUND HEALING: MIGRAÇÃO CELULAR



ENSAIO CLONOGÊNICO: FORMAÇÃO DE COLÔNIAS



HOECHST: ANÁLISE MORFOLÓGICA NUCLEAR



RESULTADOS

MTT: Viabilidade da linhagem HacaT após tratamento

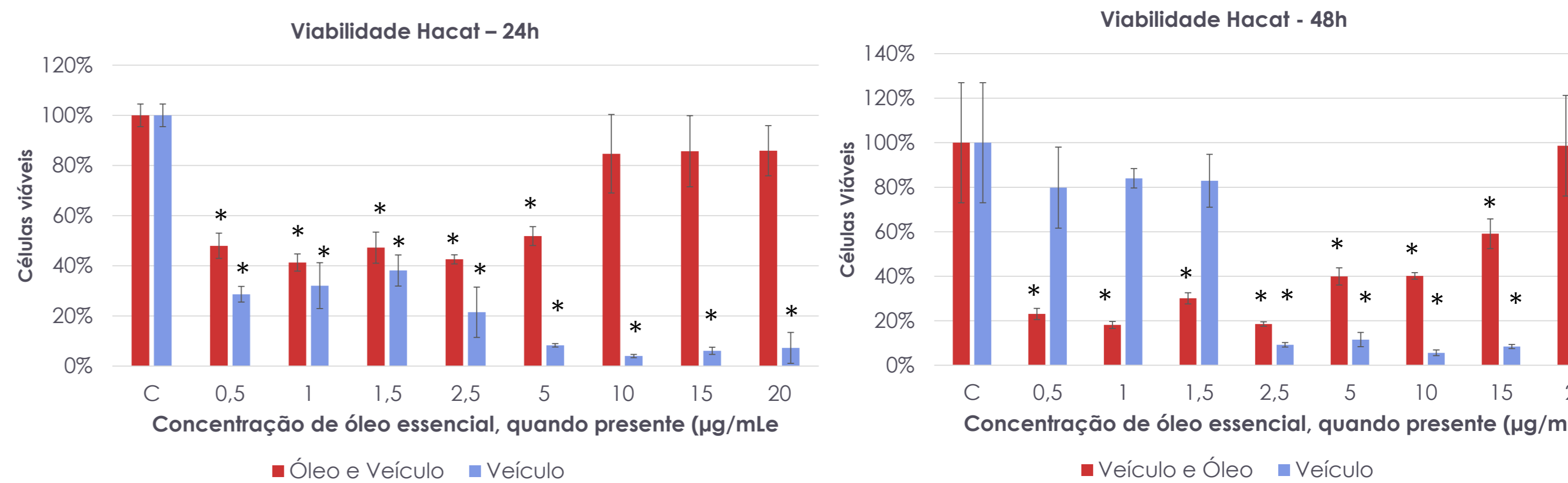


Figura 2 e 3: Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *E. uniflora* L. e veículo (propilenoglicol) sobre a viabilidade da linhagem HacaT após 24 e 48 horas de tratamento. Os dados mostram a média e o desvio-padrão de dois experimentos independentes, realizados em duplicata. *P < 0,05 (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

