

Gustavo Luiz Padilha¹; Alessandra Nejar Bruno²;

¹ Biomedicina, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre-UFCSPA; ² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul–Campus POA (IFRS-POA).

INTRODUÇÃO

O câncer de colo uterino é o terceiro tumor mais prevalente em mulheres no Brasil e ainda permanece com alta prevalência e morbidade, enfatizando a importância pela busca de novas estratégias terapêuticas baseadas em produtos de origem natural. Os óleos essenciais obtidos das folhas da pitangueira, *Eugenia uniflora* L., destacam-se por uma série de efeitos biológicos, porém com seu efeito antitumoral ainda pouco estudado.

OBJETIVOS

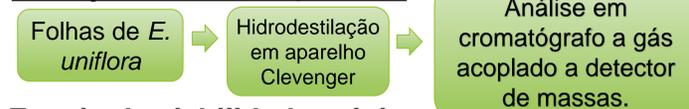
Estudar o potencial antineoplásico do óleo essencial obtido a partir de folhas de *E. uniflora* em células de câncer cervical (SiHa) e a possível citotoxicidade em células não tumorais (HaCaT).

METODOLOGIA

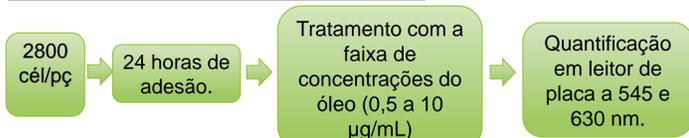
Linhagens celulares:



Extração e Análise química:



Ensaio de viabilidade celular:



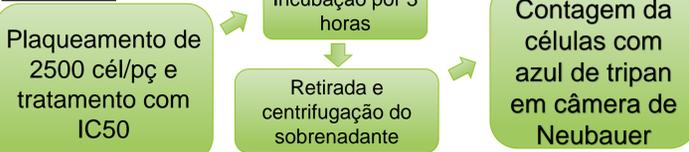
Interação entre os tratamentos:



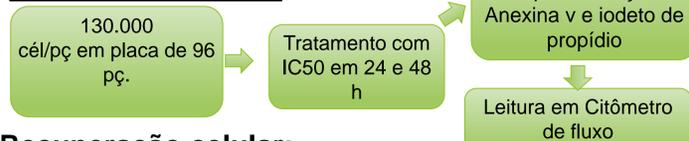
Clonogênico:



Adesão:



Citometria de fluxo:



Recuperação celular:



Migração:



RESULTADOS

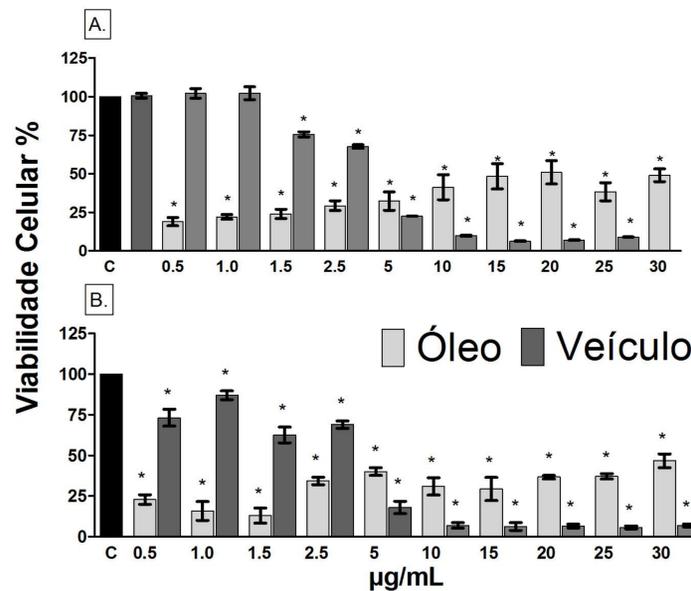


Figura 1: Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *E. Uniflora* e veículo (Propilenoglicol) em 24 horas (A) e 48 horas (B) sobre a viabilidade da linhagem SiHa. Os dados mostram a média e o desvio-padrão de dois experimentos independentes, realizados em duplicata. *P < 0,05 (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

