

AYAHUASCA E β -CARBOLINA HARMINA EXIBEM EFEITO CITOTÓXICO SOBRE LINHAGEM DE GLIOMA

FERNANDA GELATI SEKINE¹; NATHALIA STARK PEDRA²; NATÁLIA PONTES
BONA³; FRANCIELI MORO STEFANELLO⁴; ROSELIA MARIA SPANEVELLO⁵;
GIANA de PAULA COGNATO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – fergelati@outlook.com

²Universidade Federal de Pelotas – nathaliastark@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – natinhabona@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – giana.cognato@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A ayahuasca (AYA) é uma bebida de origem ameríndia de propriedades psicotrópicas utilizada em rituais xamânicos religiosos e medicinais e é feita a partir da cocção de plantas nativas da floresta amazônica o cipó *Banisteriopsis caapi* (cipó-mariri) e das folhas do arbusto *Psychotria viridis* (chacrona) (MCKENNA; TOWERS; ABBOT, 1984).

O cipó-mariri tem em sua composição alcaloides β -carbolinas destacando-se a harmina, harmalina e a tetrahidroharmina. Segundo SCHENBERG, 2013 esses compostos tem propriedades inibitórias da Monoamina Oxidase (MAO), enzima que possui atividade aumentada em tumores cerebrais, tais como o Glioma (GABILOONDO, et al 2008).

O Glioblastoma multiforme consiste em um dos mais comuns e agressivos tumores cerebrais primários. O tratamento para esse tipo de tumor traz uma sobrevida de até 14 meses ao paciente (BUTOWSKI et al, 2006). Portanto, a busca por novas modalidades terapêuticas capazes de inibir o desenvolvimento deste tumor é extremamente necessária.

2. METODOLOGIA

2.1 Cultivo de linhagem celular

A linhagem de glioma de rato C6 foi obtida da American Type Culture Collection (ATCC) e mantidas em meio DMEM suplementado com 5% de soro fetal bovino (SFB). Após atingirem uma confluência de 90%, as células foram semeadas em uma placa de 96 poços com densidade de 5×10^3 células por poço e mantidas em estufa umidificada a 37°C com 5% de CO₂.

2.3 Ayahuasca

A ayahuasca foi preparada e doada pela igreja de Santo Daime de Porto Alegre –RS, logo em seguida foi caracterizada, liofilizada e armazenada a – 80°C. A AYA foi diluída em DMSO 0,5% e então utilizada para tratamento das células de glioma de rato C6 nas concentrações de 2,5, 5, 10, 25, 50 e 100 μ g/mL durante 72h.

2.3 Harmina

A harmina foi adquirida através da Sigma-Aldrich Corporation, diluída em DMSO 0,5% e então utilizada nas concentrações de 2,5, 5, 10, 25, 50 e 100 μ g/mL para o tratamento de 72h em células de glioma de ratos C6.

2.5 Teste de citotoxicidade celular

A viabilidade celular da linhagem de glioma C6 exposta à Ayahuasca, harmina ou veículo foi determinada mediante o teste colorimétrico de 3-(4,5-

dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina (MTT). O ensaio baseia-se na avaliação da atividade mitocondrial de células viáveis pela redução do sal MTT à cristais de formazan, o qual foi eluido em DMSO e os valores da absorbância foram determinados a 492 nm.

2.5 Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando o programa GraphPadPrism 5, e analisados por ANOVA de uma via e post-hoc de Tukey. Os dados foram considerados significativos quando $P<0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como pode ser observado nos gráficos abaixo tanto a ayahuasca quanto a harmina tiveram efeito citotóxico nas células de glioma de rato C6 tratadas em todas as concentrações testadas.

A ayahuasca teve uma diminuição de 11% da viabilidade celular na menor concentração de 2,5 $\mu\text{g/mL}$, sendo que na maior concentração essa diminuição da viabilidade celular alcançou até 75% na maior concentração 100 $\mu\text{g/mL}$.

Já a harmina também tem um efeito citotóxico em células de glioma de rato C6 considerado significativo, tendo diminuído de 19% na menor concentração (2,5 $\mu\text{g/mL}$) chegando até 70% na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$, demonstrando a importância dessa β -carbolina no efeito citotóxico da ayahuasca.

