

## **AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA CITOTOXICIDADE DO MEDICAMENTO ORLISTAT EM CULTURA DE CÉLULAS HUMANAS TUMORAIS DE RIM**

Débora Elisa Antunes de Mendonça; Fabiola Terra Lucio; Veronica Elisa Pimenta Vicentini

e-mail: deeboraelisa@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

### **Genética/Mutagenese**

**Palavras-chave:** xenical, adenocarcinoma renal, ensaio do MTT.

### **Resumo:**

Devido ao estilo de vida moderno a poluição mundial está sendo muito afetada por várias doenças, mas em destaque se encontra uma doença que traz consigo diversas consequências, como Diabetes e Hipertensão, e essa doença é conhecida como obesidade. Caracteriza-se pelo acúmulo e excesso anormal de tecido adiposo no corpo e seu tratamento baseia-se em exercícios físicos, mudanças de hábitos alimentares e o uso de medicamentos. Dentre os medicamentos disponíveis no mercado brasileiro, o Orlistat destaca-se devido a seu mecanismo de base enzimática com ação diferente dos demais. Devido ao grande consumo de Orlistat pela população mundial, a facilidade de sua aquisição e a venda não controlada se faz necessário garantir a saúde e a segurança do paciente ao consumir tal medicamento, e desta forma é fundamental que seja avaliado a sua ação citotóxica. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar os efeitos citotóxicos do Orlistat em linhagem de células humanas de adenocarcinoma renal (786-O), nas concentrações de 0,01; 0,1; 1; 10 e 100 µg/mL usando o ensaio de MTT. De acordo com os resultados obtidos o medicamento Orlistat apresentou efeito citotóxico em células tumorais de rim, nas cinco concentrações avaliadas e nos três tempos testados (24, 48 e 72 horas).

### **Introdução:**

Um dos maiores problemas de saúde da atualidade devido às comorbidades associadas (hipertensão, diabetes e dislipidemias), é a obesidade, doença que vem sendo considerada epidemia mundial, presente tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento, e segundo a Organização Mundial de Saúde, a sua ocorrência reflete a interação entre fatores ambientais e a predisposição genética (SHUKLA; BUNIAK; ARONNE, 2015).

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo e excesso anormal de tecido adiposo no corpo, resultando em problemas de saúde, físicos e psicossociais, e também econômicos. No cerne desse problema, além do consumo excessivo de calorias, estão os fatores genéticos, fisiológicos e ambientais, os quais interagem em graus variados para o desenvolvimento dessa patologia (KWOK; LAM; XU, 2016).

Modificação do estilo de vida, dieta e exercícios são necessários para que ocorra o combate contra a obesidade, e em alguns casos usa-se como adjuvante o tratamento farmacológico (TAYLOR et al., 2013). Existem diversos fármacos indicados para o tratamento de redução de peso, dentre eles encontra-se o Orlistat, também conhecido como Xenical (Roche Laboratories).

O Orlistat é um fármaco que atua inibindo reversivelmente a lipase gástrica e pancreática, o que reduz em aproximadamente 30% a absorção de gordura da dieta, inibindo também a hidrólise lipídica no lúmen destes órgãos, através de ligações covalentes com resíduos ativos de serina da enzima, e como consequência, ocorre o *déficit* calórico, podendo ter efeito positivo na redução e manutenção do peso (TAYLOR et al., 2013). Por ser liberado pela ANVISA em 2012, o Orlistat é um emagrecedor de fácil aquisição, não sendo de venda controlada.

Visando prevenir danos posteriores à saúde dos consumidores, uma vez que drogas podem possuir potencial de citotoxicidade, o objetivo deste trabalho foi avaliar a citotoxicidade de diferentes concentrações do Orlistat em células tumorais de rim (786-O) pelo ensaio do MTT.

## **Materiais e métodos:**

### *Linhagens celulares:*

As células da linhagem 786-O foram cultivadas em frascos de cultura de 25cm<sup>2</sup>, contendo meio DMEM (Gibco), suplementado com 10% de soro bovino fetal (Gibco), e mantidas em estufa com CO<sub>2</sub> a 5% e 37°C.

### *Ensaio de citotoxicidade (MTT):*

O Ensaio do MTT foi realizado de acordo com o protocolo sugerido por Mossmann (1983), com modificações. Foram utilizadas três placas de cultura de 96 poços, nas quais foram semeadas 0,6x10<sup>4</sup> células por poço. Após 24 horas de estabilização, foram realizados os seguintes grupos: 1) Controle negativo, com meio de cultura (DMEM) suplementado com 10% de Soro Bovino Fetal; 2) Agente químico citotóxico, a Doxorubicina (DOX), com concentração de 18µM/mL; 3) Cinco concentrações do medicamento Orlistat (0,01; 0,1; 1; 10 e 100 µg/mL). As três placas foram mantidas em estufa a 37°C, com atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> por 24, 48 e 72 horas. Após estes tempos o tratamento foi descartado e uma solução contendo MTT (0,2mg/mL) foi adicionada, sendo as placas mantidas novamente por mais 4 horas em estufa. Após esse período foi adicionado aos poços 100µL de DMSO e a leitura da absorbância ocorreu no espectrofotômetro a 550nm. Os dados obtidos foram registrados, calculadas a média das absorbâncias de cada grupo e submetidos

à análise de variância (ANOVA) com  $p < 0,05$ , seguido pelo teste de Dunnett ( $\alpha = 0,05$ ). Os dados foram expressos em absorbância.

### Resultados e Discussão:

Os resultados obtidos, por meio do Ensaio de Citotoxicidade do MTT com células 786-O encontram-se no gráfico que segue (Figura 1).

