



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**



RAYLLA ALENCAR DE SÁ

**EFEITO TOXICOGENÉTICO DA RANITIDINA E DA VITAMINA C EM ENSAIOS
*IN VITRO***

**PICOS
2022**

RAYLLA ALENCAR DE SÁ

**EFEITO TOXICOGENÉTICO DA RANITIDINA E DA VITAMINA C EM ENSAIOS
*IN VITRO***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Piauí, *campus* Senador Helvídio Nunes de Barros como requisito à obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Prof. Dr. FELIPE CAVALCANTI CARNEIRO DA SILVA

**PICOS
2022**

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Campus Senador Helvídio Nunes de Barros
Biblioteca Setorial José Albano de Macêdo
Serviço de Processamento Técnico

S111e S111e Sá, Raylla Alencar de

Efeito toxicogenético da ranitidina e da vitamina C em ensaios *in vitro* / Raylla Alencar de Sá – 2022.

Texto digitado

Indexado no catálogo *online* da Biblioteca José Albano de Macêdo - CSHNB

Aberto a pesquisadores, com as restrições da Biblioteca

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Piauí, Licenciatura em Ciências Biológicas, Picos-PI, 2022.

“Orientadora: Dr. Felipe Cavalcante Carneiro da Silva.”

1. Apoptose. 2. Genotoxicidade. 3. Câncer. 4. Citotoxicidade. I. Silva, Felipe Cavalcante da. II. Título.

CDD 616.85


RAYLLA ALENCAR DE SÁ


**EFEITO TOXICOGENÉTICO DA RANITIDINA E DA VITAMINA C EM ENSAIOS
*IN VITRO***


Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção de grau de Licenciado em Ciências Biológicas, pela Universidade Federal do Piauí, *campus* Senador Helvídio Nunes de Barros.

Orientador (a): Prof. Dr. FELIPE CAVALCANTI CARNEIRO DA SILVA

Banca Examinadora:


Prof(a). Dr. Felipe Cavalcanti Carneiro da Silva – Orientador(a)
Universidade Federal do Piauí - UFPI


Prof(a). MSc. Jailson de Araújo Santos – Membro 1
Universidade Federal do Piauí - UFPI


Prof(a). Dr(a) Waldima Alves da Rocha – Membro 2
Universidade Federal do Piauí-UFPI

Aprovado em 11/ Janeiro/ 2022

Ao meu avô/pai, Francisco Soares
Sobrinho, que em meio a tantas
dificuldades continua firme e forte.
Gratidão pela sua vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, tão essencial em minha vida, autor do meu destino e meu guia. Graças a Ele, pude conviver e conhecer diversas pessoas, das quais agradeço por toda ajuda e companheirismo durante minha caminhada até aqui. Ao meu Orientador, Prof. Dr. Felipe Cavalcanti Carneiro da Silva, por seus ensinamentos, auxílio e paciência. Nesta reta final foi de grande importância para a conclusão e enriquecimento desse trabalho. Agradeço também a todos os professores e técnicos que passaram pela minha vida acadêmica, seja na sala de aula ou nos projetos que participei que tiveram grande influência na minha formação profissional. Aos meus amigos de curso, pessoas tão especiais em minha vida e que pude dividir tantos momentos, eles tornaram essa caminhada mais alegre e leve. A minha família, por todo apoio. Aos meus pais, Ronaldo Batista Sá e Cacilda de Alencar Soares Sá, pela sólida formação e incentivo para realização dos meus sonhos. Ao meu avô, Francisco Soares Sobrinho e minha avó, Áurea de Alencar Soares (in memoriam) que considero meu segundo pai e segunda mãe, pelo cuidado, amor e bons exemplos. Aos meus irmãos, Rosana Alencar de Sá Mendes e Rômulo Alencar de Sá, e sobrinhos, Miguel Rômulo, Lara Beatriz, Luan Henrique e Ravi, por todo afeto e bons momentos compartilhados. Ao meu esposo, Francisco Gilvan de Moura Rocha Filho, por ser um verdadeiro companheiro, por tanta dedicação, cuidado e amor.

RESUMO

O tratamento com Ranitidina é um dos mais utilizados contra distúrbios gastrointestinais. O efeito benéfico desse medicamento justifica tal fato, entretanto os possíveis efeitos adversos causados pelo medicamento ainda não são bem esclarecidos. O uso de antioxidantes como terapia suplementar no tratamento contra o câncer é bastante controverso. Estudos clínicos mostraram que altas doses de vitamina C são eficientes como agente antitumoral, aumentando a defesa do sistema imunitário e induzindo efeitos anti-proliferativos, enquanto outros estudos não mostraram resultados significativos com o uso exclusivo de vitamina C. Estudos de efeito sobre a estabilidade do material genético, através do monitoramento toxicogenético, com o uso de biomarcadores moleculares surge como uma estratégia de importância para avaliação de patologias gastrointestinais, contribuindo para o prognóstico e prevenção do câncer. Assim, o presente estudo tem por objetivo avaliar os efeitos toxicogenéticos da Ranitidina de forma isolada ou em associação com agentes quimioterápicos e os efeitos da vitamina C isolada, utilizando diferentes testes *in vitro*. Essa avaliação foi realizada em raízes de *Allium cepa*, microcrustáceos de *Artemia salina* e por fragmentação de DNA em gel de agarose. Utilizou-se as concentrações de 1mM, 20mM para ranitidina; 1mM, 0,05mM e 0,01mM de vitamina C e 20 µg/ml e 2 µg/ml para Ciclofosfamida e Doxorubicina, respectivamente para o teste de *Allium cepa*. Para o teste de *A. salina*, verificou-se que em doses altas (>500mg/ml) a ranitidina e vitamina C foram altamente tóxicas, mas de acordo com a escala de toxicidade proposta por de McLaughlin e colaboradores, ambas apresentaram moderada toxicidade. Para o teste de *Allium cepa*, os dados mostraram que a ranitidina isolada e a vitamina C apresentaram alta toxicidade nas concentrações analisadas em todos os tempos de exposição, indicando atividade citotóxica para os tempos de exposição avaliados. Foi possível perceber que a ranitidina aumenta a toxicidade das células de maneira dose dependente. Verificou-se que altas dose de vitamina C se mostraram bastante tóxicas nos ensaios analisados, com grande potencial pró-oxidante. Devido a ampla utilização da Ranitidina como medicamento para alívio gástrico, é de grande importância a realização de pesquisas, por meio de outros bioensaios, para determinar o seu potencial citotóxico.

Palavras-chave: Apoptose, Genotoxicidade, Câncer, Citotoxicidade.

ABSTRACT

Ranitidine is one of the most used treatments against gastrointestinal disorders. Besides the beneficial effects of this drug, the possible adverse effects are still not well understood. The use of antioxidants as supplemental cancer therapy is quite controversial. Clinical studies have shown that high doses of vitamin C are efficient as an anti-tumor agent, increasing the of the immune system defenses and inducing anti-proliferative effects, while other studies have not shown significant results. Studies on DNA damage through toxicogenetic monitoring of molecular biomarkers, emerges as an important strategy for evaluating gastrointestinal pathologies, which contributes to the better prognosis and prevention. Thus, the present study aims to evaluate the toxicogenetic effects of isolated Ranitidine or in association with cancer therapy agents and the effects of isolated vitamin C using different in vitro tests. This evaluation was carried out in *Alium cepa* roots, *Artemia salina* and by DNA fragmentation in agarose gel. We used concentrations of 1mM, 20mM for ranitidine; 1mM, 0.05mM and 0.01mM of vitamin C and 20 µg/ml and 2 µg/ml for Cyclophosphamide and Doxorubicin, respectively for *Alium cepa* test. For the *A. salina* test, it was found that at high doses (>500mg/ml) ranitidine and vitamin C were highly toxic, but according to the toxicity scale proposed by McLaughlin et al., both presented moderate toxicity. For the *Alium cepa* test, the data showed that isolated ranitidine and vitamin C presented high cytotoxicity at the concentrations analyzed at all exposure times. It was possible to observed that ranitidine increases cell toxicity in a dose-dependent manner. It was found that high doses of vitamin C proved to be toxic in the assays analyzed, with great pro-oxidant potential. Due to the wide use of Ranitidine as a medicine for gastric relief, it is of great importance to carry out futher studies using other bioassays to determine its cytotoxic potential.