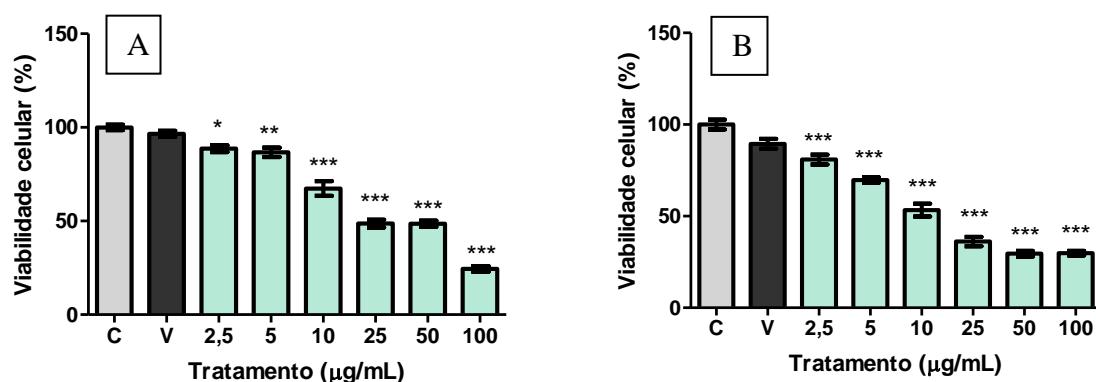


Figura 1: Avaliação da viabilidade celular de linhagem de glioma de rato C6 após 72h de tratamento; A) tratamento feito com ayahuasca; B) tratamento com harmina. Dados expressos como média±erro padrão, analisados por ANOVA seguido de post-hoc de Tukey ($P<0,05$). ***diferença significativa quando comparado ao grupo controle C ($P<0.0001$).

Estudos feitos por JIMÉNEZ et al., 2008 demonstraram a capacidade da harmina de provocar citotoxicidade em células tumorais de linhagem celular de Carcinoma Cervical (C33A), sendo que em células não transformadas (fibroblastos C33A) não apresentaram citotoxicidade.

Também podemos citar a capacidade de inibição da angiogênese tumoral que a harmina apresenta (HAMSA e KUTTAN, 2010). Esse achado leva a crer na importância desse alcaloide no estudo de inibição de tumores.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesse trabalho demonstram que a ayahuasca e a β -carbolina harmina isolada tiveram um importante efeito citotóxico em linhagem celular de glioma de rato C6 de maneira concentração-dependente. Neste contexto, considerando a existência de um arsenal terapêutico insuficiente para o tratamento do GBM, a ayahuasca e seus componentes, como a harmina, demonstram serem ferramentas promissoras para a busca e desenvolvimento de

novas modalidades terapêuticas capazes de inibir o desenvolvimento de tumores cerebrais malignos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUTOWSKI, Nicholas A.; SNEED, Patricia K.; CHANG, Susan M. Diagnosis and treatment of recurrent high-grade astrocytoma. **Journal of Clinical Oncology**, v. 24, n. 8, p. 1273-1280, 2006.

GABILONDO, Ane M. et al. Monoamine oxidase B activity is increased in human gliomas. **Neurochemistry international**, v. 52, n. 1-2, p. 230-234, 2008.

HAMSA, T. P.; KUTTAN, Girija. Harmine inhibits tumour specific neo-vessel formation by regulating VEGF, MMP, TIMP and pro-inflammatory mediators both in vivo and in vitro. **European journal of pharmacology**, v. 649, n. 1-3, p. 64-73, 2010.

JIMENEZ, Judith et al. Cytotoxicity of the β -carboline alkaloids harmine and harmaline in human cell assays in vitro. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 60, n. 4-5, p. 381-389, 2008.

MCKENNA, Dennis J.; TOWERS, GH Neil; ABBOTT, F. Monoamine oxidase inhibitors in South American hallucinogenic plants: tryptamine and β -carboline constituents of ayahuasca. **Journal of ethnopharmacology**, v. 10, n. 2, p. 195-223, 1984.

SCHENBERG, Eduardo E. Ayahuasca and cancer treatment. **SAGE open medicine**, v. 1, p. 2050312113508389, 2013.