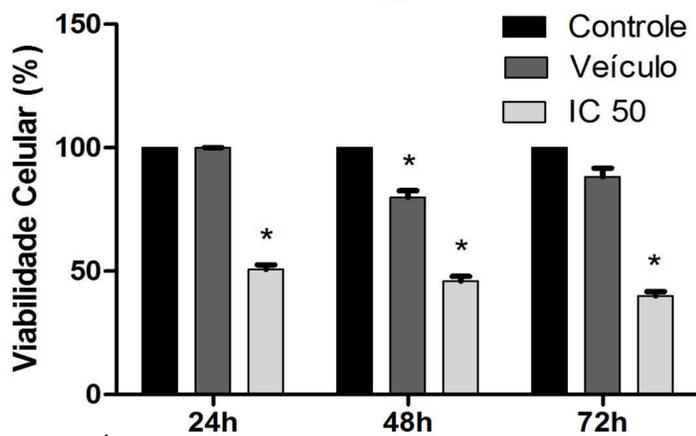


Figura 2: Efeito do IC50 (2,1µg/mL) do óleo essencial de *E. Uniflora* e veículo (Propilenoglicol) em 24 horas nas células não tumorais (Hacat). Os dados mostram a média e o desvio-padrão de dois experimentos independentes, realizados em duplicata. *P < 0,05 (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

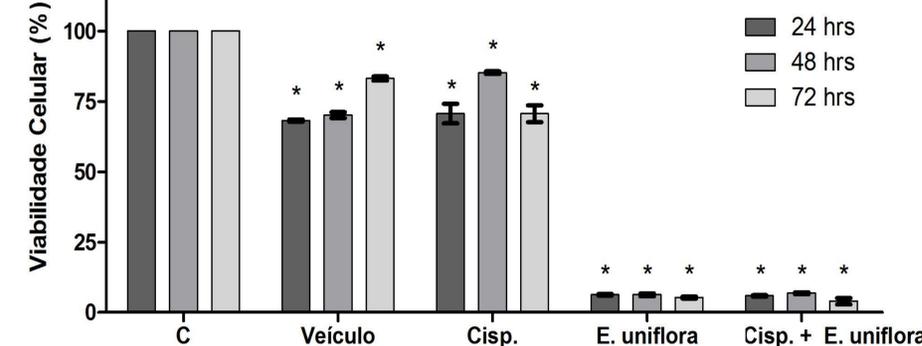


Figura 3: Interação entre o IC50 do óleo essencial de *E. Uniflora* e a Cisplatin (80µM) em 24, 48 e 72 horas. Os dados mostram a média e o desvio-padrão de dois experimentos independentes, realizados em duplicata. *P < 0,05 (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

Tabela 1 – Composição química do óleo essencial de *E. uniflora*

COMPOSTO	%
Curzereno	21,11
Biciclogermacreno	11,87
Gama-gurjuneno	6,48
Germacreno B	6,01
Selina-1,3,7(11)-trien-8-ona	3,94

Tabela 2 - Resultados da citometria de fluxo em SiHa utilizando kit de dupla marcação para Annexina V e iodeto de propídio (n=6).

Condição	<i>E. uniflora</i>	Cisplatin	Triton
Viáveis	0.13%	91.62%	47.73%
Apoptose	0.32%	1.14%	11.83%
Necrose	0.08%	3.55%	10.39%
Apoptose Tardia	99.47%	3.69%	34.05%

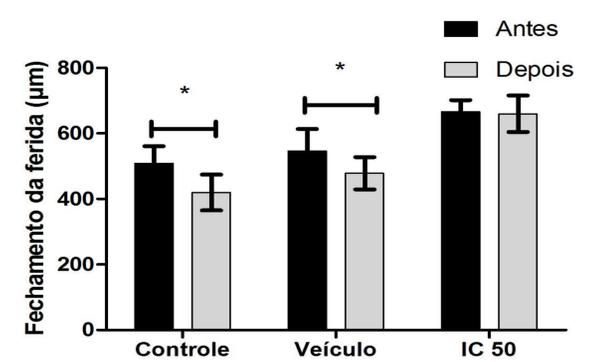


Figura 4: Média das medidas da largura das feridas da linhagem SiHa após 24 horas de tratamento com óleo essencial de *E. Uniflora* na concentração de IC50 (2,1µg/mL). Os dados mostram a média e o desvio-padrão de dois experimentos independentes, realizados em duplicata. *P < 0,05 (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

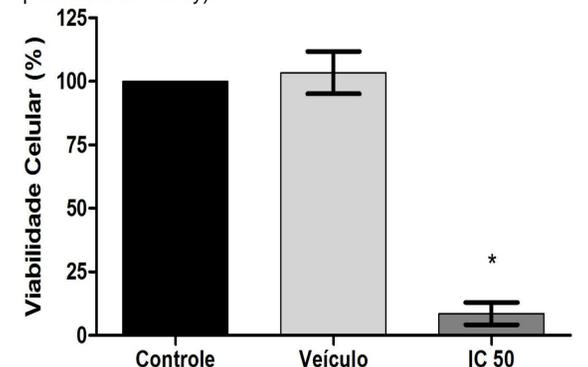


Figura 5: Análise da viabilidade celular por MTT após realização do ensaio de recuperação celular com a concentração de IC50 (2,1µg/mL) do óleo essencial por 24 horas de tratamento. Os dados mostram a média e o desvio-padrão de dois experimentos independentes, realizados em duplicata. *P < 0,05 (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

