

Pinheiro, R. C.; Oliveira, L. P.; Valadares, M. C. Investigação da atividade antitumoral da *Punica granatum*. In: CONGRESSO DE PESQUISA ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX, 3, 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do XIV Seminário de Iniciação científica**. [ CD-Rom], Goiânia: UFG, 2006, n.p.

## **INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DA *Punica granatum***

**PINHEIRO**, Renata Canuto<sup>1</sup>; **OLIVEIRA**, Ligianne Pereira<sup>2</sup>; **VALADARES**, Marize Campos<sup>3</sup>.

Palavras-chave: *Punica granatum* L.; sobrevida; inibição tumoral; angiogênese

### **1. INTRODUÇÃO**

O interesse de pesquisadores do mundo todo tem se voltado para a área de desenvolvimento de substâncias quimioterápicas com alta seletividade, associada a uma maior atividade e espectro de ação. Muitas dessas substâncias são de origem natural como a *Punica granatum* (Pg), mais conhecida como romãzeira. Estudos demonstram que a Pg além de retardar a oxidação e a síntese de prostaglandina, inibir a proliferação de células tumorais e sua invasão, promover a apoptose, ainda possui um potencial anti-angiogênico (TOI *et al.*, 2003). Assim, nos propomos a estudar a ação do extrato de *Punica granatum* (EPG), tanto da folha quanto do fruto, sobre a sobrevida, a inibição tumoral e inibição da angiogênese, no modelo experimental do TAE.

### **2. METODOLOGIA**

#### **2.1 Avaliação da curva de sobrevida**

Para avaliar a sobrevida utiliza-se camundongos divididos ao acaso em 1 grupo controle e 5 grupos tratados, sendo que cada grupo possui um “n” igual a 9. O experimento inicia-se com a inoculação intraperitoneal do Tumor Ascítico de Erlich em cada animal. Vinte e quatro horas após a inoculação inicia-se o tratamento com o extrato da *Punica granatum*, seja o extrato da folha ou do fruto. Cada grupo recebe uma concentração diferente da droga (12,5, 25, 50 e 100 mg/Kg). O tratamento ocorreu durante 10 dias. Os animais são observados todos os dias, anotando-se o dia da morte de cada um deles, tanto durante o tratamento quanto depois, até que todos os animais morram. No final desse período de observação, estimou-se a probabilidade de sobrevida dos camundongos tratados em relação ao controle.

#### **2.2 Inibição tumoral**

Para avaliar a inibição tumoral, utiliza-se camundongos divididos em 5 grupos, 1 grupo controle e 4 tratados, sendo que cada grupo possui 6 animais. O início da inibição tumoral consiste em inocular intraperitonealmente  $6 \times 10^8$  células do Tumor Ascítico de Erlich em cada animal. Um dia após a inoculação inicia-se o tratamento com o extrato da *Punica granatum*, folha ou do fruto, conforme descrito acima no item 2.1. Após o tratamento (10 dias) com EPG, sacrifica-se o animal por deslocamento cervical e retira-se todo o TAE presente no abdômem do animal, conta-se o número de células tumorais vivas presentes na câmara de Newbauer.

Pinheiro, R. C.; Oliveira, L. P.; Valadares, M. C. Investigação da atividade antitumoral da *Punica granatum*. In: CONGRESSO DE PESQUISA ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX, 3, 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do XIV Seminário de Iniciação científica**. [ CD-Rom], Goiânia: UFG, 2006, n.p.

Ao final deste procedimento avalia-se se houve ou não uma inibição tumoral dos grupos tratados em relação ao controle.

### 2.3 Angiogênese

Os animais utilizados para realização da angiogênese passam pelo mesmo tratamento dos animais usados para a avaliação da inibição tumoral. Um dia após a inoculação inicia-se o tratamento com o extrato da *Punica granatum*, folha ou do fruto, conforme descrito acima no item 2.1. Após o tratamento, os animais são sacrificados, podendo ser tanto por deslocamento cervical quanto por asfixia em éter. Retira-se a pele dos camundongos em toda a região abdominal, estendendo até as costas. Além dos grupos portadores de tumor, também retira-se a pele de animal isento de tumor, para que se faça comparação entre os mesmos. As peles são fotografadas e analisadas quanto ao aumento no número e calibre dos vasos sanguíneos presente na pele dos animais.

