

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO DO COMPOSTO FENÓLICO ZINGERONA EM SISTEMA TESTE *IN VITRO* DE CÉLULAS TUMORAIS DE MAMA HUMANA (MCF-7)

Jonatas Alécio dos Prazeres (PIC/UEM), Veronica Elisa Pimenta Vicentini (Orientador), e-mail: jonatasap2008@hotmail.com

Universidade Estadual de Maringá/ Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular/ Maringá, PR.

Genética/Mutagenese

Palavras-chave: adenocarcinoma de mama, gengibre, compostos fenólicos.

Resumo:

Muito tem se estudado, sobre os benefícios promovidos por compostos naturais com relação ao tratamento de doenças. Isso pode ser verificado pelo crescente número de pesquisas e publicações nesta área. Um desses compostos naturais é a Zingerona. A Zingerona é um composto fenólico derivado do *Zingiber officinale*, popularmente conhecido como Gengibre. Esse derivado possui diversos efeitos biológicos, como capacidade antioxidante, lipolítica, radioprotetora, entre outras. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar outro efeito biológico desse composto, a citotoxicidade. O potencial citotóxico foi quantificado em células tumorais de mama humana (MCF-7) pelo método colorimétrico MTT. Para o teste as células foram tratadas com dez concentrações de Zingerona (5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300 e 500 μ M), Controle (DMEM suplementado) e agente indutor de danos (Doxorrubicina), nos tempos de 24, 48 e 72 horas. As absorbâncias foram submetidas à análise estatística e os resultados demonstraram que nenhum dos tempos de exposição e concentrações avaliadas foram citotóxicas. A ausência de citotoxicidade e o alto percentual de viabilidade celular, pode estar relacionado com a sua estrutura química, diferente de outros compostos presentes no gengibre com efeitos diversos e com o fator de transcrição Nrf2. No entanto, mais estudos devem ser desenvolvidos, variando as concentrações, as linhagens celulares e os tipos de ensaios, a fim de esclarecer os mecanismos de ação e a interação deste composto.

Introdução

A utilização de plantas com efeitos biológicos está intrinsecamente relacionada a existência e a evolução da humanidade. O uso de plantas ou compostos naturais com fins medicinais é denominado fitoterapia, uma prática

largamente empregada pelo baixo custo e o fácil acesso a esses compostos (BRAGA, 2011). *Zingiber officinale* é uma erva anual de origem asiática, amplamente empregada na culinária e na medicina popular, possuidora do composto fenólico Zingerona, presente em aproximadamente 9,25% da planta (AHMAD et al., 2015). A Zingerona possui diversos efeitos biológicos sendo o principal o potencial antioxidante (AESCHBACH et al., 1994).

Embora exista vários trabalhos explorando os diversos efeitos biológicos provenientes desse composto, poucos buscam analisar o possível potencial citotóxico da Zingerona. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade citotóxica da Zingerona, pelo teste do MTT em células tumorais de mama humana (MCF-7).

Materiais e métodos

Teste de Citotoxicidade (MTT): Foram utilizadas placas de cultura celular de 96 poços, onde cada poço foi semeado com $0,7 \times 10^4$ células, com exceção dos poços controle sem células (branco). As células foram cultivadas por 24 horas com 100µL de meio de cultura suplementado com 10% de Soro Bovino Fetal (SBF). Após este período, o meio de cultura da placa foi descartado e adicionado 100µL de meio novo contendo os tratamentos: Controle (100µL meio de cultura DMEM suplementado com 10% de SBF e álcool absoluto (0,01%)); Agente citotóxico Doxorrubicina (DOX, 18µM); Zingerona inscrito sobre o CAS 12248-5 (*Sigma-Aldrich*) nas concentrações (5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300 e 500 µM).

As células foram incubadas por 24, 48 e 72 horas. Posteriormente, o meio de cultura foi substituído por 100µL de meio livre de soro acrescido de MTT (0,167mg/mL). A placa foi incubada por 4 horas, e na sequência, o meio contendo MTT foi descartado e aos poços foi adicionado 100µL de dimetilsulfóxido (DMSO), para a diluição dos cristais de formazan. A leitura foi realizada em leitor de microplacas *Labtech Microplate Reader* (Modelo: LT-4000) a 550nm e os dados foram expressos pelas médias das absorbâncias obtidas nas três repetições biológicas. A viabilidade celular média foi expressa como porcentagem em relação às células do grupo Controle (não tratadas) (considerando essas como 100% de células viáveis). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (*oneway ANOVA*), seguido de Teste de Tukey ($\alpha=0,05$, $p<0,05$, $n=3$). Estas análises foram realizadas com auxílio do programa *GrafPad InStat* versão 3.02.

Resultados e Discussão

Os resultados de absorbância, obtidos no teste do MTT com células MCF-7 tratadas com Zingerona (Figura 1), demonstraram que não houve potencial citotóxico. Nenhuma das concentrações e em nenhum dos tempos de tratamento apresentaram viabilidade celular inferior a 90% no teste estatístico, demonstrando assim, que este composto não foi citotóxico para as células MCF-7, nestas condições de tratamento. Já que apenas a viabilidade celular

inferior a 80% é considerada citotóxica. Isso sugere, que não houve redução na atividade da enzima succinato desidrogenase, nas condições apresentadas. Como esperado, o tratamento com Doxorrubicina foi citotóxico em todos os tempos de exposição, o que assegura a fidelidade dos dados obtidos.

