

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL METASTÁTICO DE EXTRATOS DE PLANTAS SOBRE ESFERÓIDES DE CÂNCER DE MAMA *IN VITRO*

Giovanna Gonçalves do Nascimento¹

Elaine Conceição de Oliveira²

Aluna do CST: Giovanna G. do Nascimento; e-mail: nasc.giovannag@gmail.com¹

Professora (FATEC Sorocaba); e-mail: elainecoliveira@hotmail.com²

Area do conhecimento: Imunologia; Biologia Celular; Fitoterapia.

Palavras-chave: Câncer de mama. Plantas medicinais. Metástases. Doxorrubicina.

INTRODUÇÃO

A garrafada do Avelós (*Euphorbia tirucalli*) e da Janaúba (*Synadenium grantii*) tem sido utilizada por pessoas com diferentes tipos de enfermidade há muitas décadas, seu látex é conhecido popularmente como o “leite que cura o câncer”. O câncer de mama é a doença maligna mais comum entre as mulheres, a progressão para metástase é a principal causa de morte destas pacientes. Diferentes pessoas relatam que fazem ou já fizeram uso destas garrafadas como tratamento do câncer de mama, sem levar em conta o estágio da doença, ou mesmo se estão fazendo rádio ou quimioterapia. Em um estudo realizado por nosso grupo de pesquisa, observamos que algumas concentrações da garrafada de Avelós e de Janaúba estimularam o crescimento da linhagem de carcinoma pulmonar *in vitro*, podendo ser desastroso para os pacientes que se utilizam deste tipo de recurso. Diante disso, o presente trabalho avaliou a atividade do látex do Avelós e da Janaúba diluído em água em diferentes concentrações (100, 50 e 25%) natural e filtrada sobre as células de câncer de mama (MCF-7) *in vitro*.

OBJETIVOS

Avaliar o potencial metastático das células MCF-7 expostas às garrafadas da avelós e da janaúba *in vitro*.

