

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS – CSHNB
CURSO LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

MARÍLIA DAS DORES SANTOS BORGES

**EFEITO DO TRATAMENTO DE ELEVADAS DOSES DE
VITAMINA C EM ASSOCIAÇÃO COM O QUIMIOTERÁPICO
CISPLATINA EM UM MODELO VEGETAL COM *Allium cepa* L.**

PICOS-PI

2016

MARÍLIA DAS DORES SANTOS BORGES

**EFEITO DO TRATAMENTO DE ELEVADAS DOSES DE
VITAMINA C EM ASSOCIAÇÃO COM O QUIMIOTERÁPICO
CISPLATINA EM UM MODELO VEGETAL COM *Allium cepa* L.**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado ao curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Cavalcanti Carneiro da Silva.

PICOS-PI

2016

FICHA CATALOGRÁFICA
Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca José Albano de Macêdo

B732e Borges, Marília das Dores Santos

Efeito do tratamento de elevadas doses de vitamina C em associação com o quimioterápico cisplatina em um modelo vegetal com *Allium cepa* L. / Marília das Dores Santos Borges – 2016.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol. (28 f.)

Monografia(Licenciatura em Ciências Biológicas)- Universidade Federal do Piauí, Picos, 2016.

Orientadora: Prof. Dr. Felipe Cavalcanti da Silva Carneiro

1. Citotoxicidade. 2. Quimioterapia-Vitamina C. 3. Mutagenicidade. I. Título.

CDD 571.6

MARÍLIA DAS DORES SANTOS BORGES

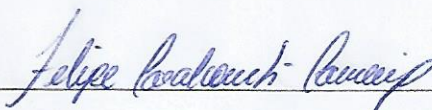
**EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE ALTAS DOSES DE VITAMINAS C
COMBINADA COM QUIMIOTERÁPICO CISPLATINA EM UM
MODELO VEGETAL COM *ALLIUM CEPA* L.**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado ao curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Felipe Cavalcanti Carneiro da Silva.

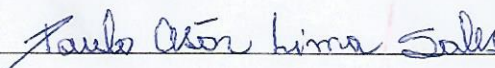
Aprovado em 14 de março de 2016.

BANCA EXAMINADORA



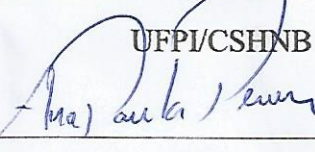
Orientador: Prof. Dr. Felipe Cavalcanti Carneiro

UFPI/CSHNB



Primeiro Examinador: Prof. Me. Paulo César Lima Sales

UFPI/CSHNB



Segunda Examinadora: Prof. Dra. Ana Paula Peron

UFPI/CSHNB

A Deus, luz do meu caminho, minha força, meu refúgio nas horas de angústia e a todos os anjos que tens colocado em vida aos quais chamo de amigos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a cima de tudo a Deus, a Ti Senhor toda glória, louvor e honra para sempre.

Aos meus amados pais Francisco Valdivino Borges e Antônia Joana dos Santos Borges pelo apoio constante, ensinamentos, por terem me concedido a oportunidade dos estudos e por terem me dado como irmãos amigos Valdivino, Valter e Marisa e formar a família que somos unidos em Cristo.

Ao Prof. Dr. Felipe Cavalcanti Carneiro, pela disponibilidade, atenção e orientação deste trabalho, ao Prof. Dr. João Marcelo Castro pelas análises estatísticas dos dados, e aos professores membros da banca examinadora: Prof. Me. Paulo César Lima Sales e a Prof.^a Dr.^a Ana Paula Peron pela disponibilidade e contribuições feitas ao trabalho, como também a todos os meus professores, cada um com sua parcela de contribuição na minha formação. Agradeço destes aqueles da Unidade Escolar Joaquin Rodrigues de Sousa Martins, bem como aos da Universidade Federal do Piauí, *Campus* de Picos.

Agradeço ao meu amigo Kelcion Martins e a minha grande amiga e companheira durante todo o curso Mariely Bezerra, pela força e preocupação nos momentos de desespero.

E aos demais queridos amigos de universidade, Ana Paula, Aparecida, Amanda, Clarissa, Cleidson, Edeilma, Flávia, Marcelo, Teresa, Tião e Seu Manuel, pelos momentos de alegria e descontração; em especial a uma grande amiga, deste os tempos de colégio Maria Rita Cândido onde nossa amizade só cresceu e os laços foram ficando mais fortes. Agradeço pela amizade verdadeira de todos.

Ao Victor, pessoa maravilhosa que conheci neste percurso de elaboração deste trabalho e aos meus amigos de longa data Edson Leal, Rafael Alves e Ihorranna Maia que, estão sempre presente em todos os momentos.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Martin Luther King)

RESUMO

O ácido ascórbico comumente chamado de vitamina C possui propriedades antioxidantes como também podem atuar como pró-oxidantes. Devido a essas propriedades o uso clínico do ácido ascórbico é controverso frente aos quimioterápicos por poderem ter efeitos antagônicos. Assim objetivou neste trabalho avaliar o efeito do quimioterápico Cisplatina isolada e conjugado com a vitamina C em altas doses, através da avaliação citotóxica e mutagênica. Essa avaliação ocorreu por meio das células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* L, onde foram administradas vitamina C na concentração de 1mg/ml associado a diferentes doses de Cisplatina (1 µg/ml, 10 µg/ml e 50 µg/ml) nos tempos de exposição de 24, 48 e 72 horas. A partir dos resultados obtidos verificou-se que todas as concentrações definidas apresentaram efeitos citotóxicos em todos os tempos de exposição quando analisados em relação ao controle negativo, porém os resultados obtidos da vitamina C conjugada com a cisplatina observou-se que a vitamina C permitiu de forma significativa um maior percentual de divisão celular quando comparadas as células tratadas somente com a cisplatina. Em relação à ação mutagênica a vitamina C conjugada com a cisplatina apresentou maior percentual de alterações de fuso mitótico. Estes resultados demonstram a necessidade de mais estudos de avaliação, em diferentes sistemas testes, para se determinar qual a concentração ideal de vitamina C que deva ser administrado com a cisplatina, para que se verifique um aumento na eficácia do tratamento.

Palavras-chave: Quimioterapia. Cisplatina. Vitamina C. Citotoxicidade. Mutagenicidade.