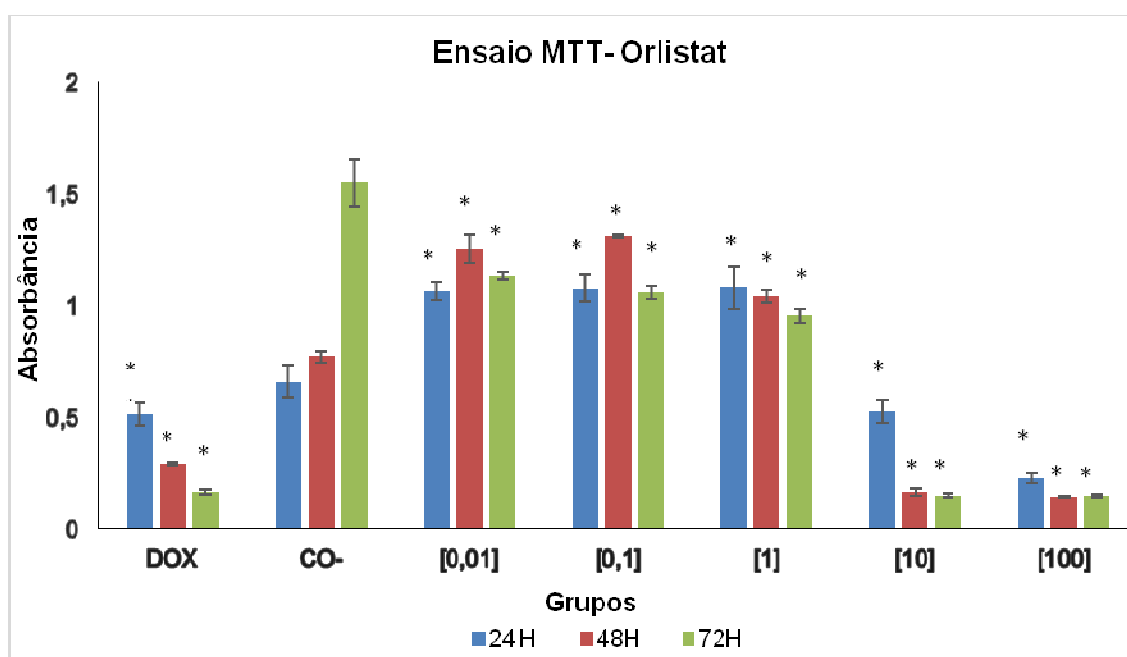


Figura 1 – Absorbância média e desvio padrão dos grupos Controle (Co), tratamento com Doxorubicina (Dox) 18  $\mu\text{M}/\text{mL}$ , e Orlistat nas concentrações de 0,01; 0,1; 1; 10 e 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , por 24, 48 e 72 horas. \* resultado estatisticamente significativo em relação ao Controle ( $p < 0,05$ ).

É possível observar que todos os tratamentos (0,01; 0,1; 1; 10 e 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) com o medicamento Orlistat apresentaram efeitos citotóxicos significativos. Os testes demonstraram que o tratamento com Dox comparado com o grupo Controle (Co) apresentou diferenças estatisticamente significativas, o que demonstra a responsividade das células.

Corroborando com os resultados encontrados Chuang et al. (2011) demonstram que o Orlistat, conhecido pela população brasileira como um fármaco que ajuda no emagrecimento, pode interferir na proliferação de células tumorais HT-29/*tk-luc*, atuando na fase G1 do ciclo celular. Kant et al (2014) relatam que o fármaco Xenical manifesta ação antitumoral e quimiossensibilizante, utilizando camundongos portadores de tumores, pois estes quando em contato com o Orlistat causaram retardo do crescimento tumoral.

### Conclusões:

Analisando os dados obtidos com os ensaios de citotoxicidade e os dados encontrados na literatura, conclui-se que o Orlistat teve efeito citotóxico sobre as células tumorais de rim nos três tempos testados (24, 48 e 72 horas) e nas cinco concentrações utilizadas (0,01; 0,1; 1; 10 e 100 µg/mL), podendo este interferir na viabilidade celular. Porém, outros estudos devem ser realizados para definir os mecanismos de ação do Orlistat em diferentes tipos celulares e assim, obter mais informações sobre a segurança da ingestão deste medicamento pelos seres humanos.

**Agradecimentos:** Ao pessoal do Laboratório de Mutagênese e Monitoramento Ambiental que me auxiliaram na realização do trabalho, em especial à minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Veronica Elisa Pimenta Vicentini e ao CNPq.

### Referências:

CHUANG, H.Y.; CHANG, Y.F.; HWANG, J.J. Antitumor effect of orlistat, a fatty acid synthase inhibitor, is via activation of caspase-3 on human colorectal carcinoma-bearing animal. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 65, p. 286-292, 2011.

KANT, S.; KUMAR, A.; SINGH, S.M. Tumor growth retardation and chemosensitizing action of fatty acid synthase inhibitor orlistat on T cell lymphoma: Implication of reconstituted tumor microenvironment and multidrug resistance phenotype. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1840, p. 294-302, 2014.

KWOK, K.H.M.; LAM, K.S.L.; XU, A. Heterogeneity of white adipose tissue: molecular basis and clinical implications. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 48, n. 3, p. e215, 2016.

SHUKLA, A.P.; BUNIAK, W.I.; ARONNE, L.J. Treatment of obesity in 2015. **Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation and Prevention**, v. 35, n. 2, p. 81-92, 2015.

TAYLOR, P.; TRIGUEROS, L.; PEÑA, S.; UGIDOS, A.V. Food Ingredients as Anti-Obesity Agents: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. n.53, p. 37-41, Julho 2013.