MTT: Viabilidade da linhagem SiHa após tratamento

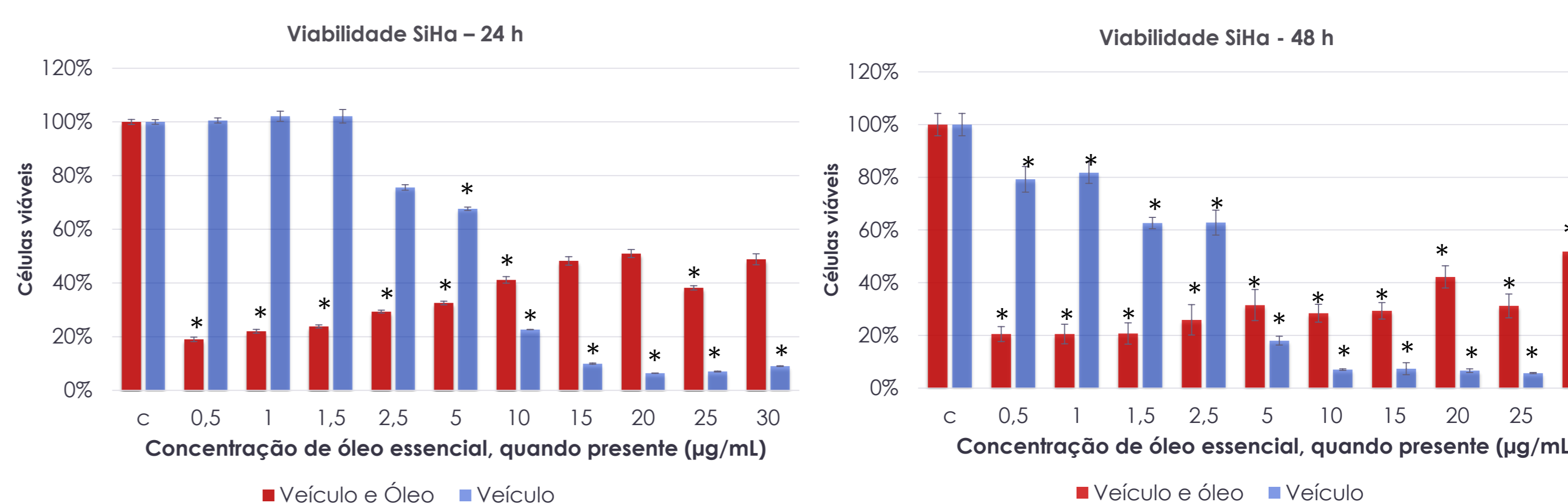


Figura 4 e 5: Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *E. uniflora* L. e veículo (propilenoglicol) sobre a viabilidade da linhagem SiHa após 24 e 48 horas de tratamento. Os dados mostram a média e o desvio-padrão de três experimentos independentes, realizados em duplicata. *P < 0,05 (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

Wound Healing: Efeito do óleo essencial de *E. uniflora* L.

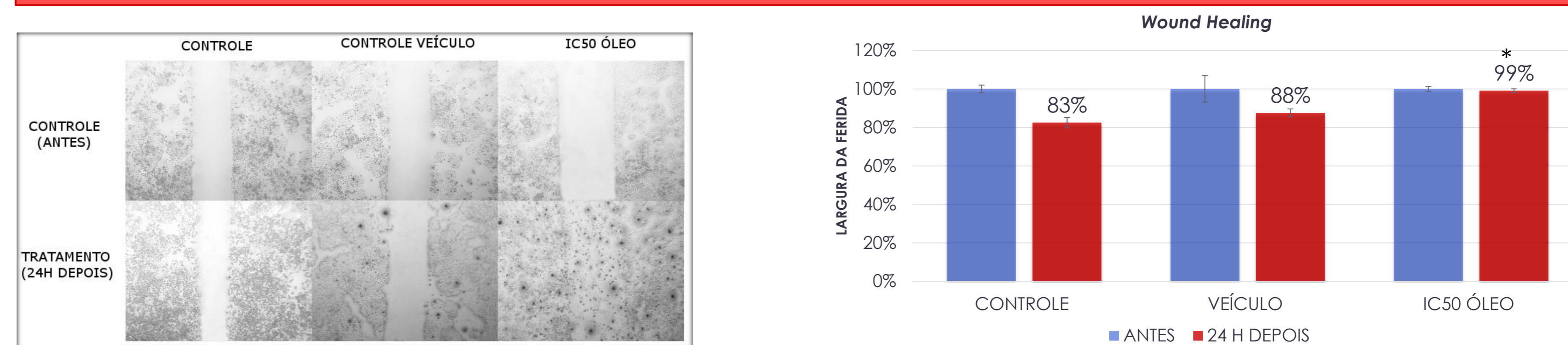


Figura 6 e 7: Efeito do óleo essencial (IC50) de *E. uniflora* L. e veículo (propilenoglicol) sobre a capacidade de migração da linhagem SiHa, após 24 horas de tratamento. Os dados mostram a média e o desvio-padrão de um experimento independente, realizado em duplicata. *P < 0,05 (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

Clonogênico: Efeito do óleo essencial de *E. uniflora* L.