## **3 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Os resultados obtidos na avaliação da sobrevida de animais portadores do Tumor Ascítico de Ehrlich e tratados com diferentes doses (12,5; 25; 50; 100 mg/kg/dia) do extrato bruto da folha da Pg, mostraram que as menores doses utilizadas do extrato (12,5 e 25mg/kg/dia) não produziram qualquer proteção nos animais portadores do tumor, assim como a maior dose utilizada (100 mg/kg/dia) também não foi capaz de aumentar a sobrevida dos animais portadores do TAE, quando comparadas aos animais portadores do tumor sem tratamento. Por outro lado, embora ainda um resultado preliminar, a dose de 50mg/kg produziu de forma significativa ( $P < 0,05$ ; Teste de Log-rank, Curva de Kaplan Maier) um aumento da sobrevida dos animais portadores de 23%, quando comparado ao controle. Contudo, nenhuma proteção significativa foi observada com os animais inoculados com o TAE e tratados por 10 dias com as diferentes doses (12,5-100mg/kg) do extrato bruto do fruto da Pg, embora uma tendência a aumento de sobrevida tenha sido observada na dose de 12,5 mg/kg.

Em relação à avaliação do potencial inibidor do crescimento tumoral, o tratamento com os extratos alcoólicos do Pg por 10 dias promoveu uma inibição das células tumorais de Ehrlich na cavidade abdominal dos animais em relação ao grupo controle. Embora com estes ensaios nestas condições experimentais não tenha sido possível estabelecer uma correlação com a sobrevida dos animais portadores e a melhor dose capaz de inibir o crescimento peritoneal, ficou evidente que o EPG tanto da folha quanto do fruto diminui o número de células tumorais na cavidade peritoneal dos animais portadores. Portanto faz-se necessário a realização de novos estudos com o intuito de melhor caracterizar esta resposta frente a dose empregada.

Os dados referentes ao estudo dos efeitos do tratamento por 10 dias com os extratos da folha e do fruto sobre a vascularização da parede peritoneal dos camundongos, demonstraram que os tratamentos empregados reduziram de

Pinheiro, R. C.; Oliveira, L. P.; Valadares, M. C. Investigação da atividade antitumoral da *Punica granatum*. In: CONGRESSO DE PESQUISA ENSINO E EXTENSÃO DA UFG – CONPEEX, 3, 2006, Goiânia. **Anais eletrônicos do XIV Seminário de Iniciação científica**. [ CD-Rom], Goiânia: UFG, 2006, n.p.

forma significativa o padrão de vascularização da parede abdominal reduzindo o número e calibre dos vasos, quando comparado ao grupo controle. Verificamos ainda que os grupos que receberam tratamento apresentam uma vascularização semelhante ao grupo controle. Este estudo corrobora dados da literatura que demonstram a modificação do padrão de vascularização da parede peritoneal no animal portador do tumor, com aumento do número de vasos, geralmente tortuosos e congestionados com a hemoglobina, em comparação ao controle (TEIXEIRA *et al.*, 2005).

#### **4 CONCLUSÃO**

Embora maiores estudos sejam ainda necessários para confirmar os resultados encontrados, o conjunto dos dados produzidos indicam que o tratamento com o EPG por 10 dias possui um importante efeito antitumoral no modelo experimental do Tumor Ascítico de Ehrlich. Estes dados podem estar intimamente relacionados com os fitoconstituintes presentes no extrato desta planta.

#### **5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

TEIXEIRA, A. S.; ARAÚJO, F. A.; FERREIRA, M. A. N. D.; BARCELOS, L. S.; TEIXEIRA, M. M.; ANDRADE, S. P. Angiogenesis and inflammation in skeletal muscle in response to ascites tumor in mice. *Life Sciences*, v. 78, p. 1637-1645, 2005.

TOI, M.; BANDO, H.; RAMACHANDRAN, C.; MELNICK, S. J.; IMAI, A. FIFE, R. S.; CARR, R. E.; OIKAWA, T.; LANSKY E. P.; Preliminary studies on the anti-angiogenic potential of pomegranate fractions *in vitro* and *in vivo*; *Springer Netherlands*, v.6, n.2, p 121-128, junho, 2003.

---

<sup>1</sup> Voluntária de iniciação científica. Faculdade de Farmácia – NEPET-UFG - Núcleo de Estudos e Pesquisas Toxicológicas, [canutorenata@yahoo.com.br](mailto:canutorenata@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Voluntária de iniciação científica. Faculdade de Farmácia – NEPET-UFG - Núcleo de Estudos e Pesquisas Toxicológicas, [ligianne@gmail.com](mailto:ligianne@gmail.com)

<sup>3</sup> Orientadora/Faculdade de Farmácia/UFG, NEPET-UFG, [marizecv@farmacia.ufg.br](mailto:marizecv@farmacia.ufg.br)