Keywords: Apoptosis, Genotoxicity, Cancer, Cytotoxicity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fragmentação de DNA da Ranitidina em diferentes concentrações.....	
.....	34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Atividade tóxica da Ranitidina em diferentes concentrações ($\mu\text{g/ml}$) por meio do Bioensaio de Letalidade em *Artemia salina* (BSLB).30
- Tabela 2** – Atividade tóxica da Vitamina C em diferentes concentrações ($\mu\text{g/ml}$) por meio do Bioensaio de Letalidade em *Artemia salina* (BSLB).....31
- Tabela 3** – Efeito tóxico e citotóxico da Ranitidina em células meristemáticas de *Allium cepa*.....32
- Tabela 4** – Efeito tóxico e citotóxico do AA em células meristemáticas de *Allium cepa*.....33

LISTA DE ABREVIATURAS

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

UFPI – Universidade Federal do Piauí

LISTA DE SÍMBOLOS

AA – Ácido Ascórbico

ASC – Ascorbato

°C – Graus Celsius

DRGE – Doença do Refluxo Gastroesofágico

EROs – Espécies Reativas de Oxigênio

GI – Gastrointestinal

IV – Intravenosa

NDMA – N-nitrosodimetilamina

® – Marca registrada

SVCT – Co-transportadores de vitamina C e sódio

μL – Microlitros

VitC – Vitamina C

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Câncer.....	16
3.2 Vitamina C e o tratamento do câncer.....	17
3.3 Ranitidina.....	20
3.4 Testes de Toxicidade	23
3.4.1 <i>Artemia salina</i>	23
3.4.2 <i>Allium cepa</i>	24
4 MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA	26
4.1 Preparo de substâncias.....	26
4.2 Bioensaios de letalidade em <i>Artemia salina</i> (BSLD).....	26
4.3 Teste de <i>Allium cepa</i>	27
4.4 Análise de fragmentação de Dna em gel de Agarose.....	27
4.5 Análise Estatística.....	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 Bioensaio de letalidade em <i>Artemia salina</i> (BSLD)	29
5.1.1 Ranitidina.....	29
5.1.2 Vitamina C.....	30
5.2 Teste de <i>Allium cepa</i>	30
5.2.1 Ranitidina.....	31
5.2.2 Vitamina C.....	32
5.3 Fragmentação de Dna em gel de Agarose.....	33
6 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

Uma das doenças com maior mortalidade no mundo e no Brasil é o câncer. Para o biênio de 2020-2022, estão previstos mais de 600 mil novos casos de câncer no país (INCA, 2022). No Brasil, em ordem de incidência e por gênero, estão os cânceres de pele não melanoma, próstata, pulmão, cólon, reto e estômago, para o sexo masculino, e os cânceres de pele não melanoma, mama, colo do útero, cólon e reto e glândula tireoide, para o sexo feminino (INCA, 2014).

Atualmente, os principais tipos de tratamentos utilizados no câncer são a cirurgia, radioterapia e a quimioterapia. Menos frequentes, mas em ascensão, podemos citar a imunoterapia e terapia gênica. Dentre estes tratamentos citados, a quimioterapia tem um papel de destaque na eficiência do tratamento, tanto nos casos de pré-cirúrgicos, como terapia adjuvante pós-cirúrgico (CRUZ-MERINO et al., 2016; SHIN et al., 2017).

Recentemente, um estudo demonstrou o efeito antineoplásico da ranitidina para tratamento de tumores de mama, apresentando um grande potencial neoadjuvante em tumores. No tratamento de distúrbios gastrointestinais são usados inúmeros medicamentos de forma intermitente ou prolongada. As drogas utilizadas podem causar danos genotóxicos, efeitos carcinogênicos ou anticarcinogênicos, as quais devem ser consideradas na avaliação do benefício diante do risco (BRAMBILLA et al., 2010; DOWNES, FOSTER, 2015). Antagonistas seletivos do receptor de histamina H₂, tais como ranitidina e famotidina são algumas das drogas mais utilizadas para o tratamento de distúrbios gastrointestinais superiores. Nos últimos anos, estes fármacos têm, frequentemente, sido substituídos por inibidores da bomba de prótons (LAM et al. 2013; MacLaren et al 2014), devido às suas potências melhoradas e em vista de relatórios de ações mielo-supressoras de antagonistas de H₂ (AGURA et al. 1988; LIST et al. 1988). No entanto, ainda há uma grande população de pessoas, com e sem câncer, que tomam regularmente antagonistas de H₂. Informações sobre como essas drogas afetam a imunidade ao câncer é limitado.

Um mecanismo primário de muitos fármacos de quimioterapia contra as células cancerosas é a formação de ROS, ou radicais livres. Os fármacos que formam ROS incluem, mas não estão limitados a agentes alquilantes, antraciclina, derivados de podofilina, complexos de coordenação de platina e camptotecinas (BLOCK et al 2008). A quimioterapia usa substâncias químicas que atuam eletivamente em células em mitose, visando destruir células cancerosas. Infelizmente, os radicais livres produzidos

com quimioterapia são muitas vezes uma fonte de efeitos colaterais graves, tais como a nefrotoxicidade, ototoxicidade, neuropatia periférica, cardiotoxicidade, leucopenia, trombopenia entre outros (BADAJATIA et al. 2010, Spencer et al. 2005).

O uso de antioxidantes como terapia suplementar no tratamento contra o câncer é bastante controverso. Estudos clínicos mostraram que altas doses de vitamina C são eficientes como agente antitumoral, sendo parte de terapias complementares para melhorar a qualidade de vida, proteger contra os efeitos secundários da quimioterapia, aumentando a defesa do sistema imunitário e induzindo efeitos anti-proliferativos (VOLLBRACHT et al, 2011), Por outro lado, estudos não mostraram resultados significativos com o uso exclusivo de vitamina C (CREAGAN et al 1979, MOERTEL et al 1985, PARROW et al 2013).

Nesse sentido, os danos toxicogênicos são frequentemente monitorados e estudados através de biomarcadores, como em pesquisas que utilizam cultura de células, citotoxicidade por *Allium cepa* e náuplios de *Artemia salina*.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos toxicogénicos do uso da Ranitidina e vitamina C em diferentes bioensaios.

2.2. Objetivos específicos

Identificar toxicidade do Ácido Ascórbico e Ranitidina através do teste de letalidade do microcrustáceo *Artemia salina*;

Avaliar os efeitos citotóxicos da Ranitidina® e vitamina C pelo teste de *Allium cepa*;

Avaliar o potencial genotóxico do uso da Ranitidina utilizando o ensaio fragmentação de DNA em linhagem celular humana.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Câncer

O câncer é responsável por mais de 12% das causas de óbitos no mundo. Segundo UICC (Union for International Cancer Control) a incidência de câncer, estimada em 2002 foi de 11 milhões de casos novos, e alcançará mais de 17 milhões em 2022. De acordo com as estimativas de 2022, do Instituto Nacional do Câncer José Alencar de Gomes da Silva (INCA), com exceção do câncer de pele não melanoma, os tipos de câncer mais frequentes são os cânceres de próstata (68.220 casos novos) em homens e mama (60.700 mil) em mulheres. Além dos citados, completam a lista dos dez tipos de câncer mais incidentes: cólon e reto (intestino – 36.360), pulmão (31.270), estômago (21.290), colo do útero (16.370), cavidade oral (14.700), sistema nervoso central (11.320), leucemias (10.800) e esôfago (10.970).

O câncer é resultado de mecanismos patológicos complexos, durante os quais as células sofrem alterações nos processos de divisão celular (MERLO et al., 2006). Como consequência, as células passam a se dividir e crescer descontroladamente e passam a desempenhar anormalidades metabólicas e funcionais. Neste processo, a transformação maligna pode ser resultado do acúmulo de mutações somáticas ou modificações epigenéticas (WATSON et al., 2013).

O acúmulo de mutações e de alterações epigenéticas no DNA, assim como a exposição do mesmo a EROs, associado a defeitos da maquinaria de reparo podem afetar irreversivelmente as células, podendo levar ao câncer, para o qual são adotados diferentes tipos de terapias (SWIFT; GOLSTEYN, 2014).

As principais terapias têm como alvo principal promover a parada do ciclo celular e/ou induzir morte de células cancerosas usando agentes citotóxicos, na quimioterapia, ou radiações ionizantes, por meio da radioterapia (BROWMAN et al., 2001). Uma vez que, a origem das células cancerosas está associada a anomalias na regulação do ciclo celular tendo um crescimento maior que nas células normais. Os quimioterápicos agem, principalmente, por meio da interferência da síntese de DNA e da mitose, levando à inibição de reprodução de células e induzindo as mesmas a parada do crescimento (agentes citostáticos) ou a morte (agentes citotóxicos) (FREEDMAN; PATRIDGE, 2011). O mecanismo de ação de drogas citotóxicas é, principalmente,

causar danos ao DNA, cujos danos podem levar a célula cancerosa à morte (SWIFT; GOLSTEYN, 2014).

A grande dificuldade no tratamento de câncer por agentes quimioterápicos se deve a grande semelhança existente entre as células neoplásicas e células normais, o que compromete a ação seletiva dos antineoplásicos, levando ao surgimento de efeitos adversos (DE ALMEIDA et al., 2005). Exemplos de agentes citotóxicos incluem radiações ionizantes, agentes alquilantes (ciclofosfamidas, clorambucila, estreptozicina, mostardas de nitrogênio), drogas de platina (cisplatina, carboplatina, oxaplatina), antimetabólitos (5-fluorouracil, gencitabina, tegafur, mercaptopurina), inibidores de topoisomerases (irinotecano, topotecano, camptotecina) (DE FALCO; DE LUCA, 2010). A maioria destas drogas, exceto as inibidoras de topoisomerases e as radiações ionizantes, promove o bloqueio da maquinaria de replicação, levando a quebras das fitas de DNA (HELLEDAY et al., 2008).

3.2 Vitamina C e tratamento do câncer

Desde a descoberta da vitamina C (ácido ascórbico, AscH_2 ; ascorbato, AscH^-), o número de suas funções biológicas conhecidas está continuamente se expandindo. Devido à facilidade de oxidação, obter o primeiro entendimento de seu papel como vitamina foi um grande desafio (DU; CULLEN; BUETTNER, 2012).

O sistema imunológico é uma rede multifacetada e sofisticada de órgãos, tecidos, células, proteínas e produtos químicos especializados, que evoluiu para proteger o hospedeiro de uma variedade de patógenos, como bactérias, vírus, fungos, parasitas e tumores. Pode ser dividido em barreiras epiteliais e constituintes celulares e humorais de imunidade inata (não específica) e adquirida (específica). Esses constituintes interagem de maneiras múltiplas e altamente complexas. Mais de meio século de pesquisa mostrou que a vitamina C é um jogador crucial em vários aspectos do sistema imunológico, particularmente na função das células imunológicas. (CARR; MAGGINI, 2017).