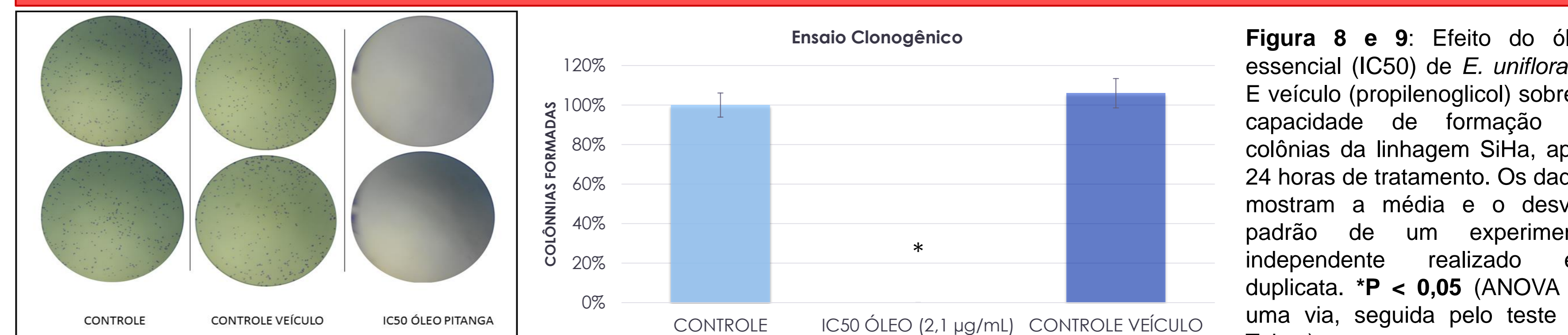


Figura 8 e 9: Efeito do óleo essencial (IC50) de *E. uniflora* L. e veículo (propilenoglicol) sobre a capacidade de formação de colônias da linhagem SiHa, após 24 horas de tratamento. Os dados mostram a média e o desvio-padrão de um experimento independente realizado em duplicata. *P < 0,05 (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

Hoechst: Efeito do óleo essencial de *E. uniflora* L.

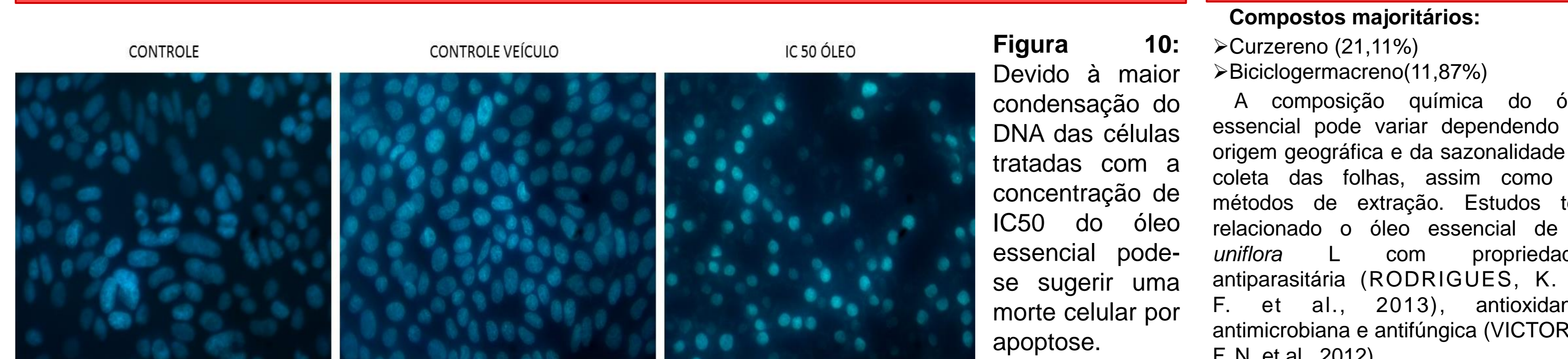


Figura 10: Devido à maior condensação do DNA das células tratadas com a concentração de IC50 do óleo essencial pode-se sugerir uma morte celular por apoptose.