ABSTRACT

The ascorbic acid, commonly known as vitamin C has antioxidant properties and may also act as pro-oxidant. Due to these properties, the clinical use of ascorbic acid is controversial front of chemotherapy because they can have antagonistic effects. So this study aimed to evaluate the effect of Cisplatin chemotherapy alone and in conjunction with high doses of vitamin C for cytotoxicity and mutagenicity evaluation. For that, meristematic cells of *Allium cepa L.* were submitted to high doses of vitamin C at a concentration of 1mg / ml associated to different doses of cisplatin (1 μg / ml, 10 μg / ml and 50 μg / ml) in the exposure time of 24, 48 and 72 hours. Our results show that all concentrations presented cytotoxic effects in all exposure times when compared to negative control, but the results of vitamin C combined with cisplatin showed greater percentage of cell division compared to cells treated only with cisplatin. In relation to mutagenicity, vitamin C combined with cisplatin showed a higher percentage of mitotic spindle changes. These results demonstrate the need for more evaluation studies in different test systems, to determine the optimal concentration of vitamin C to be administered with cisplatin, for increasing the efficiency of chemotherapeutic treatment.

Keywords: Chemotherapy. Cisplatin. Vitamin C. Cytotoxicity. Mutagenicity.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Concentrações de Cisplatina e Vitamina C testadas de forma isolada e conjugada em <i>Allium cepa</i>	18
TABELA 2 – Citotoxicidade e mutagenicidade da cisplatina isolada e em conjugado com vitamina C em <i>Allium cepa</i>	19

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA - Ácido ascórbico

AB - Aberrações cromossômicas

CDPP- Cis-diaminidichoroplatinum (II)

DHA- Ácido dehidroascórbico

DNA- Ácido desoxirribonucleico

EROs – Espécies reativas de oxigênio

FDA - Food and Drug Administration

IM - Índice mitótico

IPCS - Programa Internacional de Segurança Química

IV – Intravenosa

MN - Micronúcleos

OMS - Organização Mundial de Saúde

RL – Radicais

RNA - Ácido ribonucleico

TE - Tempo de exposição

UNEP - Programa Ambiental das Nações Unidas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 CISPLATINA	13
2.2 VITAMINA C.....	15
4 OBJETIVOS	17
4.1 Objetivo geral	17
4.2 Objetivos específicos.....	18
5 METODOLOGIA.....	18
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
7 CONCLUSÃO.....	22
REFERÊNCIAS.....	23

1 INTRODUÇÃO

O ácido ascórbico, comumente chamada vitamina C é um micronutriente essencial para humanos, sendo bem conhecido por sua atividade antioxidante, destruindo radicais livres que levam ao dano oxidativo de importantes macromoléculas tais como o DNA, lipídios e proteínas (GOLDE, 2003; CARR e FREI, 1999).

Destes 1952 o ácido ascórbico tem sido proposto como um agente quimioterápico (GONZÁLEZ, 2005). No entanto foi em 1976, que estudos mostraram que o tratamento exclusivo de vitamina C também poderia ser terapêutica, aumentando a sobrevida de pacientes com câncer em estágio avançado quando submetidos a altas doses de vitamina C intravenosa (IV) (CAMERON e PAULING,1976). Embora, mais tarde, diferentes testes clínicos controlados falharam em mostrar benefícios com exclusiva utilização da vitamina C em pacientes com câncer quando administrados oralmente (CREAGAN et al., 1979; MOERTEL et al., 1985; PARROW et al., 2013).

A biodisponibilidade de ascorbato depende enormemente da rota de administração, visto que os níveis de ascorbato nos tecidos e plasma sanguíneos são fortemente controlados quando administrados oralmente (PARROW et al., 2013). Estudos mostram que doses terapêuticas de ascorbato não são atingidas quando administradas oralmente (CHEN et al., 2007). Por outro lado, altas doses de vitamina C por via intravenosa IV se mostraram eficientes como agente antitumoral e, é parte de terapias complementares para melhorar a qualidade de vida, protegendo contra efeitos secundários da quimioterapia, aumentando a defesa do sistema imunitário e induzindo efeitos anti-prolifertivos (VOLLBRACHT et al., 2011).

Apesar de inúmeros estudos com cultura de células e linfócitos humanos isolados mostrarem aumento na formação de dano oxidativo ao DNA, mostrando um efeito pro-oxidante da vitamina C (SINGH, 1997; ANDERSON D et al.,1994; CARR e FREI, 1999), acredita-se que estes, sejam artefatos de culturas de células (CLEMENT et al., 2001). O ácido ascórbico (AA) não é diretamente transportado pela maioria das células e a presença de metais tais como o ferro e cobre comuns em culturas de células permite que o AA reduza esses íons metálicos, causando um efeito citotóxico pela liberação de peróxido de hidrogênio (WILSON et al., 2014).

A administração de altas doses por via intravenosa ou intraperitoneal de vitamina C é atualmente debatida pela comunidade oncológica, visto que dados pré-clínicos em modelos

animais embora mostrem uma redução significativa do crescimento do tumor, revelem que a utilização farmacológica de vitamina C, como um agente único, não é curativa (CASCIARI et al., 2005; CHEN et al., 2008; DU et al., 2010; POLLARD et al., 2010; VOLLBRACHT et al., 2011). Enfatizando que a tendência para o futuro pode estar em uma combinação de vitamina C e quimioterápicos (HOFFER et al., 2008).

Os medicamentos sintéticos possuem grupos de compostos ativos farmacologicamente que atuam no organismo, por isso se faz necessário à avaliação das potencialidades terapêuticas tóxicas para a formulação de uma estratégia para seu uso (PERON et al., 2008).

Os bioensaios vegetais com *Allium cepa* é um eficiente teste por ter baixo custo e fácil manipulação de ensaio e também permitir a avaliação de três efeitos diferentes que são a citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade (LUTTERBECK et al., 2014). Outro ponto é à espécie *Allium cepa* possuir alta sensibilidade para detectar possíveis efeitos tóxicos e excelente correlação com outros sistemas-testes, principalmente com os de mamíferos (ARRAES; LONGHIN, 2012).

Este método de avaliação de alterações cromossômicas em células meristemáticas de raízes de *Allium cepa* é validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS) com o apoio da Organização Mundial de Saúde (OMS) e do Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) para o estudo de monitoramento (BAGATINI et al., 2007).

A vitamina C é bem conhecida por sua atividade antioxidante, mas sua proposta como agente pro-oxidante administrado em elevadas doses é bastante controversa. Nesse sentido, o presente projeto pretende analisar o efeito de vitamina C como terapia adjuvante combinada com o quimioterápico Cisplatina em modelos vegetais com *Allium cepa*.

Neste contexto, objetivou-se avaliar por meio das células meristemáticas de raízes de *A. cepa* a citotoxicidade e mutagenicidade do agente antineoplásico cisplatina em associação com a vitamina C, através da análise do índice mitótico e do uso individual da cisplatina em diferentes doses.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Cisplatina

A cisplatina (Cis-diamminedichloroplatinum (II), CDDP) é um eficiente medicamento quimioterápico que pode ser usado tanto em adultos como em crianças no tratamento de câncer em estágio avançado (HYPPOLITO et al., 2003).

Essa droga pertence à classe dos agentes antineoplásicos dos complexos de platina, sendo constituída por um complexo de metal pesado, com dois átomos de cloro e duas moléculas de amônia na posição cis (ANTUNES; BIANCHI, 2004), sendo frequentemente utilizada em combinação com outro fármaco como tratamento de primeira escolha contra vários tipos de tumores sólidos (LEITE, 2010).

O uso da cisplatina, como um agente antiproliferante foi descoberta ocasionalmente por Rosemberg e colaboradores em meados dos anos de 1960, seus estudos com culturas de bactéria *Escherichia Coli*, constataram que alguns complexos de platina inibiam a divisão celular; a partir de então sintetizou e aplicou em camundongos com o tumor sarcoma 180, e em 36 dias após observou-se a regressão total do tumor (NOVAIS, 2009). Esta descoberta, ao acaso das suas propriedades antitumorais foi um marco histórico para a química medicinal inorgânica que levou a um grande interesse por complexos metálicos com propriedades farmacológicas (BERALDO, 2011).

Mesmo após sua descoberta anticancerígena, Aletras et al. (1995), citado por Ferreira (2011), afirmam que passou-se mais de 10 anos para que fosse aprovada pela agência americana Food and Drug Administration (FDA) para sua comercialização no mercado. Somente por volta de 1980 que a cisplatina foi introduzida como um fármaco anticancerígeno, sendo eficaz no tratamento de diversos tipos de câncer (CARVALHO, 2009). Inicialmente era indicado apenas em pacientes com câncer terminal, posteriormente passou a ser indicado no tratamento de tumores localizados como nos casos dos cânceres de testículos e de ovários (FONTES; ALMEIDA, 1996). No caso do tratamento de câncer de testículos têm sido intensamente eficiente como afirma Silva (2014), citado por Jung e Lippard (2007), apresentando índices de cura que pode chegar aos 100% quando o tratamento é iniciado logo depois do diagnóstico do tumor.

Dentro de outras neoplasias tratadas com cisplatina estão os melanomas, osteossarcoma, de mama e cérvix, pulmão, cabeça, esôfago, estômago os linfomas (GUERRA, et al., 2005).

Porém segundo Peres e Cunha (2013, p.332), “o uso da cisplatina é limitado por resistência das células tumorais e por graves efeitos colaterais, tais como nefrotoxicidade, ortotoxicidade, neurotoxicidade e alto poder emetogênico”.

Os mecanismos de resistência, ao qual interferem na eficiência do seu índice terapêutico, não estão completamente desvendados (VILLELA, 2015). Porém a literatura sugere três mecanismos possíveis de resistência para a cisplatina que são: redução do acúmulo intracelular, aumento da inativação intracelular da droga e o aumento da eficiência do reparo do DNA (BASTIANI, 2012).

O uso da Cisplatina é indicado por via intraperitoneal ou intravenosa; seus compostos vão reagir com as membranas celulares, proteínas, RNA, mas o principal alvo da cisplatina é a molécula de DNA (ANTUNES; BIANCHI, 2004). De acordo com Freitas et al. (2009), que afirma que seu mecanismo de ação antineoplásico está relacionado à inibição seletiva e persistente da síntese do DNA.

O sítio de ligação da cisplatina com o DNA ocorre nos átomos de nitrogênio das bases, sendo que a interação mais estável é com o nitrogênio da guanina (PEREIRA, 2014). A forma de como a cisplatina entra na célula não é clara, mas estudos evidenciam que o principal mecanismo é a difusão passiva e, também, há indícios que outro mecanismo de entrada está relacionado a transportadores de cobre (NOVAIS, 2009).

Segundo Leite (2010) a cisplatina exerce seus efeitos antitumorais na célula, quando ocorre a formação de metabólitos ativos, o diaquo-diamino-platino e o mono-cloro-aquo-diaminoplatino, que são capazes de alquilar bases púricas e pirimídicas do DNA. Ainda de acordo como o autor esses metabólitos são formados após a hidrólise intracelular da molécula de CDDP onde os íons de cloreto da molécula são deslocados formando complexos carregados positivamente, a espécie ativa da CDDP, que vão interagir com sítios nucleofílicos de DNA, RNA e proteínas.

Sua propriedade citotóxica se deve a sua habilidade de formar ligações cruzadas (“Cross-Link”) do tipo interfilamentar e intrafilamentar no DNA (CASTRO, 2010). Esses dois tipos de ligação causam lesões no DNA, mas as provocadas pelas ligações cruzadas interfilamentares (“InterStrand Cross-Link – ISC”) essas são mais citotóxicas, mesmo que a reparação das bases seja mais fácil, devido a ligação de um único filamento do DNA, porém

exigem mecanismos muito mais complexos de reparação, isso também ocorre nos agentes alquilantes bifuncionais (ALMEIDA et al., 2004; CASTRO, 2010).

Depois de entrar na célula, e sofrer modificações químicas a droga irá ligar-se ao DNA provocando alterações conformacionais que afetam os processos de replicação e transcrição, e provocam torções da fita de DNA dificultando a ação das enzimas de reparo e o remodelamento da cromatina, em consequência leva a morte celular por apoptose (CAMARGO; SCHOR, 1999).

Estudos têm mostrado que a cisplatina não atinge apenas o DNA nuclear, mas também pode fazer efeito de ligação com o DNA mitocondrial (PERES; CUNHA, 2013).

2.2 VITAMINA C

De acordo com Pauling (1988), citado por Aranha (2000), a vitamina C apresenta-se de duas formas (ácido ascórbico e ácido dehidroascórbico), devido as suas reações de oxido-redução, quando se oxida, ocorre à doação de dois átomos de hidrogênio para agentes oxidantes e então irá formar o ácido dehidroascórbico (DHA) e a forma reduzida que é quando recebe dois átomos de hidrogênio, formando novamente o ácido ascórbico (AA). Esta situação é reversível, pois no interior do organismo essas transformações ocorrem normalmente permitindo que uma de suas substâncias possa ser transformada na outra (MANELA-AZULAY, 2003). Ambas as formas apresentam atividades como vitaminas, no entanto os isômeros formados a partir do seu produto de oxidação inicial praticamente não apresentam atividades vitamínicas (FORNARO; COICHEV, 1997). A forma oxidada DHA, entra na célula por meio de transporte facilitado através dos transportadores de glicose (GLUTs) que será então reduzido intracelularmente e retido como ácido ascórbico (NAIDU, 2003).

A atividade da vitamina C como antioxidante ou pró oxidante vai depender da influência do potencial de oxidação e redução no meio celular, da ausência ou presença de metais de transição, e a concentração do ascorbato, sendo este último fator referido importante em terapia, quando se pretende avaliar a influencia da ação da vitamina C devido ser facilmente manipulado e controlado (MARQUES, 2013). Uma vez que os seres humanos e outros grupos de seres vivos não serem capazes de sintetizar essa vitamina, por não possuir a enzima L- gulonalactona oxidase; acredita-se que os seres vivos que não tem tal capacidade esteja relacionado com a finalidade de aumentar suas reservas de glicose, que é precursor do ácido ascórbico no organismo (ROSA; GODOY et al., 2006). Por isso que os seres humanos devem obter essa vitamina através de fontes naturais ou pela sua forma sintética, sendo que

tanto o ácido ascórbico natural ou sintético é quimicamente idêntico, e não existem diferenças conhecidas nas suas atividades biológicas ou biodisponibilidade (NAIDU, 2003).

Muito se sabe que a vitamina C é um micronutriente envolvido em múltiplas funções biológicas, porém há pouca informação sobre a fisiologia da vitamina C no câncer, alguns estudos têm verificado a eficácia dessa vitamina na manutenção de processos imunes normais e de defesa do hospedeiro, isso tem sugerido que a suplementação de vitamina C estimula o sistema imunológico e pode melhorar a defesa imunológica contra as células cancerígenas (AGUS et al., 1999). Entretanto outros estudos apontam que essa vitamina pode realmente combater diretamente uma célula cancerosa (GOLDE DW, 2003).

A vitamina C pode ser administrada através de várias vias, incluindo a via oral, mas as concentrações fisiológicas de vitamina C no corpo são controladas através da absorção intestinal, a acumulação nos tecidos, e a reabsorção renal e excreção; assim, a administração intravenosa é utilizada para conseguir doses farmacológicas (NANDAL et al., 2014). De acordo Marques (2003), a aplicação intravenosa dessa vitamina, aumenta sua concentração no plasma sanguíneo, vai ocasionar a liberação do peróxido de hidrogênio nos tecidos, sendo que uma vez no meio intracelular irá desencadear os processos de oxidação.

Sabe-se que o tratamento quimioterápico consiste na produção do estresse oxidativo celular, com liberação das espécies reativas de oxigênio (EROs) e dos Radicais livres (RL), isso proporciona a redução da taxa de proliferação celular podendo interferir na rápida multiplicação das células cancerosas com um efeito citotóxico (TUAN, 2014).

O estresse oxidativo também tem se mostrado fator importante, pois entre esses e outros fatores fisiológicos os ROS desempenham papéis fundamentais na sinalização celular e apoptose (VASCONCELOS et al., 2000).

Assim a vitamina C atua como pró oxidante quando induz a formação de radicais livres, ou seja, quando promove o estresse oxidativo (PIRES, 2008). Suas propriedades de pró oxidantes se deve as reações dos íons de Ferro e Cobre que reagem com o peróxido de hidrogênio, gerando um radical hidroxila, reação esta conhecida como reação de Fenton, assim indiretamente, o ascorbato pode induzir as reações de radicais livres (BARREIROS et al., 2006). Seus efeitos como pró oxidantes é a razão em proceder como um agente quimioterápico para o tratamento do câncer, podendo induzir a morte de vários tipos de células cancerosas, suprimindo o crescimento do tumor (UETAKI et al., 2015).

A vitamina C vem se destacando pelo seu potencial terapêutico, pois ao contrário dos fármacos quimioterápicos, segundo Tavares (2010), esta vitamina atua de forma seletiva nas células tumorais, alguns estudos vêm verificando que concentrações farmacológicas da

vitamina C agem preferencialmente sobre as células tumorais, não matando as células normais. As altas doses de vitamina C que leva à indução do peróxido de hidrogênio no meio extracelular, em seguida resultarão numa citotoxicidade nas células cancerosas, com sensibilidade muito baixa em células normais (CHEN et al., 2012). Esse fato leva o peróxido de hidrogênio induzir necrose em células tumorais, mas não em células normais (POLLARD HB et al., 2010). Essa citotoxicidade do peróxido de hidrogênio ocorre após a exposição do ascorbato (FRÖMBERG et al., 2010). Para NANDAL et al. (2014) as células normais não são afetadas, por que o peróxido de hidrogênio é rapidamente neutralizado por enzimas antioxidantes, tais como a catalase, peroxidase de glutathione e de superóxido dismutase, enquanto os níveis dessas enzimas antioxidantes são baixos ou desequilibrados na maioria dos cânceres humanos. Ainda segundo este mesmo autor nas células saudáveis a catalase metaboliza o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio livre. As maiores concentrações de vitamina C se acumulam em neoplasias do que no tecido normal adjacente (OHNO et al., 2009).

A utilização de doses elevadas por via intravenosa tem atraído interesse, pois pode ser administrada de forma segura com relativamente poucos efeitos colaterais; estudos clínicos têm demonstrado que esse tratamento terapêutico associado ao tratamento padrão oncológico melhorou significativamente a qualidade de vida de pacientes com câncer, onde apresentaram menos fadiga, redução de náuseas, melhora no apetite, redução na depressão e menos distúrbios do sono, outros estudos relatam também eficácia anti-câncer (MIKIROVA et al., 2013).

Entretanto a relação entre a vitamina C e o câncer permanece ainda um tema muito discutível, seu mecanismo molecular subjacente à sua atividade anticancerígena não está claramente elucidado, se por um lado, a vitamina C em níveis elevados pode auxiliar o tratamento de quimioterapia, uma vez que estas terapias induz a morte celular pelo mecanismo oxidativo, por outro, a suplementação com essa vitamina pode tornar o tratamento do câncer menos eficaz devido essa vitamina ser também um forte antioxidante podendo eliminar ou neutralizar o estresse oxidativo induzido pela quimioterapia (NAIDU, 2003).

Permanecendo ainda um assunto onde existem muitas controvérsias, quanto à sua eficácia no tratamento do câncer, grande parte dessas controvérsias atribuídas a essa falta de compreensão da farmacocinética desta vitamina (CARR et al., 2014), o presente estudo propôs avaliar o efeito de altas doses de vitamina C combinada com o quimioterápico Cisplatina em um modelo vegetal, *Alium cepa* L.

4 METODOLOGIA

Para o teste de ponta de raiz de *Allium cepa*, foram utilizados bulbos de tamanho pequeno, uniforme, de mesma origem, não germinadas e saudáveis. Os bulbos de cebola foram colocados em frascos com água, a temperatura ambiente, para enraizar. Quando as raízes atingiram 0,5 cm foram colocadas nas soluções de tratamento. Para verificar a atividade citotóxica e mutagênica dos compostos estudados, foram realizados seis tratamentos com duas repetições cada, onde cada grupo foi exposto a uma das concentrações (tabela 1).

TABELA 1- Concentrações de Cisplatina e Vitamina C testadas de forma isolada e conjugada em *Allium cepa*.

Tratamentos	Sistemas Testes
	<i>Allium Cepa</i>
Controle Negativo	Água destilada
Cisplatina Isolada	1 µg/ml
	10 µg/ml
	50 µg/ml
Cisplatina Conjugada com Vitamina C	1 µg/ml + 1 mg/ml de Vitamina C
	10 µg/ml + 1 mg/ml de Vitamina C
	50 µg/ml + 1 mg/ml de Vitamina C

Fonte: Dados da pesquisa (2016).

Após os períodos de exposição determinados (24h, 48h e 72h) as pontas das raízes (meristemas) foram removidas e fixadas em Carnoy (3:1, etanol: ácido acético). Para a análise microscópica, foram coradas com orceína acética a 2%. As lâminas foram avaliadas, usando microscópio óptico com 1000 vezes de aumento. Foram avaliadas 1000 células por repetição, totalizando 5.000 células por tratamento. Foi avaliado o índice mitótico (IM) e aberrações cromossômicas (AC), tais como cromossomos perdidos, pontes anafásicas, anomalias interfásicas, Micronúcleos (MN), células binucleadas, células com núcleos ligados e brotos nucleares.

Os dados coletados foram avaliados no teste de RM-MANOVA seguido de Tukey.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, avaliando as concentrações definidas no teste de *Allium cepa*, foi observado que todas as concentrações de cisplatina isolada e conjugada com vitamina C apresentaram efeito citotóxico em todos os tempos de exposição quando analisados em relação ao controle negativo (tabela 2).

TABELA 2- Citotoxicidade e mutagenicidade da cisplatina isolada e em conjugado com vitamina C em *Allium cepa*.

Concentração	TE	Cisplatina isolada		Cisplatina conjugada com Vit. C 1mg/ml	
		IM	AC	IM	AC
CN	24hs	14,7±10,7	2,8 ± 1,6	14,7±10,7	2,8 ± 1,6
CN	48hs	19,2± 4,5	2,4 ± 1,6	19,2± 4,5	2,4 ± 1,6
CN	72hs	18,8± 8	3± 1,5	18,8± 8	3± 1,5
1 mg/ml	24hs	0,7±1a	3,2 ± 3,7	2,3 ± 0,3 ^{ab}	13,6 ± 2,1b
	48hs	0,6 ± 1,1 ^a	0,2 ± 0,4	2,2 ± 1,3 ^a	8,6 ± 4,7b
	72hs	1,7 ± 3,7 ^a	3 ± 3	3,9 ± 2,5 ^a	24,6 ± 13,3 ^{ab}
10 mg/ml	24hs	0,1 ± 0,2 ^a	0,8 ± 0,8	2,1 ± 0,6 ^{ab}	16,6 ± 6,6ab
	48hs	0,1 ± 0,2a	0,8 ± 1,7	1,7± 0,3ab	15,8 ± 6,8ab
	72hs	0 ± 0a	0 ± 0	0,9 ± 0,6ab	10,8 ± 6,3b
50 mg/ml	24hs	0,1 ± 0,1a	1,5 ± 0,5	2,7 ± 0,7 ^{ab}	15 ± 11 ^{ab}
	48hs	0 ± 0 ^a	0,2 ± 0,4	1,4 ± 0,4ab	16 ± 3,3 ^{ab}
	72hs	0 ± 0a	0 ± 0	2,5 ± 2,3 ^{ab}	8 ± 2b

RM-MANOVA com pós teste de tukey. TE: tempo de exposição; CN: controle negativo (água); IM: índice mitótico; AC: aberrações cromossômicas; a: significativo em relação ao CN no mesmo TE analisado. b: valores significantes quando comparados entre cisplatina isolada e conjugada no mesmo TE e concentração. $p < 0,05$.

FONTE: Dados da pesquisa (2016).

Ao compararmos os resultados de índice mitótico (IM) entre as mesmas concentrações de cisplatina isolada e conjugada nos mesmos tempos de exposição, podemos observar que todos os tempos das concentrações de 10 e 50 $\mu\text{g/ml}$ de cisplatina conjugada com vitamina C foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) dos resultados encontrados na mesma concentração isolada. Este resultado nos mostra que a vitamina C nestas concentrações de droga teve uma atividade diferenciada sobre as células do *Allium cepa*, nos dando indícios de uma possível interação/inibição leve na atividade da droga. Nas concentrações de 1 $\mu\text{g/ml}$ só foram observados resultados significantes apenas no TE de 24 horas, embora seja possível perceber mais claramente este efeito ao se observar os valores das médias de IM encontradas nas concentrações 10 e 50 $\mu\text{g/ml}$ de cisplatina isolada em comparação a conjugada. Fica claro que as células meristemáticas nas concentrações conjugadas tiveram um maior percentual de divisão quando comparadas as células tratadas somente com a cisplatina. Em relação à cisplatina isolada e seus respectivos controles verifica-se que houve redução drástica do índice de divisão celular. Os valores obtidos significativamente menores indica alteração resultante da ação química da droga exposta. Essa redução do IM se acentuou ainda mais com o aumento do tempo de exposição (TE), onde se observa que o índice mitótico obtido no tempo TE de 72h nas duas concentrações em estudo não houve nenhuma divisão celular (figura 1 A). Esse fato se deve ao mecanismo de ação da droga em bloquear a divisão celular, devido inibir a síntese do DNA (FREITAS et al., 2009).

Sobre os resultados de mutagenicidade, não foi possível observar nenhum resultado significativo para as concentrações de cisplatina isolada quando comparada ao controle negativo. Mas uma vez esse resultado é justificado pela própria atividade anti-tumoral da

droga que é atribuída à ligação ao DNA, com formação de aductos, originando ligações intra e intercadeias que induzem alterações estruturais no DNA, pois o efeito citotóxico da cisplatina é, assim, causado pela inibição da transcrição e replicação e induzindo a morte celular programada – apoptose (TUAN, 2014). Por conta do mecanismo de ação da droga não é observado divisão e conseqüentemente não é observado danos significantes nas concentrações isoladas. De acordo com Gomes et al. (2013), a redução de índice mitótico ocasionada por compostos químicos em células de tecidos normais, sem nenhum tipo de mutação e/ou alteração celular, leva o mal funcionamento do tecido em virtude de não possibilitar a reposição de células, alterar a produção de enzimas e, conseqüentemente, irá resultar no mal funcionamento do órgão onde está localizado.

Porém, ao avaliarmos a cisplatina conjugada a vitamina C em relação ao controle negativo, é possível observar resultados significantes para a mutagenicidade nos dois primeiros tempos de exposição das maiores concentrações (10 e 50 μ g/ml + 1mg/ml de vitamina C). Já para a menor concentração (1 μ g/ml + 1mg/ml de vitamina C) só foi observado resultado significativo para TE de 72 horas.

Comparando novamente as concentrações isoladas e conjugadas entre si nos mesmos tempos de exposição, foi possível observar que todos os resultados de mutagenicidade das concentrações conjugadas foram diferentes significativamente ($p < 0,05$) das concentrações isoladas. Mais uma vez esse resultado nos indica uma possível inibição leve da droga causada pela vitamina C, pois em conjugado com a cisplatina, esta permite que o índice mitótico (IM) aumente, e conseqüentemente o número de aberrações cromossômicas (AC) geradas a partir da divisão das células sobre o efeito da droga (figura 1 B). Esses resultados são notáveis nas concentrações de 1 μ g/ml no TE de 24 e 72 horas onde os valores de AC aumentarem significativamente, como também nas concentrações mais altas 10 e 50 μ g/ml + 1mg/ml de vitamina C em todos os tempos tiveram um elevado número de AC.

Esses dados revelam que a ação da vitamina C nessa dose estabelecida atuou como protetora frente ao quimioterápico cisplatina. Muitos relatos na literatura sugerem que essa vitamina pode reduzir a eficácia citotóxica de uma variedade de quimioterápicos, podendo diminuir os seus efeitos tóxicos em sistemas celulares necessários para morte celular, isso tem levantado questionamentos e preocupação teórica à resposta ao tratamento do câncer, no entanto, outros estudos já apontam que o AA pode potencializar os efeitos de alguns antineoplásicos, tal como a carboplatina um quimioterápico que possui propriedades similares à cisplatina (ALENCAR, 2015). A fim de melhorar a eficiência do tratamento quimioterapêutico muitas das drogas anticâncer estão sendo administradas em combinações

com outros fármacos, por isso conhecer o papel da vitamina C de oxidante/antioxidante é importante, pois a sua ação é fundamental para que possa ser usada como terapia adjuvante no tratamento do câncer (GONZÁLEZ et al., 2005).

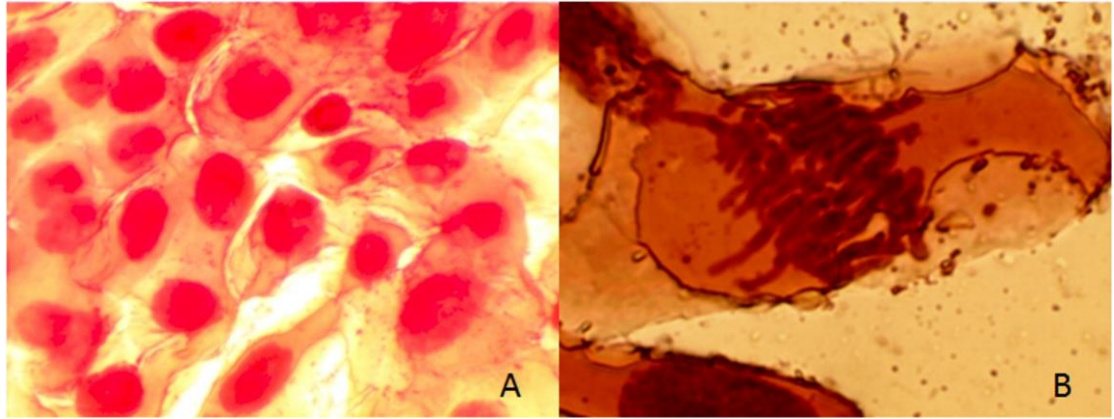


Figura 1: células meristemáticas de *Allium cepa* submetidas a doses variáveis de cisplatina e vitamina C. A) células em interfase, sem presença de divisões celulares; B) célula em metáfase.

Comparando os resultados obtidos entre a cisplatina isolada e em associação com a vitamina C, os dados mostram que a vitamina C exerceu efeito contrário ao esperado, agindo como antioxidante permitindo assim um aumento de divisão celular. Esse efeito contraditório talvez esteja relacionado à dosagem da vitamina C testada.

Os resultados da cisplatina isolada corroboram com estudos feitos por LUTERBERK et al. (2014) em sementes de *A. cepa*, onde as drogas anticancerígenas testadas: ciclofosfamida com concentração de 20mg/L, metotrxato concentração de 5mg/L mostraram uma redução significativa na inibição das divisões celulares. Ainda no mesmo estudo às expostas ao medicamento 5-fluorouracil (10mg/L) tiveram aumento do índice mitótico.

Antunes et al. (2009) também avaliou a ação da cisplatina e vitamina C, seus estudos feitos em células óssea de ratos Wister, no qual foram tratados com vitamina C (50,100.200 mg/kg do peso corporal) e da administração da cisplatina (5mg/kg do peso corporal). Os resultados obtidos mostraram que a cisplatina não foi citotóxica; Seus resultados para clastogenicidade teve um percentual de redução de aproximadamente 70%. Mas uma vez o efeito antioxidante da vitamina C foi proposto para explicar a ação moduladora da vitamina C.

Este trabalho constitui uma tentativa de entender o papel da vitamina C e os seus efeitos no tratamento do câncer. Qualquer terapia que possibilita índices de novos tratamentos ou mesmo possa melhorar significativamente a qualidade de vida dos doentes merece atenção, sobretudo pelo fato dos tratamentos disponíveis hoje terem graves efeitos colaterais, dentre

eles o surgimento de um novo câncer, já que as drogas de combate são tóxicas e afetam tanto células cancerosas como as normais. Estudos mais profundos são necessários nesse campo, pois ainda permanece escasso, mesmo diante de o câncer ser uma das maiores causas de morte no mundo.

6 CONCLUSÃO

Baseando-se nos resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que:

- Todas as concentrações de cisplatina isolada e combinada com vitamina C apresentaram efeitos citotóxicos em células meristemáticas de raízes de *A. cepa*;
- As concentrações com vitamina C tiveram efeitos menos citotóxicos em relação à cisplatina isolada;
- As concentrações de vitamina C foram mais mutagênicas em relação à cisplatina isolada e ao controle negativo.

REFERÊNCIAS

- AGUS, D. B.; VERA, J. C.; GOLDE, D. W. Stromal Cell Oxidation: A Mechanism by Which Tumors Obtain Vitamin C. **Cancer Research**, Philadelphia, v. 59, n. 18, p. 4555-4558, Sept. 1999.
- ALENCAR, M. V. O. B. **Interferência do Ácido Ascórbico nos Danos Citogenéticos e Oxidativos da Ciclofosfamida, Doxorubicina e Esquema AC em Células de Sarcoma 180 e de *Saccharomyces cerevisia***. 2015. 128f. Dissertação (Mestrado em CIENCIAS FARMACEUTICAS)- Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2015.
- ALMEIDA, V. L. Câncer e Agentes Antineoplásticos Ciclo-Celular Específicos e Ciclo-Celular não Específicos que Interagem com o DNA: Uma Introdução. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005.
- ANDERSON, D. et al. The effect of various antioxidants and other modifying agents on oxygen-radical-generated DNA damage in human lymphocytes in the COMET assay. **Mutation research**, Amsterdam, v. 307, n. 1, p. 261-271, May.1994.
- ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Antioxidantes da dieta como inibidores da nefrotoxicidade induzida pelo antitumoral cisplatina. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n.1, p. 89-96, jan./ mar. 2004.
- ARANHA, F. Q. O papel da Vitamina C sobre as Alterações Orgânicas no Idoso. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 2, n. 13, p. 89-97, maio/ago. 2000.
- ARRAES, A. I. O. M.; LONGHIN, S. R. Otimização de Ensaio de Toxicidade Utilizando o Bioindicador *Allium cepa* como Organismo Teste. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Goiânia, v. 8, n. 14, p. 1959, 2012.
- BAGATINI, M. D.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do Sistema Teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Goiânia, v. 3, n.17, p. 444- 447, jul. / set. 2007.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse Oxidativo: Relação entre Geração de Espécies Reativas e Defesa do Organismo. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BASTIANI, M. A. **Assinatura Gênica de Resistência à Cisplatina Envolve a Rede da Cofilina-1 em Câncer de Pulmão de Não-Pequenas Células**. 2012. 63 f. Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.
- CAMARGO, S. M. R.; SCHOR, N. Mecanismos Celulares e Moleculares da Nefrotoxicidade pela Cisplatina. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, São Paulo, v. 21, n. 2, p. 71-81, 1999.
- CAMERON, E; PAULING, L. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: Prolongation of survival times in terminal human cancer. **Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America**, Washington, v. 73, n. 10, p. 3685-3689, Oct. 1976.
- CARR, A; FREI, B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? **FASEB Journal**, Bethesda, v. 13, n. 9, p. 1007-24, Jun. 1999.

- CARR, A. C.; VISSERS, M. C.; COOK J. S. The effect of intravenous vitamin C on cancer- and chemotherapy-related fatigue and quality of life. **Frontiers in Oncology**, [S.l.], v. 4, n. 283, Oct. 2014.
- CARVALHO, M. S. **Síntese, Determinação Estrutural e Avaliação Citotóxica in vitro de Novos Compostos de Coordenação de Platina contendo como ligantes Compostos Imidazolidínicos Derivados da 2-tioxo-imidazolidin-4-ona e da Imidazolidina-2,4-diona**. 2009. 110f. Tese (Doutorado em Química Medicinal, Farmacologia e Fisiologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.
- CASCIARI, J. J. et al. Effects of high dose ascorbate administration on L-10 tumor growth in guinea pigs. **Puerto Rico Health Sciences Journal**, San Juan, v. 24, n.2, p. 145-150, 2005.
- CASTRO, M. G. M. **Avaliação Seminal e Testicular de Cães Submetidos à Administração de Cisplatina**. 2010. 122f. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.
- CHEN, P. et al. Pharmacological ascorbate induces cytotoxicity in prostate cancer cells through ATP depletion and induction of autophagy. **Anti-Cancer Drugs**, Oxford, v. 23, n. 4, p. 437- 44, 2012.
- CHEN, Q. et al. Ascorbate in pharmacologic concentrations selectively generates ascorbate radical and hydrogen peroxide in extracellular fluid in vivo. **Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America**, Washington, v. 104, n. 21, p. 8749-54, May. 2007.
- CHEN, Q. et al. Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice. **Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America**, Washington, v. 105, n. 32, p. 11105-11109, 2008.
- CLÉMENT, M. V. et al. The in vitro cytotoxicity of ascorbate depends on the culture medium used to perform the assay and involves hydrogen peroxide. **Antioxidants and redox signalling**, Larchmont, v. 3, n.1, p. 157-63, Feb. 2001.
- CREAGAN, E. T. Phase II evaluation of maytansine in patients with advanced head and neck cancer. **Cancer treatment reports**, Bethesda, v. 63, p. 11-12, Nov./Dec. 1979.
- DU, J. Mechanisms of ascorbate-induced cytotoxicity in pancreatic cancer. **Clinical Cancer Research**, Philadelphia, v. 16, n. 2, p. 509-520, 2010.
- FERREIRA, R. M. M. **Síntese e caracterização de complexos de platina (II) com N-benzoil-N'-piridinil-guanidinas**. 2011. 105f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.
- FORNADO, A.; COICHEV, N. Ácido L-Ascórbico: Reações de Complexação e de Óxido-Redução com Alguns Íons Metálicos de Transição. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n.5, 1998.
- FREITAS, M. R. et al. Papel da apoptose na ototoxicidade por cisplatina em ratos. **Brazilian journal of otorhinolaryngology**, São Paulo, v. 75, n. 5, p. 745-52, 2009.
- FROMBERG, A. et al. Ascorbate exerts anti-proliferative effects through cell cycle inhibition and sensitizes tumor cells towards cytostatic drugs. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, Berlin, v. 67, n. 5, p. 1157-1166, 2011.

GOLDE, D. W. Vitamin C in cancer. **Integrative cancer therapies**, Thousands Oaks, v.2, n.2, p.158-9, 2003.

GONZÁLEZ, M. J. et al. Orthomolecular Oncology Review: Ascorbic Acid and Cancer 25 Years Later. **Integrative Cancer Therapies**, Thousands Oaks, v. 4, n.1, p. 32-44, 2005.

GUERRA, W. et al. Síntese e Caracterização de Novos Complexos de Platina (II) com Ligantes Derivados do Furano e Nitrofurano. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 5, p. 809-812, 2005.

HOFFER, L. J. Phase I clinical trial of i.v. ascorbic acid in advanced malignancy. **Annals of oncology**, Dordrecht, v. 19, n. 11, p. 1969-74, nov. 2008.

HYPPOLITO, M. A. et al. Ototoxicidade da cisplatina e otoproteção pelo extrato de ginkgo biloba às células ciliadas externas: estudo anatômico e eletrofisiológico. **Revista brasileira de otorrinolaringologia**, Rio de Janeiro, v. 69, n. 4, p. 504-11, jul./ago. 2003.

LEITE, E. A. **Avaliação da Toxicidade Aguda e Atividade Antitumoral de Lipossomas pH-Sensíveis de Circulação Prolongada Contendo Cisplatina**. 2010. 162f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

LUTTERBECK, C. A. et al. Evaluation of the toxic effects of four anti-cancer drugs in plant bioassays and its potency for screening in the context of waste water reuse for irrigation. **Chemosphere**, Oxford, n. 135, p. 403-410, 2015.

MANELA-AZULAY, M. et al. Educação Médica Continuada. **Anais brasileiros de dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 3, p. 265-274, maio/jun. 2003.

MARQUES, C. R. F. **Vitamina C e Quimioterapia: Uma Potencial Sinergia Contra o Carcinoma Colo-Retal**. 2013. 140f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade de Coimbra, Coimbra, 2013.

McCORMICK, W. J. Ascorbic acid as a chemotherapeutic agent. **Archives of pediatrics**, New York, v. 69, n. 4, p. 151-5, Apr. 1952.

MIKIROVA, N. et al. Clinical experience with intravenous administration of ascorbic acid: achievable levels in blood for different states of inflammation and disease in cancer patients. **Journal of Translational Medicine**, London, v. 11, n.191, 2013.

MOERTEL, C. G. High-dose vitamin C versus placebo in the treatment of patients with advanced cancer who have had no prior chemotherapy. A randomized double-blind comparison. **New England journal of medicine**, Boston, v. 17, n. 3, p. 137-41, jan. 1985.

NAIDU, K. A. Vitamina C in human health and disease is still a mystery? An overview. **Nutrition Journal**, London, v. 2, n. 7, Aug. 2003.

NANDAL, S. et al. High-dose intravenous vitamin C as an Anticancer Agente-A Literature Review. **International Journal of Enhanced Research in Medicines & Dental Care**, [S.l.], v. 1, n. 5, 2014.

NOVAIS, C. S. **Caracterização Estrutural por Difração de Raios X e Estudo de Atividade Citotóxica de Complexos de Platina**. 2009. 90 f. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.

- OHNO, S. High-dose Vitamin C (Ascorbic Acid) Therapy in the Treatment of Patients with Advanced Cancer. **Anticancer Research**, Athens, v. 29, p. 809-816, 2009.
- PARROW, N. L.; LESHIN, J. A.; LEVINE, M. Parenteral ascorbate as a cancer therapeutic: a reassessment based on pharmacokinetics. **Antioxidants and redox signalling**, Larchmont, v.10, n.17, p. 2141-56, Dec. 2013.
- PEREIRA, F. C. **Mecanismo de Morte Celular Induzida por Complexos de Rutênio em Diferentes Linhagens Tumorais**. 2014. 153f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.
- PERES, L. A. B.; JÚNIOR, A. D. C. Nefrotoxicidade aguda da cisplatina: Mecanismos moleculares. **Jornal brasileiro de nefrologia**, São Paulo, v. 35, n.4, p. 332-340, 2013.
- PERON, A. P. et al. Avaliação do Potencial Citotóxico dos Chás de *Camellia sinensis* L. E *Cassia angustifolia* Vahl em Sistema Teste Vegetal. **Arquivos de ciências veterinárias e zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 12, n. 1, p. 51-54, jan./abr. 2008.
- POLLARD, H. B.; LEVINE, M. A.; Eidelman O and Pollard M: Pharmacological ascorbic acid suppresses syngeneic tumor growth and metastases in hormone-refractory prostate cancer. **In Vivo**, Athens, v.24, n. 3, p. 249-255, 2010.
- ROSA, J. et al. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciência e tecnologia de alimentos**, Campinas, v.27, n. 4, p. 837-846, out./dez. 2007.
- SINGH, N. P. Sodium ascorbate induces DNA single-strand breaks in human cells in vitro. **Mutation research**, Amsterdam, v. 375, n.2, p. 195-203, Apr. 1997.
- TAVARES, S. D. G. **Vitamina C, Cancro e Citotoxicidade: Marcação e Estabilidade In Vitro e In Vivo**. 2010. 109f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Universidade de Coimbra, Coimbra, 2010.
- TUAN, B. T. **Relação do Estresse Oxidativo com a Excreção de Cisplatina e Nefrotoxicidade em Pacientes com Câncer de Cabeça e Pescoço Tratados com Altas Doses de Cisplatina e Radioterapia**. 2014. 145 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.
- UETAKI, M. et al. Metabolomic alterations in human cancer cells by vitamin C – induced oxidative stress. **Scientific Reports**, [S.l.], v.5, 2015.
- VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies Reativas de Oxigênio e de Nitrogênio, Antioxidantes e Marcadores de Dano Oxidativo em Sangue Humano: Principais Métodos Analíticos para sua Determinação. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007.
- VILLELA, R. A. **Efeitos das Formulações Nanoestruturadas de Doxorubicina e Cisplatina em Dispersão de Óxido de Grafeno Reduzido no Tratamento da Progressão do Câncer de Bexiga Não-Músculo Invasivo**. 2015. 121 f. Dissertação (Mestrado em Biologia celular e estrutural) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2015.
- VOLLBRACHT, C. et al. Intravenous vitamin C administration improves quality of life in breast cancer patients during chemo-/radiotherapy and aftercare: results of a retrospective, multicentre, epidemiological cohort study in Germany. **In Vivo**, Athens, v.25, n.6, p. 983-90, Nov./Dec. 2011.

WILSON, M. K. et al. Review of high-dose intravenous vitamin C as an anticancer agent. **Asia Pacific journal of clinical oncology**, Carlton, v. 10, n.1, p. 22-37, Mar. 2014.



TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DIGITAL NA BIBLIOTECA
“JOSÉ ALBANO DE MACEDO”

Identificação do Tipo de Documento

- () Tese
() Dissertação
(X) Monografia
() Artigo

Eu, Marília das Douras Santos Borges,
autorizo com base na Lei Federal nº 9.610 de 19 de Fevereiro de 1998 e na Lei nº 10.973 de
02 de dezembro de 2004, a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar,
gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação
Efeito do tratamento de duas doses de Vitamina C em associa-
ção com o quimioterápico cisplatina em um modelo vegetal com Allium cepa
de minha autoria, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, pela internet a título
de divulgação da produção científica gerada pela Universidade.

Picos-PI 30 de junho de 2016.

Marília das Douras Santos Borges
Assinatura

Assinatura