A vitamina C (ácido ascórbico, abreviado como AA) é sintetizada por todas as plantas e pela maioria dos animais (SMITH; HODGES, 1987). É sintetizado por todas as espécies, exceto por primatas de ordem superior, porquinhos-da-índia e algumas espécies de morcegos, peixes e pássaros. Essas espécies dependem de um suprimento adequado de vitamina C de sua dieta (LYKKESFELDT; MICHELS; FREI, 2014).

Os benefícios da vitamina C para a saúde foram entusiasticamente promovidos por quase duas décadas pelo proeminente professor de Stanford e ganhador duplo do Nobel (Química, 1954 and Peace 1962), Dr. Linus Pauling. A Vitamina C foi proposta como um potencial: cura para o comum resfriado, estimulador do sistema imunológico, preventivo de câncer, protetor contra doenças cardiovasculares e derrame, agente para diminuir problemas de saúde pré-natal, e muito mais (DUERBECK; DOWLING; DUERBECK, 2016).

O ácido ascórbico é um doador de elétrons e atua como cofator para quinze enzimas dos mamíferos. Dois transportadores dependentes de sódio são específicos para o ácido ascórbico, e seu produto de oxidação ácido desidroascórbico é transportado por transportadores de glicose (PADAYATTY; LEVINE, 2016).

No interior das células, o ácido desidroascórbico é reduzido a ácido ascórbico, que então interage com diferentes sistemas enzimáticos, como monooxigenases, dioxigenases e hidroxilases, envolvidos na regulação de inúmeros processos biológicos. (KOUAKANOU et al., 2021). O ácido ascórbico é diferentemente acumulado pela maioria dos tecidos e fluidos corporais. As concentrações de vitamina C no plasma e nos tecidos dependem da quantidade consumida, da biodisponibilidade, da excreção renal e da utilização. (PADAYATTY; LEVINE, 2016).

A deficiência de vitamina C é geralmente devido à falta de uma quantidade diária. O escorbuto é caracterizado pela ocorrência de fadiga, mialgia, artralgia, púrpura, distúrbios hemorrágicos e, posteriormente, por manifestações dentárias. Os sinais biológicos são inespecíficos: anemia, hipocolesterolemia, hipoalbuminemia (FAIN O, 2013).

A absorção, distribuição, metabolismo e excreção de vitC em humanos é altamente complexa e diferente da maioria dos compostos de baixo peso molecular. A maior parte da captação intestinal, distribuição de tecido e recaptção renal é tratada pela família de proteínas do transportador vitC dependente de sódio (SVCT) que co-transporta íons de sódio e ascorbato (ASC) através das membranas com a capacidade de gerar gradientes de concentração consideráveis. (LYKKESFELDT; TVEDEN-NYBORG, 2019).

A ingestão oral de alimentos ou suplementos é a principal via de administração para vitC. VitC é onipresente na natureza e, particularmente, frutas e vegetais contêm quantidades relativamente grandes de ASC. Para indivíduos saudáveis, é possível obter quantidades suficientes de vitC por meio da dieta, desde que contenha grandes

quantidades de fontes ricas em vitC. No entanto, em muitas doenças e em pessoas com estado de vitC muito pobre, incluindo fumantes, por exemplo, a ingestão alimentar pode ser insuficiente para fornecer quantidades adequadas (LYKKESFELDT; TVEDEN-NYBORG, 2019).

A dose diária recomendada de vitamina C é em média 75 mg para mulheres e 90 mg para homens - uma dieta adequada fornece isso, razão pela qual a deficiência de vitamina C é rara hoje em dia e se aplica a casos especiais como desnutrição, má absorção, doenças de rins e fumantes. Porém, há sugestões de que o fato das doses recomendadas estarem muito baixas está associado ao estilo de vida atual, ao estresse e a uma dieta incorreta, rica em produtos altamente processados e açúcar, que inibe a absorção do ácido ascórbico (KAŻMIERCZAK-BARAŃSKA et al., 2020).

A vitamina C também tem outros efeitos. A vitamina C melhora a função imunológica e facilita a absorção de ferro, redução de intermediários de ácido fólico e síntese de colágeno (cicatrização de feridas), cortisol, catecolaminas e carnitina. (OUDEMANS-VAN STRAATEN; MAN; DE WAARD, 2014).

Evidências crescentes consideram o uso de compostos naturais na prevenção e tratamento do câncer. A aplicação intravenosa de altas concentrações de vitamina C (ácido ascórbico, AA), tem sido usada desde a década de 1970 para o tratamento do câncer (VENTURELLI et al., 2015).

A evidência epidemiológica indica de forma consistente e forte que a vitamina C tem um efeito protetor contra uma variedade de tumores humanos. Muitos mecanismos diferentes foram propostos para explicar o potencial benéfico e efeito protetor da vitamina C (SAUBERLICH, 1994).

O uso do AA em contexto clínico está essencialmente relacionado à adoção de novas estratégias terapêuticas baseadas em esquemas de combinação onde o AA desempenha um papel quimiossensibilizador. Enquanto alguns estudos determinam que ele pode proteger as células cancerosas da quimioterapia, outros reconhecem que as concentrações farmacológicas de AA podem sensibilizar as células cancerosas à quimioterapia, aumentando seu efeito antineoplásico. (PIRES et al., 2018).

A extensa literatura demonstra que os pacientes com câncer apresentam deficiência de vitamina C correlacionada com redução da ingestão oral, inflamação, infecção, processos de doença e tratamentos como radiação, quimioterapia e cirurgia (KLIMANT et al., 2018).

A vitamina C intravenosa em altas doses (IV) tem sido administrada por médicos por muitas décadas como uma terapia complementar e alternativa para pacientes com câncer. No entanto, o status da vitamina C em pacientes com câncer não é frequentemente levado em consideração, apesar de seu potencial para suportar muitas funções biológicas. A vitamina C é bem conhecida por suas propriedades antioxidantes potentes, sendo capaz de eliminar os radicais livres e espécies reativas de oxigênio, e está associada à diminuição dos marcadores de estresse oxidativo *in vivo* (CARR; VISSERS; COOK, 2014).

Para entender o mecanismo da atividade anticâncer de AA, muitos grupos de pesquisas trataram células cancerígenas de cólon, próstata, leucemia, linfoma, cérebro e estômago e células cancerosas transformadas química ou geneticamente com AA e mostraram inibição do crescimento do câncer e até morte de células cancerosas por meio de peróxido de hidrogênio - geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) mediadas (CHO et al., 2020).

A perda significativa de ácido ascórbico em pacientes com câncer é um aspecto bioquímico que indica necessidade e utilização amplificada dessa substância para potencializar diversos fatores de resistência do vetor (CAMERON; PAULING, 1976).

3.3 Ranitidina

Distúrbios do aparelho digestivo alto são bastante frequentes e acabam sendo uma manifestação de diferentes doenças, mas principalmente das doenças pépticas, ou seja, das doenças determinadas pela disfunção cloridropéptica: a doença de refluxo gastro-esofágico (DRGE), a úlcera péptica gastroduodenal e a dispepsia funcional (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2006).

Na abordagem farmacológica para o tratamento destes distúrbios são utilizados os antagonistas de receptores H₂, os inibidores de bomba de prótons, os antiácidos e quando necessário, uso de antibióticos, além da recomendação de uma dieta saudável, sem alimentos irritantes, e minimização de situações de ansiedade (BERTACCINI; CORUZZI, 1989; HOOGEWERF; PASRICHA, 2006; RANG; DALE, 2011).

A histamina está localizada em todo o organismo, com altas concentrações nos pulmões, pele e trato gastrointestinal. É sintetizado e armazenado em mastócitos e basófilos. Desempenha um papel em múltiplos mecanismos imunológicos e

fisiológicos, estimulando a secreção gástrica, inflamação, contração do músculo liso, vasodilatação, permeabilidade e muito mais. A histamina também funciona como neurotransmissor. É sintetizado em neurônios histaminérgicos localizados no hipotálamo posterior. Esses neurônios têm axônios que se estendem por todo o cérebro. A histamina exerce seus efeitos por meio de 4 subtipos de receptores acoplados à proteína G 7-transmembrana; H₁, receptores H₂, H₃ e H₄ (WORM; FALKENBERG; OLESEN, 2019).

Os antagonistas do receptor da histamina₂ são úteis para a prevenção de ulceração por estresse e recorrência de úlcera gástrica e duodenal. Quatro bloqueadores de histamina₂ foram aprovados para uso clínico: cimetidina, famotidina, ranitidina e nizatidina. (LIPSY RJ; FENNERTY B; FAGAN TC, 2021).

O cloridrato de ranitidina é um dos agentes dessa classe mais utilizados, comumente encontrado como comprimidos de 150 e 300 mg. A distribuição de compostos extemporâneos tem se mostrado uma alternativa quando o paciente procura para medicamentos com doses personalizadas ou de menor custo, resultando em aumento progressivo desse tipo de medicamento. (SILVA et al., 2018).

A ranitidina foi comercializada pela primeira vez em 1981; desde então, muitos pacientes foram tratados com essa substância, de tal forma que muita experiência foi acumulada sobre a segurança deste antagonista do receptor H₂ da histamina no tratamento da doença gastroduodenal. (VIAL et al., 1991).

A incidência de efeitos colaterais gerais em menos de 2% é muito semelhante ao placebo. Dores de cabeça, cansaço, tonturas e distúrbios gastrointestinais leves (por exemplo: diarreia, prisão de ventre e náuseas) estão entre as queixas mais frequentes, mas quando apresentas, muito raramente resultava na interrupção do tratamento (VIAL et al., 1991).