Análise Química

Compostos majoritários:
 >Curzereno (21,11%)
 >Biciclogermacreno(11,87%)
 A composição química do óleo essencial pode variar dependendo da origem geográfica e da sazonalidade de coleta das folhas, assim como do métodos de extração. Estudos tem relacionado o óleo essencial de *E. uniflora* L com propriedades antiparasitária (RODRIGUES, K. A. F. et al., 2013), antioxidante, antimicrobiana e antifúngica (VICTORIA, F. N. et al., 2012)

Hoechst: Efeito do óleo essencial de *E. uniflora* L.

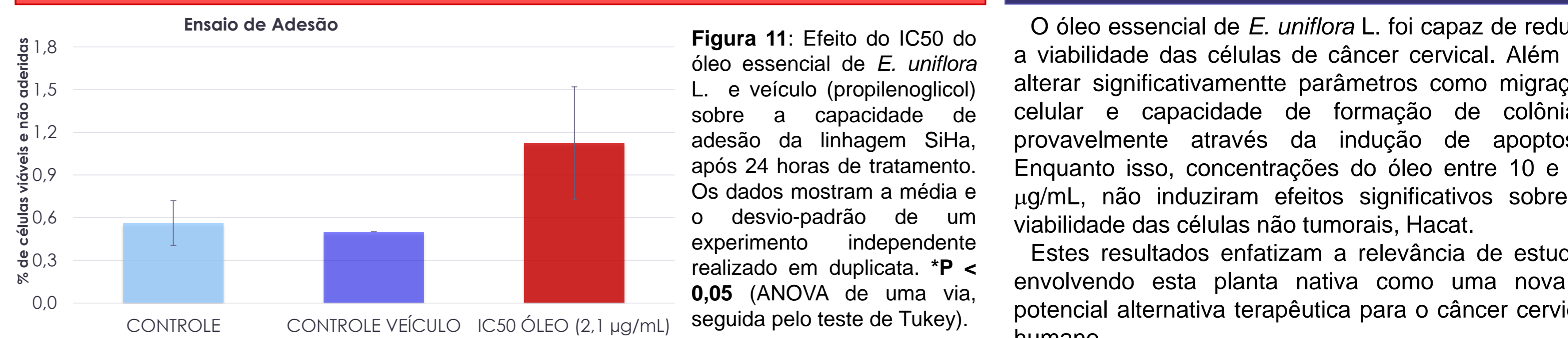


Figura 11: Efeito do IC50 do óleo essencial de *E. uniflora* L. e veículo (propilenoglicol) sobre a capacidade de migração de células da linhagem SiHa, após 24 horas de tratamento. Os dados mostram a média e o desvio-padrão de um experimento independente realizado em duplicata. *P < 0,05 (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

CONCLUSÕES

O óleo essencial de *E. uniflora* L. foi capaz de reduzir a viabilidade das células de câncer cervical. Além de alterar significativamente parâmetros como migração celular e capacidade de formação de colônias, provavelmente através da indução de apoptose. Enquanto isso, concentrações do óleo entre 10 e 20 µg/mL, não induziram efeitos significativos sobre a viabilidade das células não tumorais, HacaT. Estes resultados enfatizam a relevância de estudos envolvendo esta planta nativa como uma nova e potencial alternativa terapêutica para o câncer cervical humano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured, Illinois, 2000.
 INSTITUTO NACIONAL DE CâNCER (INCA). JOSE ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2014.
 LEE, M.; CHOI, J. F.; YEN, K. Y.; YANG, L. L. "EBV DNA polymerase inhibition of tannins from *Eugenia uniflora*." *Cancer letters* 154:2 (2000): 131-136.
 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 pitangueira. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, p. 92-94, 2005.
 RODRIGUES, Klinger Antonio da Franca et al. *Eugenia uniflora* L. essential oil as a potential anti-Leishmania agent: effects on *Leishmania amazonensis* and possible mechanisms of action. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2013, 2013.
 SCHAPOVAL, E. E. S.; SILVEIRA, S.M.; MIRANDA M.L.; ALICE C.B.; HENRIQUES A.T. "Evaluation of some pharmacological activities of *Eugenia uniflora* L." *Journal of ethnopharmacology* 44:2(1994): 137-142.
 VICTORIA, Francine Novack et al. Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: antioxidant and antimicrobial properties. *Food and chemical toxicology*, v. 50, n. 8, p. 2668-2674, 2012.

APOIO:

