

ESTUDO PRELIMINAR DOS EFEITOS DO TRATAMENTO COM AYAHUASCA EM CULTIVO CELULAR DE CÉLULAS TUMORAIS C6 DE GLIOMA DE RATO

EDILA MARIA KICKHÖFEL FERRER¹; FERNANDA G. SEKINE²; JULIANA HOFSTATTER AZAMBUJA³; NATHALIA STARK PEDRA⁴; ELIZANDRA BRAGANHOL⁵; GIANA DE PAULA COGNATO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas, PPGBBIO/CCQFA – edila.ferrer@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, PPGBBIO/CCQFA – fergelati@outlook.com

³Universidade Federal de Pelotas, PPGBBIO/CCQFA – julianahazambuja@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas, PPGBBIO/CCQFA – nathaliastark@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, – elizbraganhol@yahoo.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas, PPGBBIO/CCQFA – giana.cognato@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A Ayahuasca é uma bebida proveniente da cocção do cipó *Banisteriopsis caapi* e das folhas do arbusto *Psychotria viridis* encontrados na floresta Amazônica. Este cipó possui em sua composição alcalóides β-carbolinas inibidores da enzima Monoamina Oxidase (MAO), sendo os de maiores concentrações a harmina, a harmalina e a tetra-hidro-harmina (MCKENNA et al., 1984). A *P. viridis*, possui em sua composição o alcalóide derivado indólico N, N-dimetiltriptamina (DMT) e este tem ação descrita sobre os receptores da serotonina (MCKENNA et al., 1984). Em 2013, SCHENBERG realizou uma revisão bibliográfica utilizando artigos científicos (PubMed), livros, revistas institucionais, conferências e textos online em fontes não profissionais em relação ao conhecimento biomédico sobre Ayahuasca em geral, com enfoque específico nas relações entre a bebida e o tratamento do câncer. O artigo descreve nove casos de pessoas com câncer que declararam ter encontrado algum benefício ou cura após realizarem o tratamento com a bebida.

O Câncer é, mundialmente, uma das principais causas de morte, sendo projetados cerca de 1.685.000 novos casos da doença nos Estados Unidos em 2016 (SIEGEL et al., 2016). No Brasil, doenças cardiovasculares e tumores malignos são as principais causas de morte por doença e, para o biênio 2016-2017, a estimativa de incidência é de cerca de 600 mil casos novos de câncer (INCA, 2015).

A principal causa de mortalidade por câncer em crianças são os tumores cerebrais e estes continuam sendo difíceis de curar mesmo com os avanços na cirurgia e na terapia auxiliar (SINGH et al., 2003). O glioblastoma multiforme (GBM) é uma forma mais comum de tumor cerebral e também um dos mais malignos (ABTA, 2014). Este resistente às estratégias terapêuticas hoje utilizadas, tem uma sobrevida média após o primeiro diagnóstico de, aproximadamente, 12 a 14 meses (WEN et al., 2008). Esta média manteve-se inalterada durante décadas, apesar de múltiplos ensaios clínicos destinados a otimizar a radiação e/ou quimioterapia (STUPP et al., 2007). Portanto, a pesquisa de novos fármacos que impeçam ou desestimulem a atividade tumoral é alvo de inúmeros estudos.

Uma vez que existem relatos de que a Ayahuasca pode curar ou trazer a remissão de alguns casos de tumores cerebrais e que os tratamentos existentes atualmente são muitas vezes paliativos, o objetivo deste trabalho foi realizar uma avaliação preliminar dos efeitos do tratamento com Ayahuasca em cultivo de células tumorais C6 de glioma de ratos.

2. METODOLOGIA

Uma infusão de Ayahuasca foi preparada pelo grupo religioso do Santo Daime na Cidade de Pelotas e doada para realização de pesquisa científica na UFPel. A infusão foi submetida ao processo de lyophilização e armazenada em freezer -80 °C. Todos os experimentos deste projeto serão realizados utilizando o mesmo insumo com dosagens de substâncias ativas sendo feitas periodicamente (PIRES *et al.*, 2010).

A linhagem de glioma C6 obtida da American Type Culture Collection (ATCC) foi cultivada em meio DMEM suplementado com 5% de soro fetal bovino (SFB) em estufa a 37°C com atmosfera umidificada e 5% de CO₂. Após atingirem uma confluência de aproximadamente 90%, as células foram tripesinadas e semeadas em placas de 96 poços (5×10^3 por poço). Após, decorrido um período de incubação por 24h, as células foram tratadas com a Ayahuasca em diferentes concentrações (100, 50, 25, 10, 5 e 1 µL) e diferentes períodos (24, 48 e 72h). Como controles, foram utilizados DMEM a 5% e DMSO, solvente da Ayahuasca.

Ao final de cada período, a viabilidade celular foi determinada pelo teste do MTT. Este método consiste na medida do número de células com a mitocôndria metabolicamente ativa. A absorbância foi determinada em leitor de microplacas a 492 nm. A absorbância é linearmente proporcional ao número de células com as mitocôndrias ativas, indicando quantas células viáveis restaram ao final do tratamento.

Após a análise de viabilidade celular, os resultados foram analisados estatisticamente através de Anova de uma via, seguida pelo teste de Dunnet com $P < 0,05$ sendo considerado significativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nossos resultados demonstram que as maiores concentrações de Ayahuasca (de 10 a 100 µg/mL) foram capazes de diminuir a viabilidade celular das células C6 de ratos após um tempo de exposição de 72 horas (Figura 1). Os resultados com as mesmas concentrações de Ayahuasca em tempos de exposição menores (24 e 48 horas) não apresentaram diferenças significativas ou os testes foram inconclusivos até o presente momento.

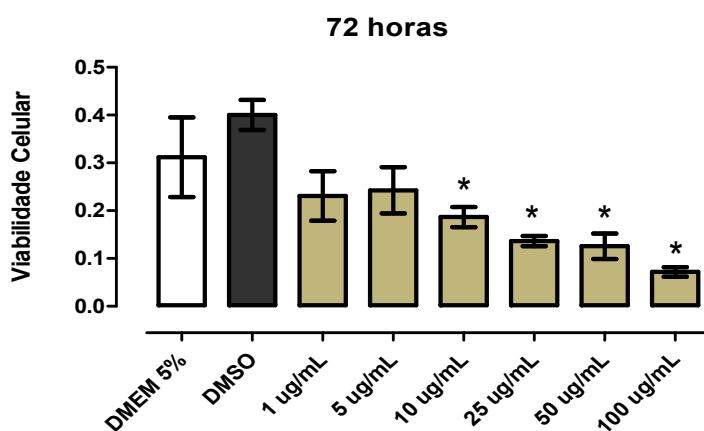


Figura 1: Resultado preliminar do efeito do Ayahuasca sobre a viabilidade celular de cultura de linhagem de glioma de rato C6, após 72h de exposição. *Diferença significativa com relação ao controle para um $P \leq 0,05$. Dados analisados por ANOVA seguido de Tukey.

Nossos achados preliminares corroboram com a literatura, uma vez que as β-carbolinas, componentes principais da infusão de Ayahuasca, são capazes de inibir a viabilidade das células cancerígenas (LI *et al.* 2015; HAMSA; KUTTAN, 2011; CHEN *et al.*, 2004).

4. CONCLUSÕES

Os resultados sugerem que a Ayahuasca induz a morte das células C6 tumorais, provavelmente por apoptose. Entretanto, mais estudos são necessários para confirmar os resultados preliminares aqui apresentados. Como perspectiva, pretendemos testar os efeitos das β-carbolinas harmina, harmalina e tetra-hidro-harmina em células C6, bem como avaliar os efeitos das β-carbolinas e da Ayahuasca em cultivo primário de astrócitos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABTA (American Brain Tumor Association). **Glioblastoma and Malignant Astrocytoma.** Acessado em 2 ago. 2016. Disponível em: <http://www.abta.org/secure/glioblastoma-brochure.pdf>

CHEN, Q.; CHAO, R.; CHEN, H.; HOU, X.; YAN, H.; ZHOU, S.; PENG; W.; XU, A. Antitumor and neurotoxic effects of novel harmine derivatives and structure-activity relationship analysis. **Int. J. Cancer:** 114, 675–682, 2004.

HAMSA, T.P.; KUTTAN, G. Harmine Activates Intrinsic and Extrinsic Pathways of Apoptosis in B16F-10 Melanoma. **Chinese Medicine**, 6, 11, 2011.

INCA (Instituto Nacional de Câncer). **Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva** – Rio de Janeiro: INCA, 2015.

LI, S.; WANG, A.; GU, F.; WANG, Z.; TIAN, C.; QIAN, Z.; TANG, L.; GU, Y. Novel harmine derivatives for tumor targeted therapy. **Oncotarget**, Vol. 6, No.11, 2015.

MCKENNA D; TOWERS G.H.N.; ABBOTT F.S. Monoamine oxidase inhibitors in South American hallucinogenic plants: tryptamine and h-caroline constituents of ayahuasca. **J Ethnopharmacol**, 10:195–223, 1984.

SCHENBERG, E. E. Ayahuasca and cancer treatment. **SAGE Open Medicine**, 2013.

PIRES, A.P.S.; OLIVEIRA, C.D.R.; YONAMINE, M. AYAHUASCA: Uma revisão dos aspectos farmacológicos e toxicológicos. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.** 31(1):15-23, 2010.

SIEGEL RL, MILLER KD, JEMAL A. Cancer statistics. **CA Cancer J Clin.**; 66:7-30, 2016.

SINGH S.K.; CLARKE I.D.; TERASAKI M.; BONN V.E; HAWKINS C.; SQUIRE J.; DIRKS P.B. Identification of a Cancer Stem Cell in Human Brain Tumors. **Cancer Research**. 63, 5821–5828, 2003.

STUPP R, HEGI ME, GILBERT MR, CHAKRAVARTI A: Chemotherapy in malignant glioma: standard of care and future directions. **J Clin Oncol.** 25: 4127–36, 2007.

WEN, P.Y.; KESARI, S. Malignant gliomas in adults. **N Engl J Med.** 359: 492-507, 2008.