O medicamento é muito bem tolerado e raramente associado a reações adversas graves ou interações medicamentosas clinicamente significativas. Mesmo em altas doses, a ranitidina parece desprovida de efeitos antiandrogênicos. A ranitidina é claramente comparável ou superior à maioria dos outros agentes antiúlcera no tratamento e prevenção de uma variedade de distúrbios gastrointestinais associados à secreção de ácido gástrico. (GRANT; LANGTRY; BROGDEN, 1989).

Nos últimos anos, essas drogas têm sido frequentemente substituídas por inibidores da bomba de prótons devido à sua potência melhorada e em vista de relatos

anedóticos de ações supressoras de mielo dos antagonistas H2. (VILA-LEAHEY et al., 2016).

No entanto, foram estabelecidas interações farmacocinéticas significativas entre a ranitidina e vários outros medicamentos. Essas interações podem ser atribuídas a um efeito da ranitidina no metabolismo hepático ou a um efeito na absorção de medicamentos administrados concomitantemente. (KIRCH; HOENSCH; JANISCH, 1984).

Os cânceres gastrointestinais (GI) ainda são uma causa importante de mortes relacionadas a tumores. Abordagens terapêuticas convencionais como cirurgia, quimioterapia e radioterapia são indispensáveis, mas insuficientes. Apesar dos avanços na imunoterapia e outras estratégias de tratamento convencionais, alguns estudos podem argumentar que ainda estamos longe de curar o câncer (DINDAR; ALBAYRAK; OZET, 2019).

De acordo com dados do GLOBOCAN 2018, o câncer gástrico é a terceira causa de morte por câncer no mundo, atrás apenas do câncer de pulmão e colorretal na mortalidade geral. Cerca de 1 em 12 de todas as mortes oncológicas são atribuíveis ao câncer gástrico. O câncer gástrico tem a quinta maior incidência entre os cânceres, com 5,7% de todos os novos casos atribuíveis à doença. Mais de um milhão de novos casos de câncer gástrico são diagnosticados, em todo o mundo, a cada ano. O câncer gástrico também é um dos principais cânceres mais influenciado pelo comportamento e, portanto, evitável (RAWLA; BARSOUK, 2019).

As nitrosaminas são produzidas pela reação de nitratos e nitritos a outras proteínas. A *N*-nitrosodimetilamina (NDMA) é uma das nitrosaminas de ocorrência mais frequente em vários alimentos. Altas concentrações de nitrosaminas na dieta são cancerígenas. Em 2019, a Food and Drug Administration dos EUA anunciou que certos medicamentos de ranitidina foram retirados porque os níveis de NDMA neles eram mais altos do que o limite de ingestão aceitável (KIM et al., 2021).

Depois que estudos recentes mostraram que a ranitidina se degrada para formar altos níveis de *N*-nitrosodimetilamina (NDMA), um potente carcinógeno em modelos animais e provável carcinógeno humano, a Food and Drug Administration (FDA) dos EUA solicitou a suspensão das vendas de ranitidina (KANTOR et al., 2021).

A exposição humana ao NDMA geralmente ocorre por meio da dieta, através do consumo de água contaminada e/ou alimentos que contêm nitrosaminas (por exemplo, carne curada) ou alquilaminas (por exemplo, chá). A exposição também pode

ocorrer por meio do uso de produtos cosméticos contendo NDMA e em ambientes ocupacionais (MCGWIN, 2020).

Enquanto isso, frutas e vegetais são ricos em carotenóides, folato, fitoquímicos e vitamina C, que ajudam a modular as enzimas de metabolização xenobiótica durante a digestão. Frutas e vegetais também contêm numerosos antioxidantes que previnem contra danos metabólicos. A vitamina C, também conhecida como ácido ascórbico, é um poderoso antioxidante encontrado em altas concentrações nas frutas cítricas. Estudos de caso-controle descobriram que uma maior ingestão de frutas e vegetais foi associada a um risco 37% menor de câncer gástrico. Fontes antioxidantes não dietéticas, como chá verde, suplementos de vitamina A, C e E, e selênio, têm mostrado resultados mistos na prevenção do câncer gástrico (RAWLA; BARSOUK, 2019)

Até o momento, vários estudos de outros países observaram que não há associação demonstrável entre o uso de ranitidina em longo prazo e futuro câncer gástrico. No entanto, outros estudos mostraram que a ranitidina contaminada por NDMA pode aumentar o risco de câncer (KIM et al., 2021).

3.4 Testes de Toxicidade

3.4.1 Artemia salina

A *Artemia salina* é uma espécie de microcrustáceo da ordem Anostraca, encontrado em águas salgadas, é um organismo regulador hipo / hiper-osmótico capaz de manter as concentrações de íons de hemolinfa, dentro de limites estreitos sobre uma gama de salinidade externa de NaCl a 0,26% em ambientes supersaturados (CARVALHO et al., 2009; ATES et al., 2013). O uso da *Artemia salina* tem relevância ecológica nos ecossistemas marinhos, pois estes organismos são uma representação da comunidade zooplânctônica e vital na ecologia das praias. A *Artemia salina* é conhecida por sua capacidade de se adaptar a diferentes condições ambientais, tornando-se um organismo de teste crucial na ecotoxicologia (REGUEIRAS et al., 2018).

Seus cistos se adaptaram ao estresse de várias maneiras. Eles são cercados por uma parede celular rígida impermeável à maioria dos compostos químicos e que funciona como um escudo contra a radiação ultravioleta. Os cistos de *Artemia salina* contêm grandes quantidades de trealose, um açúcar não redutor com função de preservar membranas e proteínas durante a dessecação (MACRAE et al., 2016).

O ensaio de letalidade de *Artemia salina* é um bioensaio padronizado em pesquisa marinha e aquática que tem sido sucessivamente empregado para fornecer dados iniciais de toxicidade que pode ser apoiada por bioensaios mais específicos e mais sofisticados, uma vez que os compostos ativos tenham sido isolados (REGUEIRAS et al., 2018; APU et al., 2010).

Vários estudos têm sido desenvolvidos utilizando o teste de toxicidade em *Artemia salina*, o qual é empregado desde a extratos até substâncias isoladas com a finalidade de encontrar a LC₅₀, justificando assim seu uso como um dos primeiros testes a serem utilizados na investigação da concentração a ser utilizada (DO AMARANTE et al., 2011; ARCANJO et al., 2012; ULLAH et al., 2013), bem como correlacionar a toxicidade do bioensaio com outras atividades farmacológicas, tais como antifúngicos, antiviral e antimicrobiana (MACBAE et al., 1988), antiparasitária (SAHPAZ et al., 1994), antitripanossoma (ZANI et al., 1995), antiplasmódica (DO AMARANTE et al., 2011) e antitumoral (MEYER et al., 1982; MCLAUGHLIN; ROGERS, 1988; NUNES et al., 2009; ARCANJO et al., 2012).

É importante ressaltar que muitos fatores podem interferir no êxito do teste de toxicidade utilizando *Artemia salina*, como luz, temperatura, alimentação da *Artemia* sp., tempo de eclosão dos ovos, água utilizada no teste, contaminação das vidrarias e das substâncias (BUENO et al., 2015).

3.4.2 *Allium cepa*

O teste de *Allium cepa* criado por Levan (1938) demonstrava inicialmente distúrbios no fuso mitótico devido ao uso de colchicina. Posteriormente, Fiskesjo em 1985 estabeleceu algumas modificações na técnica com o objetivo de torná-lo em uma ferramenta para monitoramento ambiental, entretanto, o teste permite uma avaliação mais ampla em produtos químicos (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

O sistema teste de *Allium cepa* é um excelente parâmetro de análise citotóxica, para a observação da ocorrência de alterações cromossômicas no ciclo celular de *Allium cepa* (AMARAL et al., 2007; FACHINETTO; TEDESCO, 2009). Testes biológicos de mutagenicidade com plantas têm como objetivos verificar a frequência de micronúcleos, aberrações cromossômicas e alterações no índice mitótico nas células do meristema radicular (MELLO et al., 2004). Estes testes são de baixo custo, fáceis de usar e produzem resultados semelhantes aos ensaios em animais por causa da semelhança em suas composições genéticas, daí mesma resposta aos agentes mutagênicos. As células de

Allium cepa possuem cromossomos metacêntricos permitindo uma melhor avaliação microscópica (AKINBORO et al., 2011).

As aberrações cromossômicas identificadas no ensaio são indicativas de genotoxicidade (RANK; NIELSEN, 1993), enquanto a avaliação mutagênica é proposta via a contagem de micronúcleos, o qual é um indicador mais efetivo e mais simples de danos citológicos (MA et al., 1995). Assim, tanto os fragmentos quanto cromossomos inteiros podem ser reincorporados no núcleo principal durante o ciclo celular (FENECH et al., 2002).

4 MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA

4.1 Preparo das substâncias

As diluições da Cisplatina (10 μ M), ciclofosfamida (20 μ g/ml) e doxorrubicina (2 μ g/ml) foram preparadas em solução fisiológica 0,9% (Freedman e Partridge, 2011; Focaccetti et al. 2015). A ranitidina será utilizada na forma líquida nas concentrações de 1 μ M (baixa) e 20 μ M (alta). Os grupos experimentais foram formados por: 1) Ranitidina – 1 μ M, 2) Ranitidina – 20 μ M, 3) CPA - 20 μ g/ml; 4) DOX - 2 μ g/ml; 5) CPA Ranitidina – 1 μ M; 6) CPA + Ranitidina – 20 μ M; 7) DOX + Ranitidina – 1 μ M; 8) DOX + Ranitidina – 20 μ M; 9) vitamina C – 1mM; 10) vitamina C 0,05mM; 11) vitamina C 0,01mM; 12) Controle Negativo (salino).