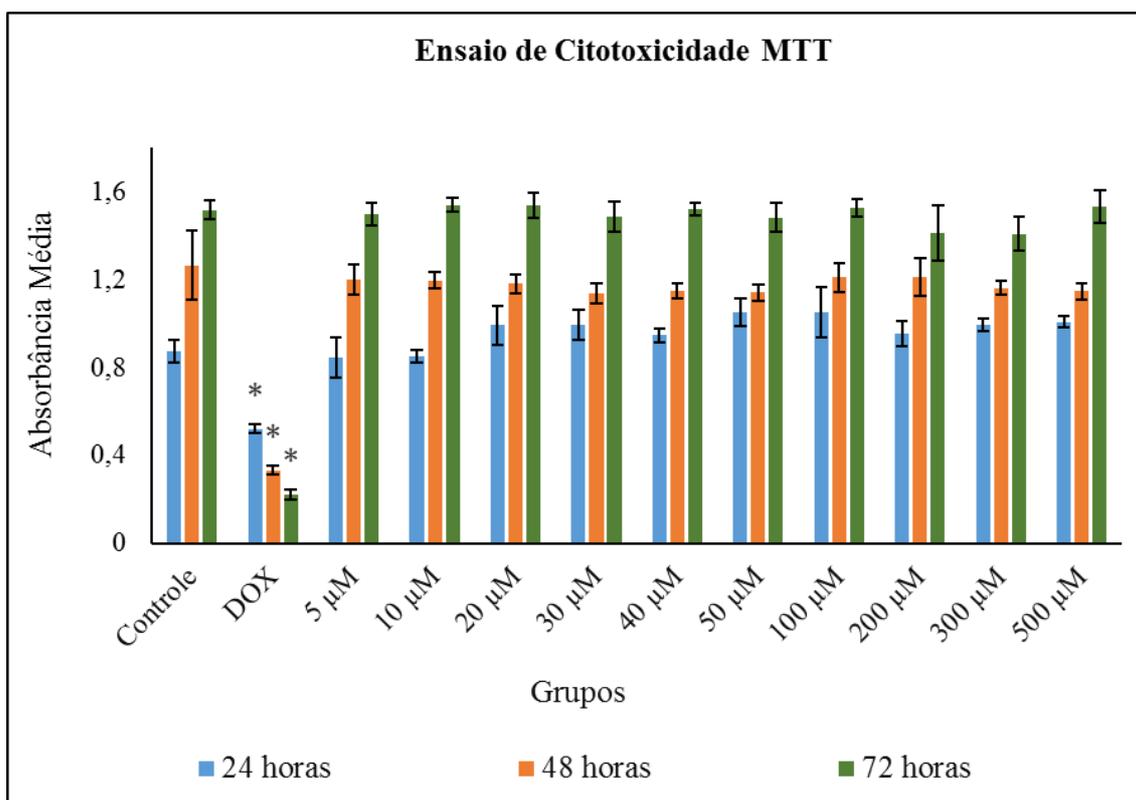


Figura 01 - Médias e desvio padrão das absorbâncias dos tratamentos com Zingerona (5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300 e 500 µM), Doxorrubicina (DOX, 18µM) e Controle, por 24, 48 e 72 horas.

* Diferença estatisticamente significativa em relação ao Controle ($p < 0,001$).

Conclusões

Os resultados obtidos pelo teste de citotoxicidade (MTT), permitem demonstrar que a Zingerona não apresentou atividade citotóxica em células tumorais de mama humana MCF-7, nas dez concentrações avaliadas (5, 10, 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300 e 500 µM), nos tempos de 24, 48 e 72 horas, possivelmente devido as características da sua estrutura química.

No entanto, mais estudos devem ser desenvolvidos, variando as concentrações, as linhagens celulares e os tipos de ensaios, a fim de esclarecer os mecanismos de ação e a interação deste composto na biologia das células, principalmente, quanto ao seu efeito citoprotetor e quimiopreventivo.

Agradecimentos

Agradeço a todos do laboratório de Mutagênese e Monitoramento Ambiental pelo auxílio no desenvolvimento deste trabalho, especialmente a doutoranda Mariana Yoshimoto e a orientadora Prof^a Dr^a Veronica Elisa Pimenta Vicentini.

Referências

AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; SCOTT, C.; MURCIA, A.; BUTLERS, J.; HALLIEWL, B.; ARUOMA, O.I. Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. **Food and Chemical Toxicology**, v. 32, n. 1, p. 31–36, 1994.

AHMAD, B.; REHMAN, M.U.; AMIN, I.; ARIF, A.; RASOOL, S.; BHAT, S.A.; AFZAL, I.; HUSSAIN, I.; BILAL, S.; MIR, M.R.A. Review on Pharmacological Properties of Zingerone (4-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-butanone). **The Scientific World Journal**, v. 2015, p. 1–6, 2015.

BRAGA, C.M. **Histórico da Utilização de Plantas Medicinais**. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia) - Curso de Licenciatura em Biologia a Distância, Universidade de Brasília - (UnB) e Universidade Estadual de Goiás - (UEG), Brasília, 2011.