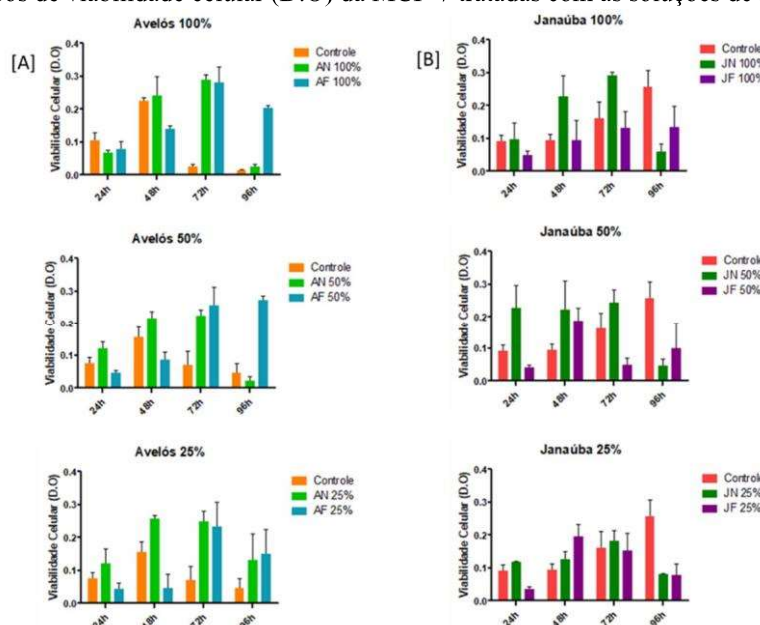
METODOLOGIA

Para a extração do látex foi feito um pequeno corte no caule de ambas as plantas, sendo recolhidas 2 gotas do látex da janaúba e 1 gota do avelós diretamente em tubos Falcon contendo 50mL de água mineral Nestlé filtrada em filtro de seringa 0,22µm (*Sterile*). Em seguida, as soluções permaneceram na geladeira por 24 horas. Parte dessas soluções foram filtradas em filtro de café comum e a outra parte se manteve em sua forma natural não filtrada. Cada uma dessas soluções passou por um processo de diluição onde no final se obteve 3 concentrações (100%, 50% e 25%) as quais foram utilizadas nos demais experimentos. Para os ensaios de viabilidade celular por MTT, as células foram plaqueadas na concentração de 1×10^4 distribuídas em placa de cultura de 96 poços. A placa permaneceu em incubadora de CO₂ até a adesão das células. Em seguida, foi iniciado o tratamento com as diferentes concentrações de avelós e janaúba e a doxorrubicina. As células foram tratadas por 2 dias (1 vez a cada dia) e avaliadas, portanto, no período de 48h. A cada dia, eram retirados 10µL de cada poço e acrescentado o mesmo volume correspondente das diluições de avelós e janaúba. Além dessas soluções, foram testadas 3 concentrações de doxorrubicina: 20µg/mL, 10µg/mL e 5µg/mL, o qual optamos por utilizar apenas Dox 5µg/mL nos demais experimentos subsequentes. Para obtenção dos resultados foi utilizado leitor ELISA para análise de absorbância, em comprimento de onda de 540 nm. A análise morfológica das células foi feita através de imagens obtidas através do microscópio invertido (*Nikon Eclipse TS-100*). Para o ensaio de morte celular, foi realizada análise por citômetro de fluxo - *FACSymphony[™] A5*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com as células tratadas por 96 horas mostram que quando comparadas ao controle, as células vivas caem significativamente em 24h, voltam a crescer nos períodos de 48h e 72h e caem novamente em 96h (Figura 1).

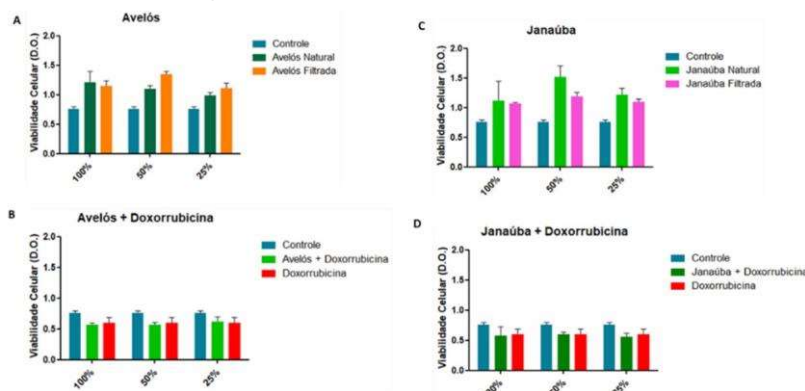
Figura 1 - (A) gráficos de viabilidade celular (D.O) da MCF-7 tratadas com as soluções de Avelós. **(B)** gráficos de viabilidade celular (D.O) da MCF-7 tratadas com as soluções de Janaúba.



Fonte: Autor (2022).

Os resultados obtidos no ensaio utilizando todas as três concentrações das soluções naturais de ambas as plantas, junto ao tratamento com a doxorrubicina 5 μ L mostram que ambas as soluções parecem não interferir de forma negativa ao tratamento da doxorrubicina. Os resultados sugerem que o tratamento de avelós e janaúba em conjunto estimula o crescimento das células MCF-7 *in vitro* quando comparado às células de controle. Apesar disso, quando é adicionada à doxorrubicina o número de células viáveis diminui, obtendo um valor muito próximo da ação da doxorrubicina sozinha (Figura 2).

Figura 2 – (A e C) Efeito dos látex sozinhos de avelós e janaúba nas células de MCF7. **(B e D)** Efeito dos látex juntamente ao tratamento de doxorrubicina.

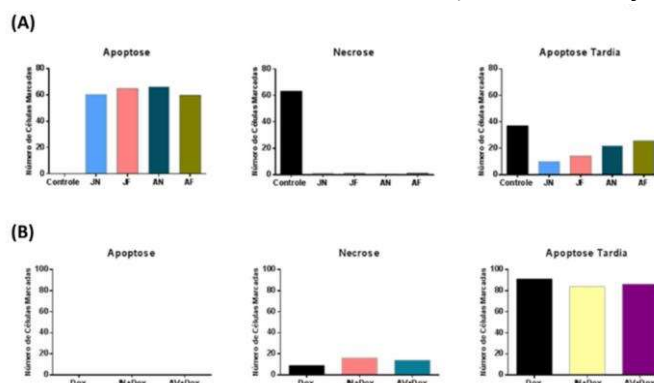


Fonte: Autor (2022).

A análise morfológica das células MCF-7 demonstra que as células não apresentaram mudanças morfológicas com os tratamentos de avelós e janaúba, porém apresentam maiores concentrações de células em suas ilhas. Já os tratamentos com doxorrubicina apresentam células arredondadas, possivelmente corpos apoptóticos. Em relação a morte celular, as células tratadas com janaúba e com avelós apresentam, predominantemente, morte por apoptose (Figura 3A). Já as células que possuem o

tratamento de avelós e janaúba com doxorubicina apresentam dupla marcação, podendo ser entendido como uma morte necrótica, já que há marcação com iodeto de propídio. Já o tratamento com Dox., cerca de 91% tiveram dupla marcação e apenas 9% de necrose, ou seja, todos os 3 tratamentos com doxorubicina não apresentaram nenhuma morte por apoptose (Figura 3B).

Figura 3 – (A) Gráficos mostrando as porcentagens de células marcadas com anexina, iodeto de propídio e marcação dupla nas células tratadas apenas com as soluções de avelós e janaúba. (B) Gráficos mostrando as porcentagens de células marcadas com anexina, iodeto de propídio e marcação dupla nas células tratadas com doxorubicina e as soluções de avelós e janaúba.



Fonte: Autor (2022).

Os principais problemas apresentados por alguns tratamentos são a ineficácia contra determinadas células que desenvolvem mecanismos de resistência, como é o caso da linhagem de adenocarcinoma mamário (MCF7) e apesar dos crescentes aprimoramentos de estudos sobre terapias anticâncer, ainda há uma necessidade de melhoria (GANASSIN, 2016; FAHAD, 2019; COUGHLIN, 2019). Os resultados aqui apresentados demonstram que o avelós e janaúba apresentam efeito de aumento da viabilidade celular da linhagem de MCF-7 quando comparado ao controle inicial. No entanto, não percebemos este efeito em células de carcinoma pulmonar de Lewis (3LL) em um estudo feito por nosso grupo de pesquisa. Tal efeito dos tratamentos sobre as células de MCF-7 pode estar vinculado ao fato de que foi utilizado o composto completo do látex da avelós e janaúba, onde estudos feitos para analisar os efeitos dos compostos químicos de ambos os látex sobre células neoplásicas demonstram grandes potenciais antitumorais de alguns compostos isolados, como é o caso do *Euphol* (LI *et al*, 2022). Ganassin (2016) constatou que, de fato, a doxorubicina em ensaios *in vitro* provoca intensa redução do índice de adesão celular e que o efeito é dependente do tempo de exposição e concentração da Dox. Esses dados são de extrema importância para a saúde dos pacientes que fazem uso desses tratamentos sem acompanhamento médico e comprovação de eficácia. Substâncias como estes látex possuem complexas moléculas químicas que, ao contrário de ajudar a reduzir os tumores, podem piorar o quadro do paciente por ser um estímulo a progressão tumoral, interferindo assim no processo de cura.

CONCLUSÕES

Com base nos principais resultados, conclui-se que as garrafadas de avelós e janaúba estimulam o crescimento das células de adenocarcinoma mamário *in vitro* (MCF-7) e que, ambas as soluções pouco interferem no tratamento com doxorubicina, porém ainda será necessário repetir alguns experimentos a fim de se obter novos resultados para gerar dados estatísticos de confiança. Contudo, também serão necessários mais estudos e pesquisa para determinar o efeito de ambos os látex como terapia anticâncer.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COUGHLIN S. S. (2019) Epidemiology of Breast Cancer in Women. In: Ahmad A. (eds) Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 1152. Springer, Cham. Free

FAHAD U. M. (2019) Breast Cancer: Current Perspectives on the Disease Status. In: Ahmad A. (eds) Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 1152. Springer, Cham.

GANASSIN, R. Nanocápsulas de selol com invólucro de poli(metil vinil-éter coanidrido maléico) conjugado à doxorubicina: Desenvolvimento e avaliação de seu potencial anticancer in vitro e in vivo. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Universidade de Brasília. Brasília, 2016.

LI, L. *et al.* Anti-tumor metabolites from *Synadenium grantii* Hook F. Medicinal Chemistry Research. Vol. 31, p. 666-673, 2022.