4.2 Bioensaios de letalidade em *Artemia salina* (BSLB)

Para a preparação da *A. salina*, os cistos do microcrustáceo foram adquiridos no mercado central de Teresina-PI, Brasil. Esta foi uma rápida modificação do método descrito por Meyer et. al. (1982). Foram incubados cistos do microcrustáceo (*Artemia salina*) em Becker contendo uma mistura 50:50 de solução salina (água do mar artificial: 23,0 g de NaCl, 11,0 g de MgCl₂.6H₂O, 4 g de Na₂SO₄, 1,3 g de CaCl₂.2H₂O, 0,7 g de KCl em 1 L de água destilada e ajustado para pH 8,5 utilizando Na₂CO₃, 1N) e água mineral sob arejamento constante durante 48 h a 27 \pm 3° C. Após incubação, os náuplios ativos livres de conchas do microcrustáceo foram recolhidos a partir da porção mais iluminada da câmara de incubação e utilizados para o ensaio. Dez náuplios foram retirados por meio de uma pipeta Pasteur e inseridos em cada tubo de ensaio contendo 4,5 mL da solução salina. Em cada experimento, foi adicionado 0,5 mL da amostra teste (tratamentos) a 4,5 mL de solução de salina, mantendo a temperatura de eclosão, sob a luz. Os náuplios sobreviventes foram contados. Foram utilizados três tubos para cada tratamento. A mortalidade de *A. salina* foi contada após 24h e 48h de exposição às substâncias testadas. Ao todo foram testados 15 grupos experimentais, nos dois tempos de exposição (24h e 48h), sendo 10 náuplios por grupo em três tubos de ensaio, totalizando 900 náuplios.

4.3 Teste *Alium cepa*

O teste *Alium cepa* foi realizado com base no protocolo descrito por Fiskesjo (1985). As cebolas foram mantidas em contato direto com os antineoplásicos no período de 72 h em temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, em ambiente escuro e com troca da solução a cada 6h em virtude do tempo de meia vida das drogas. As concentrações testadas de ciclofosfamida e DOX foram 20 $\mu\text{g/mL}$, 2 $\mu\text{g/mL}$ e 20/2 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente; as concentrações de vitamina C usadas foram de 1mM, 1 μM e 50 μM ; para o controle negativo (CN) foi utilizado água de torneira como tratamento e para o controle positivo (CP) foi utilizado sulfato de cobre (CuSO_4) 0,0006 mg/ml diluído em água destilada. Após o tratamento, as raízes germinadas com tamanho superior a 2 cm ou danificadas foram descartadas. As demais raízes foram retiradas e fixadas por 24h em uma solução de Carnoy (3:1). Em seguida, as raízes foram lavadas com água destilada (3 banhos de 5 minutos cada), fez-se a hidrólise das raízes com HCl (1N) a 60°C por 11 minutos e repetiu-se o banho. As estruturas basófilas foram coradas mergulhando-as no reativo de Schiff por 2 horas e depois lavadas com água corrente. Para a montagem da lâmina, a região apical da raiz foi retirada com um bisturi e adicionada uma gota de carmim acético 2% para a coloração da região nuclear cobrindo-a com uma lamínula. Realizou-se uma leve pressão sobre a lamínula com um lápis borracha para o esmagamento da raiz. As estruturas foram observadas com o aumento de 400x no microscópico óptico e foram contadas 5.000 células por concentração testada (1.000 células/lâmina). O potencial citotóxico foi determinado pelo índice mitótico (IM). O IM de cada bulbo foi definido como o número de células em divisão por 1000 células.

4.4 Análise de Fragmentação de DNA em gel de Agarose

Para o teste, $0,5 \times 10^6$ da linhagem celular de leucócitos isolada de sangue periférico foram plaqueadas em meio RPMI 1640 e tratadas com 100, 200 e 400 $\mu\text{g} / \text{ml}$ de Ranitidina por 24 horas a 37°C e 5% de CO_2 . Após a exposição, o DNA celular foi extraído usando o protocolo Salting Out (Miller et al. 1988). A quantificação do DNA foi realizada com o sistema dsDNA Quantfluor (Promega, Madison, WI - USA). Para eletroforese, 200 ng de DNA foram adicionados e revelados em gel de agarose a 0,8%, utilizando 1: 10000 Diamond Dye para cada amostra. O gel foi examinado e fotografado por um sistema de documentação em gel ultravioleta. A eletroforese foi realizada a 45V e 50mA por 4h. O marcador padrão de DNA de 100 pb (kasvi) e 10 μM de cisplatina foram utilizados como marcador e controle positivo, respectivamente.

4.5 Análise Estatística

Os resultados foram considerados significativos a partir de uma correlação positiva de 95%. Foram aplicados a Análise de Variância (ANOVA) e Bonferroni como post hoc teste, por meio do programa GraphPad Prism versão 8.00 para Windows, (GraphPad Software, San Diego California USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Bioensaio de Letalidade em *Artemia salina* (BSLB).

5.1.1 Ranitidina

No presente trabalho, foi avaliado a toxicidade da ranitidina isolada, utilizando células de origem animal provenientes do microcrustáceo *Artemia salina*. Os dados mostraram que a ranitidina isolada apresentou baixa toxicidade em todas as concentrações analisadas (1000µg/ml, 500µg/ml, 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml) no tempo de exposição de 24 horas (Tabela 01). Já no tempo de exposição de 48 horas, a toxicidade foi maior quando comparado ao primeiro tempo de exposição (tabela 01). A CL50 da Ranitidina ficou em 302,5 ug/ml, o que segundo a escala de toxicidade proposta por McLaughlin e colaboradores, foi classificada como toxicidade moderada (Mclaughlin et al. 1998).

Tabela 01: Atividade tóxica da Ranitidina em diferentes concentrações (µg/ml) por meio do Bioensaio de Letalidade em *Artemia salina* (BSLB).

Concentrações	% de mortalidade de Náuplios	
	24 h	48 h
CN (solução salina)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Diclomato de Potássio	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
1000,0 µg/ml	5,00 ± 10,00 ^b	85,00 ± 10,00 ^a
500,0 µg/ml	5,00 ± 10,00 ^b	57,50 ± 5,00 ^a
250,0 µg/ml	0,00 ± 0,0 ^b	55,00± 5,77 ^{ab}
125,0 µg/ml	2,50 ± 5,00 ^b	30,00 ± 8,10 ^{ab}
62,5 µg/ml	2,50 ± 5,00 ^b	5,00 ± 5,00 ^b
CL₅₀ (µg/ml)	>1000	302,5
IC	-	246.3 to 371.5
r ²	0.02075	0.8772

5.1.2 Vitamina C

A vitamina C nas concentrações de 1000 a 500 µg/ml apresentou as maiores letalidades, tendo valores estatisticamente significantes em relação ao CN para os tempos de exposição (TE) analisados (24 e 48h). Com as concentrações utilizadas na diluição seriada, o valor de CL₅₀ foi determinado: 258,4 e 289,4 µg/ml para os TE de 24 e 48h, respectivamente. Assim, baseado na classificação de Meyer et al., (1982) a vitamina não se mostrou tóxica. Este resultado demonstra que somente altas concentrações a partir de 500 µg/ml do extrato podem impactar negativamente o metabolismo de *A. Salina* (Tabela 2).

Tabela 2: Atividade tóxica da Vitamina C em diferentes concentrações (µg/ml) por meio do Bioensaio de Letalidade em *Artemia salina* (BSLB). Valores são as medias e desvio padrão, ap<0.05 comparado com o CN, bp<0.05 comparado com o Diclomato de Potássio; Anova two way, com pós teste de Tukey. Cada concentração foi executada com três tubos (10 náuplios vivos / tubo); CL50: Concentração letal 50% em µg/ml. IC: Intervalo de confiança; r²: Determinação de coeficiente.

Concentrações	% de mortalidade de Náuplios	
	24 h	48 h
CN (solução salina)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Diclomato de Potássio	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00
1000,0 µg/ml	100,00 ± 0,00 ^a	100,00 ± 0,00 ^a
500,0 µg/ml	100,00 ± 0,00 ^a	100,00 ± 0,00 ^a
250,0 µg/ml	40,00 ± 10,0 ^{ab}	33,30 ± 5,77 ^{ab}
125,0 µg/ml	30,00 ± 10,0 ^{ab}	26,6 ± 20,80 ^{ab}
62,5 µg/ml	13,00 ± 5,7 ^{ab}	10,00 ± 10,00 ^b
CL₅₀ (µg/ml)	258,4	289,4
IC	213.4 to 312.8	236.6 to 353.9
r ²	0.9075	0.8994

5.2 Teste de *Alium Cepa*

5.2.1 Ranitidina

Os dados relativos ao índice mitótico (IM), em meristemas de raízes de *A. cepa*, mostraram que os antineoplásicos isolados e em associação inibiram significativamente ($p < 0,01$) a divisão celular em relação ao controle negativo (CN), indicando atividade citotóxica para os tempos de exposição avaliados. Foi possível perceber que a ranitidina aumenta a toxicidade das células de maneira dose dependente (Tabela 3). Quanto maior a dose, maior a toxicidade. Ambas as doses de ranitidina foram tão citotóxicas quanto o controle (sulfato de cobre). Não houve diferença entre doses de ranitidina, mas quando associada ao quimioterápico Ciclofosfamida, ela aumentou a citotoxicidade das células meristemáticas de *Allium cepa*. A ranitidina associada ao quimioterápico DOX não apresentou aumento de citotoxicidade.

Tabela 3: Efeito tóxico e citotóxico da Ranitidina em células meristemáticas de *Allium cepa* no tempo de 24 e 48hs. One-way ANOVA para TR e Two-way ANOVA para Fases do ciclo celular com pós-teste de Tukey. Valores de significância, ^a: comparado ao controle negativo (CN); ^b: comparado ao CP; ^c: comparado a Ranitidina 1mM; ^d: comparado a Ranitidina 20 mM; ^e: comparado a CPA; ^f: comparado a DOX. $p < 0,05$.

Tratamento	TE (hora)	Fases do ciclo celular					IM (%)
		Intérfase	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	
CN	24hs	493,4 ± 17,0	409 ± 9,1	39,4 ± 3,8	29,8 ± 3,1	27,6 ± 2,8	50,6 ± 1,7
CP		892 ± 20,1 ^a	43 ± 6,9	29 ± 4,1	19 ± 4,9	17 ± 3,1	10,8 ± 3,1 ^a
1mM Ranitidina		892 ± 20,5 ^a	93,6 ± 4,9	3 ± 1,5	1,8 ± 1,78	1,6 ± 1,5	10,8 ± 2 ^a
20mM Ranitidina		876,2 ± 43,6 ^a	110,2 ± 32,5	4,6 ± 2	5,4 ± 1,5	2,6 ± 1,1	12,4 ± 4,3 ^a
CPA 20µg/ml		876,8 ± 15,6 ^a	62,6 ± 14,6	29 ± 5,4	18,8 ± 3,3	13,6 ± 2,3	12,4 ± 1,4 ^a
CPA + 1mM Ranitidina		871 ± 22,7 ^a	111,6 ± 21,5	6,4 ± 1,5	2,8 ± 2,7	2,4 ± 1,8	12,9 ± 2,2 ^a
CPA + 20mM Ranitidina		905 ± 7,3 ^a ^e	89,8 ± 4,6	2 ± 1,5	3 ± 1,8	1,2 ± 1,3	9,5 ± 0,7 ^a
DOX 2µg/ml		887,2 ± 11,2 ^a	62,6 ± 14,6	29 ± 5,4	18,8 ± 3,3	13,6 ± 2,3	11,3 ± 1,1 ^a
DOX + 1mM Ranitidina		873,6 ± 17,6 ^a	107 ± 5,9	1,4 ± 1,6	1,6 ± 1,1	2,8 ± 1,7	12,6 ± 1,7 ^a
DOX + 20mM Ranitidina		897,4 ± 17,6 ^a	93,8 ± 3,4	2,2 ± 1,3	1,6 ± 1,1	1,2 ± 0,8	10,2 ± 1,2 ^a
CN	48hs	493,4 ± 17,0	409 ± 9,1	39,4 ± 3,8	29,8 ± 3,1	27,6 ± 2,8	50,6 ± 1,7 ^a
CP		892 ± 20,1 ^a	43 ± 6,9	29 ± 4,1	19 ± 4,9	17 ± 3,1	10,8 ± 3,1 ^a
1mM Ranitidina		773,2 ± 36,7 ^a	194,4 ± 17,8	6 ± 1,2	8,2 ± 0,8	5,4 ± 1,5	22,7 ± 3,6 ^a
20mM Ranitidina		818,6 ± 40 ^a ^c	156,6 ± 32	7,6 ± 1,5	6,4 ± 1,5	4,0 ± 1,5	18,1 ± 4 ^a
CPA 20µg/ml		876,8 ± 15,6 ^a ^c	62,6 ± 14,6	29 ± 5,4	18,8 ± 3,3	13,6 ± 2,3	12,4 ± 1,4 ^a
CPA + 1mM Ranitidina		857,6 ± 11 ^a ^c	114 ± 12	3 ± 1,5	3,2 ± 1,4	1,6 ± 1,1	14,2 ± 1,1 ^a
CPA + 20mM Ranitidina		900,4 ± 9,7 ^a ^{ce}	95 ± 3,8	2 ± 1	1,2 ± 1,3	0,4 ± 0,5	9,9 ± 0,9 ^a
DOX 2µg/ml		887,2 ± 11,2 ^a ^c	62,6 ± 14,6	29 ± 5,4	18,8 ± 3,3	13,6 ± 2,3	11,3 ± 1,1 ^a
DOX + 1mM Ranitidina		875 ± 21,6 ^a ^c	112,6 ± 13,3	2,8 ± 1,4	1,6 ± 1,5	1,8 ± 0,4	12,5 ± 2,1 ^a
DOX + 20mM Ranitidina		884,6 ± 12,2 ^a ^c	88,2 ± 3,2	2,6 ± 1,5	1,2 ± 0,8	0,2 ± 0,4	11,4 ± 1,2 ^a

TE: Tempo de exposição; M: Índice mitótico.

5.2.2 Vitamina C

Em relação a citotoxicidade de células meristemáticas de *Allium cepa*, verificou-se que todas as doses de AA do estudo foram citotóxicas quando comparadas ao controle negativo. Além disso, as amostras mostraram índices mitóticos mais baixos que o próprio controle positivo (sulfato de cobre 0,6µg/ml). Na dose de 0,05mM de AA associada ao quimioterápico Doxirrubicina (2µg/ml) verificou-se um aumento do índice mitótico quando comparado com ao AA 0,05mM.

Tabela 4: Efeito tóxico e citotóxico do AA em células meristemáticas de *Allium cepa* no tempo de 24 e 48h. One-way ANOVA para TR e Two-way ANOVA para Fases do ciclo celular com pós-teste de Tukey. Valores de significância, ^a: comparado ao controle negativo (CN); ^b: comparado ao CP; ^c: comparado ao AA 1mM; ^d: comparado ao AA 0,05mM. $p < 0,05$.

Tratamento	TE (hora)	Fases do ciclo celular					IM (%)
		Intérfase	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	
CN	24hs	493,4 ± 17,0	409 ± 9,1	39,4 ± 3,8	29,8 ± 3,1	27,6 ± 2,8	50,6 ± 1,7
CP		892 ± 20,1 ^a	43 ± 6,9 ^a	29 ± 4,1	19 ± 4,9	17 ± 3,1	10,8 ± 3,1 ^a
1mM AA		971,6 ± 19,6 ^{ab}	27,8 ± 19,3 ^{ab}	0,2 ± 0,4 ^a	0,4 ± 0,5 ^a	0 ± 0 ^a	2,8 ± 1,9 ^a
0.05mM AA		991,6 ± 2,7 ^{ab}	8,2 ± 1,9 ^{ab}	0,4 ± 0,8 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0,9 ± 0,3 ^a
0.01mM AA		973 ± 22,7 ^{ab}	24,8 ± 22,2 ^{ab}	1,4 ± 1,6 ^a	0,4 ± 0,5 ^a	0,4 ± 0,8 ^a	3,8 ± 2,5 ^a
0.05mM AA + 2µg/ml DOX		968,8 ± 27 ^{abcd}	47,2 ± 30 ^{ad}	3 ± 3,5 ^a	0,2 ± 0,4 ^a	1,2 ± 2,1 ^a	5,2 ± 3,5 ^a
CN	48hs	493,4 ± 17,0	409 ± 9,1	39,4 ± 3,8	29,8 ± 3,1	27,6 ± 2,8	50,6 ± 1,7
CP		892 ± 20,1 ^a	43 ± 6,9 ^a	29 ± 4,1	19 ± 4,9	17 ± 3,1	10,8 ± 3,1 ^a
1mM AA		987 ± 10,1 ^{ab}	12,4 ± 9,3 ^{ab}	0 ± 0 ^{ab}	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	1 ± 0,8 ^a
0.05mM AA		987 ± 3,8 ^{ab}	13 ± 3,8 ^{ab}	0 ± 0 ^{ab}	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	1,3 ± 0,3 ^a
0.01mM AA		987,4 ± 9,5 ^{ab}	12,4 ± 9,3 ^{ab}	0 ± 0 ^{ab}	0 ± 0 ^a	0,2 ± 0,4 ^a	12 ± 0,9 ^a
0.05mM AA + 2µg/ml DOX		916 ± 65,4 ^{abcd}	101,4 ± 41,9 ^{abcd}	2,2 ± 2,9 ^{ab}	1,4 ± 2,6 ^a	1,4 ± 2,1 ^a	10,7 ± 4,6 ^a

TE: Tempo de exposição; M: Índice mitótico.

5.3 Fragmentação de DNA em gel de agarose:

A análise de fragmentação de DNA revelou que as diferentes concentrações utilizadas (100-400µg/ml) mostraram uma banda de alto peso molecular com DNA genômico íntegro e pouca fragmentação em todas as amostras. Pode-se verificar a total fragmentação do DNA nas amostras de controle positivo (Cisplatina), onde se verifica ausência de Banda íntegra de DNA genômico e alta concentração de bandas de baixo peso molecular. Nesse sentido, verifica-se que nas concentrações utilizadas, a Ranitidina não provocou danos a estrutura do DNA.

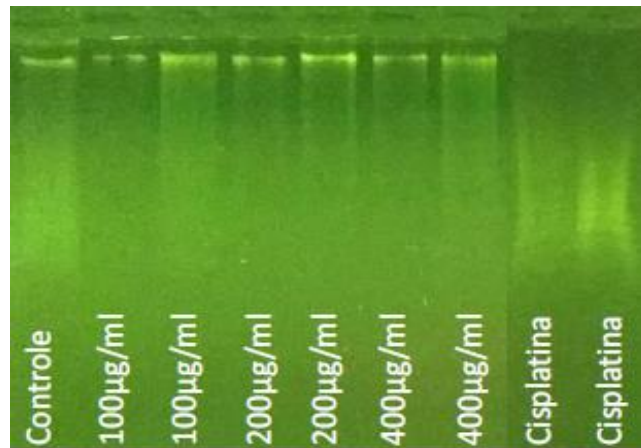


Figura 1: Fragmentação de DNA da Ranitidina em diferentes concentrações.

Dentre as inúmeras doenças que incidem na população, as lesões gástricas representam uma das mais importantes, pois afetam um número considerável de pessoas em todo o mundo (DONATINI et al, 2009). Um dos medicamentos mais utilizados para essa patologia são os bloqueadores de receptores de H2. Esses medicamentos tornaram-se os fármacos mais populares para o tratamento de lesões gástricas, tendo sido introduzidos na década de 70 (GIGLIO et al., 1993) e se tornaram uma das principais drogas utilizadas na prática clínica no Brasil (COELHO et al., 2009). Além do tratamento para lesões gástricas, outros efeitos desse medicamento não são bem esclarecidos.

Embora considerado um medicamento seguro com poucos efeitos colaterais, o impacto da ranitidina oral consistente no sistema imunológico não foi totalmente analisado. A ranitidina é recomendada para o tratamento dos efeitos colaterais gástricos associados à quimioterapia. Portanto, entender como as doses clinicamente relevantes de ranitidina podem afetar o sistema imunológico e sua ação no tumor é de grande importância. O potencial da ranitidina como adjuvante das imunoterapias para o câncer de mama e o impacto potencial dos antagonistas H2 sobre os resultados do câncer de mama deve ser considerado (HAILE ET AL, 2010).

Estudos que demonstram danos no DNA a nível de cromossomos são necessários para avaliação toxicogénica (SHARMA ET AL., 2015). Entre eles o teste de *Allium cepa* é um teste de grande importância para avaliação dos efeitos citotóxicos de uma substância que pode afetar materiais genéticos avaliados (ÖZKARA ET AL., 2015).

Em baixas concentrações milimolares, o ácido ascórbico é capaz de "matar" algumas linhagens celulares in vitro, enquanto in vivo gera radicais superóxido,

peróxido de hidrogênio e ascorbil extracelular, responsáveis por sua atividade citotóxica; No entanto, concentrações tão altas quanto 20 mM não representam nenhum risco para a linhagem de células não malignas (MCCARTY & CONTRERAS). Outros estudos confirmam que altas doses de ácido ascórbico são eficazes na morte celular, bem como inibição do crescimento tumoral in vivo (TAKEMURA et al. 2010). Corroborando este estudo, pesquisas descrevem que a vitamina C pode ser tóxica de maneira seletiva em alguns tipos de células, agindo como pró-oxidante, já que concentrações acima de fisiológicas (0,1 mM), entre 1 mM e 10 mM, são tóxicas para células neoplásicas in vitro, por exemplo, para células de melanoma e neuroblastoma, onde concentrações de 10 nM a 1 mM podem induzir apoptose (PARK 2013).

Estudos mostram que qualquer antioxidante capaz de reduzir a toxicidade causada nas células saudáveis, pode também ter o potencial de diminuir a efetividade do quimioterápico nas células malignas (HACISEVKI, 2009; SIRMALI et al., 2014). De outra forma, a literatura também relata que a vitamina C também pode desempenhar um efeito protetivo dose-dependente, prevenindo as células normais dos efeitos danosos causados pelo estresse oxidativo induzido por antineoplásicos sem comprometer a ação destas drogas (BHATTACHARYYA, MEHTA, 2000; ANTUNES; DARIN; BIANCHI, 2000). Assim, como evidenciado nos resultados do presente estudo e na literatura, os dados acerca do efeito da vitamina C ainda são conflitantes, uma vez que a vitamina pode atuar de modo a potencializar ou antagonizar os efeitos das drogas, e estudos clínicos que demonstrem os seus efeitos ainda são escassos (UNLU et al., 2016).

A expressão de H2 tem sido relatada em vários tipos de células tumorais incluindo alguns tipos de câncer de mama. Outras células dentro do microambiente do tumor também podem expressar H2, incluindo as células efectoras imunes, células endoteliais, células epiteliais, e fibroblastos. Sinalização H2 tem sido demonstrado que tanto aumenta como inibe o crescimento de células tumorais in vitro (Cricco et al 2018; Medina et al. 2006). Antagonistas de H2 têm sido relatados como sendo eficaz no tratamento de certos tipos de câncer, incluindo tumores colorretais que expressam H2 (Tonessen et al. 1988; Burtin et al. 1988; Bolton et al. 2000), embora o mecanismo destas respostas especificamente permaneça obscuro. Diante do exposto, indicativo de efeitos sobre a estabilidade do material genético, a proposta do monitoramento toxicogenético, com o uso de biomarcadores moleculares, da ranitidina, surge como

uma estratégia de importância para avaliação de patologias gastrointestinais e, contribuindo para o prognóstico e prevenção do câncer.

Devido aos efeitos colaterais dos quimioterápicos, a prescrição de suplementação vitamínica com o ácido ascórbico (AA) está sendo muito usada ultimamente (SUBRAMANI et al., 2014). Entretanto, esta suplementação pode ocasionar um efeito antagônico aos efeitos dos antineoplásicos, interferindo em sua ação e eficácia (WANG; WANG; YU, 2014), ou podendo atuar intensificando enzimas de reparo de DNA (WEAKLEY et al., 2010).

6 CONCLUSÃO

A ranitidina apresentou efeito citotóxico tanto quando foi avaliada isoladamente, como também quando foi associada aos quimioterápicos nos dois testes avaliados demonstrando assim, efeito similar aos mesmos. Devido à ampla utilização desse medicamento, é de grande importância a realização de pesquisas, por meio de outros bioensaios, como por exemplo, utilizando células humanas em cultura expostas a esse medicamento, para assim se determinar com propriedade o seu potencial citotóxico para a saúde humana.

No teste de *A. salina* conclui-se que o ácido ascórbico foi tóxico em altas concentrações, causando um impacto negativo ao metabolismo do microcrustáceo. Por meio do teste *Alium cepa*, os resultados do presente estudo indicam que a vitamina C nas doses utilizadas foram citotóxicas.

Assim, ressalta-se a necessidade de novos estudos para melhor elucidar os mecanismos de ação do AA e da ranitidina e os possíveis efeitos de seu uso como tratamento do câncer e riscos de tumores...

REFERÊNCIAS

- ASAIKKUTTIA, A.; BHAVANA, P. S.; VIMALAB, K.; KARTHIKA, M.; CHERUPARAMBATHCACRUSTACEAN, P. Effect of diferente levels dietary vitamin C on growth performance, muscle composition, antioxidant and enzyme activity of fresh water prawn, *Macrobrachium malcolmsonii*. **AquacultureReports**, v. 3, p. 229–236, 2016.
- AMARAL, A.M.; BARBÉRIO, A.; VOLTOLINI, J.C.; BARROS, L. Avaliação preliminar da citotoxicidade e genotoxicidade, da água da bacia do rio Tapanhon (SP- Brasil) através do teste *Allium* (*Allium cepa*). **Revista Brasileira de Toxicologia** 20, n.1 e 2, 2007.
- AKINBORO, A.; MOHAMMED, K.; RATHNASAMY, S.; MUNIANDY, V.R. Genotoxicity assessment of water samples from the Sungai Dua River in Pulau Pinang, Malaysia, using the *Allium cepa* test. **Tropical life sciences research**, v. 22, n. 2, p. 23, 2011.
- BUENO, Ariele Cardoso; PIOVEZAN, Marcel. Bioensaio toxicológico utilizando *Artemia salina*: fatores envolvidos em sua eficácia. **Instituto Federal de Santa Catarina**, 2015.
- BHATTACHARYYA, S.; MEHTA, P. The hepatoprotective potential of Spirulina and vitamin C supplementation in cisplatin toxicity. **Food & function**, v.3, n. 2, p.164-169, 2000.
- BHATTACHARYYA, S.; MEHTA, P. The hepatoprotective potential of Spirulina and vitamin C supplementation in cisplatin toxicity. **Food & function**, v.3, n. 2, p.164-169, 2000.
- BRAMBILLA, G. MALTIOOLI, F. MARTELLI, A. **Genotoxic and carcinogenic effects of antipsychotics and antidepressants**. **Toxicology**, 2009.
- BROWMAN, G. P.; HODSON, D. I.; MACKENZIE, R. J.; BESTIC, N.; ZURAW, L. Choosing a concomitant chemotherapy and radiotherapy regimen for squamous cell head and neck cancer: A systematic review of the published literature with subgroup analysis. **Head & Neck**, v. 23, n. 7, p. 579-589, 2001.
- BRUNTON, L. L, LAZO, J. S, PARKER, K. L. Goodman & Gilman. **Asbases Farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro: Editora Mc Graw Hill; 2006.
- 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**, v. 73, n. 10, p. 3685–3689, 1 out. 1976.
- CARVALHO, Camilo et al. Cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers–Bignoniaceae): Estudo fitoquímico e toxicológico envolvendo *Artemia salina*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 1, 2009.
- CARR, A. C.; VISSERS, M. C. M.; COOK, J. S. The Effect of Intravenous Vitamin C on Cancer- and Chemotherapy-Related Fatigue and Quality of Life. **Frontiers in Oncology**, v. 4, 16 out. 2014.
- CARR, A.; MAGGINI, S. Vitamin C and Immune Function. **Nutrients**, v. 9, n. 11, p. 1211, 3 nov. 2017.