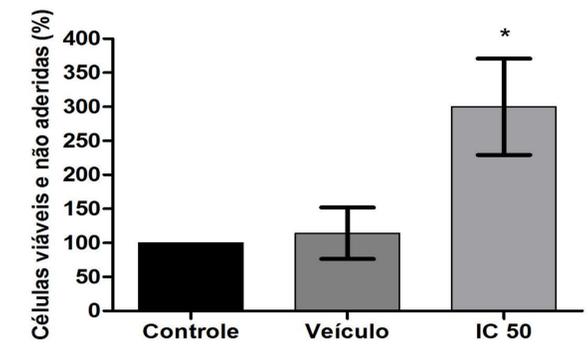


Figura 6: Efeito do IC50(2,1µg/mL) do óleo essencial de *E. uniflora* sobre a capacidade de adesão das células de SiHa. Os dados mostram a média e o desvio-padrão de dois experimentos independentes, realizados em duplicata. *P < 0,05 (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

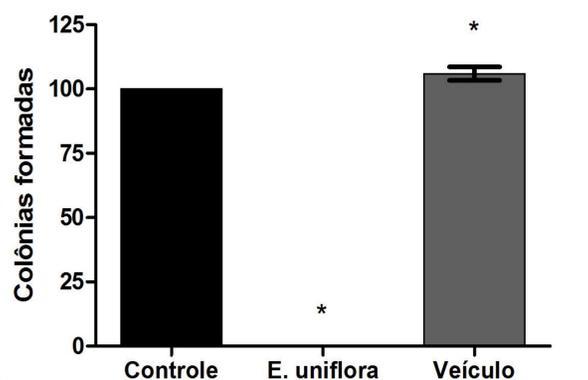


Figura 7: Quantificação dos efeitos do OE 1 na concentração de IC50 (2,1 µg/mL) sobre a capacidade clonogênica das células tumorais após 24 horas de tratamento. Os dados mostram a média e o desvio-padrão de dois experimentos independentes, realizados em duplicata. *P < 0,05 (ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey).

DISCUSSÕES E CONCLUSÕES

- Nas concentrações testadas foi possível observar uma inibição de respectivamente, 94% e 95% da viabilidade das células tumorais em 24 e 48 horas de tratamento, enquanto que a viabilidade das células não tumorais não foi significativamente alterada;
- Apenas 8,33% das células conseguiram manter a viabilidade após a retirada do tratamento;
- A inibição da viabilidade das células SiHa após o tratamento com óleo essencial de *E. uniflora*, bem como em conjunto com a cisplatin foi maior que o tratamento exclusivamente com cisplatin;
- O tratamento reduziu de forma significativa a migração celular com apenas 6,74% de fechamento em relação ao controle;
- A capacidade de formação de colônias foi extremamente afetada;
- A capacidade de adesão da linhagem tumoral tratada foi 3 vezes menor em relação ao controle;
- A Citometria de fluxo revelou um expressivo efeito de apoptose tardia em 99,4% das células tumorais tratadas;
- Nossos resultados trazem novas informações sobre a constituição química do óleo essencial obtido a partir de folhas de *E. uniflora* , e ainda sugerem um promissor efeito antitumoral para câncer cervical.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Allured, Illinois, 2009.
- SCHIAVON, D.B.A., SCHUCH, L.F.D., FACCIN, A., GONÇALVES, C.L., VIEIRA, V.S.C., GONÇALVES, H.P. Revisão sistemática de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae): uso popular, composição química e atividade biológica. Science and Animal Health, v.3, 192-208, 2015.
- ANDREOTTI, R., GARCIA, M. V., CUNHA, R. C., BARROS, J. C. Protective action of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil on the control of *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887)(Acari: Ixodidae) in a cattle pen trial. Veterinary Parasitology, v. 197, p. 341–345, 2007.
- ROMAGNOLI, C., BRUNI, R., ANDREOTTI, E., RAI, M. K., VICENTINI, C. B., MARES, D. Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild Indian *Tagetes patula* L. Protoplasma v. 225, p. 57–65, 2005.