COELHO C. B. T.; COELHO-NETO J. S. C.; MONTES C. G.; GUERRAZZI F; ANDREOLLO N. A. Ranitidine is unable to maintain gastric pH levels above 4 in septic patients. **J Crit Care**. 2009.

COTTON P. B.; SHORVON P. J. Analysis of endoscopy and radiography in the diagnosis, follow-up and treatment of peptic ulcer disease. **Clin Gastroenterol** 1984.

CHO, S. et al. Enhanced Anticancer Effect of Adding Magnesium to Vitamin C Therapy: Inhibition of Hormetic Response by SVCT-2 Activation. **Translational Oncology**, v. 13, n. 2, p. 401–409, fev. 2020.

CRUZ-MERINO, L.; CHIESA, M.; CABALLERO, R.; ROJO, F.; PALAZÓN, N.; CARRASCO, F.H.; SÁNCHEZ-MARGALET, V. Breast Cancer Immunology and Immunotherapy: Current Status and Future Perspectives. **International Review of Cell and Molecular Biology**, 2016.

DINDAR, D. A.; ALBAYRAK, G.; OZET, A. The Importance of Cancer Stem Cells in Gastrointestinal Cancers. **Critical Reviews™ in Oncogenesis**, v. 24, n. 1, p. 55–59, 2019.

DE ALMEIDA, V.L. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. *Química Nova*, v.28, n. 1, p. 118-129, 2005.

DE FALCO, M.; DE LUCA, A. Cellcycle as a target of antineoplastic drugs. **Current**. DONATINI R. S, ISHIKAWA T, BARROS S. B. M, BACCHI uE. M. Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). **Rev Bras Farmacogn**. 2009.

DONATINI R. S, ISHIKAWA T, BARROS S. B. M, BACCHI uE. M. Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). **Rev Bras Farmacogn**. 2009.

DO AMARANTE, C. B.; MÜLLER, A. H.; PÓVOA, M. M.; DOLABELA, M. F. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Acta Amazonica**, v. 41, n. 3, 2011.

DUERBECK, N. B.; DOWLING, D. D.; DUERBECK, J. M. Vitamin C. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 71, n. 3, p. 187–193, mar. 2016.

DU, J.; CULLEN, J. J.; BUETTNER, G. R. Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, v. 1826, n. 2, p. 443–457, dez. 2012.

FAIN O. [Vitamin C]. **La Revue du praticien**, v. 63, n. 8, 2013.

FENECH, M. Biomarkers of genetic damage for cancer epidemiology. **Toxicology**, v. 181, p. 411-416, 2002

FISKESJÔ, G. The *Allium* test as a standard in environment monitoring. **Hereditas**, v. 102, p. 99-112, 1985.

FREEDMAN, R. A.; PARTRIDGE, A. H. Adjuvant therapies for very young women with early stage breast cancer. *Breast*, v. 20, n. 3, p. 146-149, 2011.

GIGLIO A. E, OSMO A. A, RODRIGUES S. H. P, QUINTAL V. S. Bloqueadores H₂ e outros antiácidos sistêmicos. *Revisões e Ensaios*. 1993.

GLEZERMAN, I.G.; JAIMES, E.A. Chemotherapy and kidney injury. In: *Onco-Nephrology Curriculum*. **American Society of Nephrology**, 2016. Cap. 11. Disponível em: <<https://www.asn-online.org/education/distancelearning/curricula/onco/>>.

GOODMAN & GILMAN. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 11. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

GRANT, S. M.; LANGTRY, H. D.; BROGDEN, R. N. Ranitidine. **Drugs**, v. 37, n. 6, p. 801–870, jun. 1989.

GREIG, R. G.; SCHEIN, P. S. Therapy of Gastrointestinal Cancer. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. sup117, p. 9–25, jan. 1985.

HACISEVKI, A. An overview of ascorbic acid biochemistry. **Journal of the Faculty of Pharmacy of Ankara**, v. 38, n. 3, p. 233-255, 2009.

HAILE, L. A. GAMREKELASHVILI, J. MANNS, M. P, KORANGY, F. GRETEN T, F. O CD49d é um novo marcador para subpopulações distintas de células supressoras derivadas de mieloides em camundongos. **Jornal de imunologia**, 2010.

INCA. Câncer: O que é Câncer? Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>. Acesso em: 10 agosto 2017.

INCA. Estimativa do número de cânceres no Brasil em 2018. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/inca/portal/home>>. Acesso em 02 janeiro 2020.

JOHNSON, J. A. Ranitidine 300mg at bedtime is effective for gastric ulcers: a 12-wk, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled comparison. The Ranitidine 300mg HS Gastric Ulcer Study Group. **Am J Gastroenterol**. 1993.

KANTOR, E. D. et al. Ranitidine Use and Cancer Risk: Results From UK Biobank. **Gastroenterology**, v. 160, n. 5, p. 1856-1859.e5, abr. 2021.

KAŹMIERCZAK-BARAŃSKA, J. et al. Two Faces of Vitamin C—Antioxidative and Pro-Oxidative Agent. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1501, 21 maio 2020.

KIM, S. et al. Effect of Ranitidine Intake on the Risk of Gastric Cancer Development. **Healthcare**, v. 9, n. 8, p. 1071, 20 ago. 2021.

KIM, S. et al. Effect of Ranitidine Intake on the Risk of Gastric Cancer Development. **Healthcare**, v. 9, n. 8, p. 1071, 20 ago. 2021.

KIRCH, W.; HOENSCH, H.; JANISCH, H. D. Interactions and Non-Interactions with Ranitidine. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 9, n. 6, p. 493–510, 1984.

KITICHANTAROPAS, Y.; BOONCHIRD, C.; SUGIYAMA, M.; KANEKO, Y.; HARASHIMA, S.; AUESUKAREE, C. Cellular mechanisms contributing to multiple stress tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential use in high-temperature ethanol fermentation. **AMB Express**, v. 6, n. 107, 2016.

KOUAKANOU, L. et al. Vitamin C, From Supplement to Treatment: A Re-Emerging Adjunct for Cancer Immunotherapy? **Frontiers in Immunology**, v. 12, 12 nov. 2021

KLIMANT, E. et al. Intravenous Vitamin C in the Supportive Care of Cancer Patients: A Review and Rational Approach. **Current Oncology**, v. 25, n. 2, p. 139–148, 1 abr. 2018.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, v. 682, Issue 1, p. 71–81, 2009.

LIPSY RJ;FENNERTY B;FAGAN TC. Clinical review of histamine2 receptor antagonists. **Archives of internal medicine**, v. 150, n. 4, 2021.

LYKKESFELDT, J.; MICHELS, A. J.; FREI, B. Vitamin C. **Advances in Nutrition**, v. 5, n. 1, p. 16–18, 1 jan. 2014.

LYKKESFELDT, J.; TVEDEN-NYBORG, P. The Pharmacokinetics of Vitamin C. **Nutrients**, v. 11, n. 10, p. 2412, 9 out. 2019.

LYKKESFELDT, J.; TVEDEN-NYBORG, P. The Pharmacokinetics of Vitamin C. **Nutrients**, v. 11, n. 10, p. 2412, 9 out. 2019.

MACRAE, Thomas H. Stress tolerance during diapause and quiescence of the brine shrimp, *Artemia*. **Cell Stress and Chaperones**, v. 21, n. 1, p. 9-18, 2016.

MA, T. H.; XU, Z.; XU, C.; MCCONNELL, H.; RABAGO, E. V.; ARREOLA, G. A.; ZHANG, H. The improved Allium/Vicia root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 334, n. 2, p. 185-195, 1995.

MARTINS, N.M.; SANTOS, N.A.; CURTI, C.; BIANCHI, M.L.; SANTOS, A.C. Cisplatin induces mitochondrial oxidative stress with resultant energetic metabolism impairment, membrane rigidification and apoptosis in rat liver. **Journal of Applied Toxicology**, v. 28, n.3, p. 337-344, 2008.

MARULLO, R.; WERNER, E.; DEGTYAREVA, N.; MOORE, B.; ALTAVILLA, G.; RAMALINGAM, S.S.; DOETSCH, P.W. Cisplatin induces a mitochondrial-ros response that contributes to cytotoxicity depending on mitochondrial redox status and bioenergetic functions. **PLoS ONE**, v. 8, n. 11, p. e81162, 2013.

MATSUMOTO, Y.; RODRIGUEZ, V.; WHITFORD, T.A.; BEEHARRY, N.; IDE, H.; TOMKINSON, A.E. Synergistic enhancement of 5-fluorouracil cytotoxicity by deoxyuridine analogs in cancer cells. **Oncoscience**, v. 2, n. 3, 2015.

MELLO, M.L.S.; JUNQUEIRA, A.C.; MARIA, C.C.J.; RIBEIRO, D.M.; FERREIRA, R.C.; VERÍSSIMO, R.V.; SCHILDKNECHT, P.H.P.A.; MONTEIRO, G.; COLTRI, P.P.; OGUSUCU, R.; FARIA, V.G.; SANTOS, A.B.; BORGES, I.G.; SILVA, E.A. Monitoramento por ensaios biológicos de poluição ambiental no lago do parque ecológico

Hermóneges Freitas Leitão Filho (1998 a 2004). In: I Congresso de Meio Ambiente Paulínia e Região Metropolitana de Campinas, 2004, Paulínia. Anais - CD-Rom. Campinas: UNICAMP, p. 1-8. 2004.

MCCARTY MF, CONTRERAS F. Increasing superoxide production and the labile iron pool in tumor cells may sensitize them to extracellular ascorbate. *Front Oncol.* 2014; 4:249.

MCGWIN, G. The Association between Ranitidine Use and Gastrointestinal Cancers. *Cancers*, v. 13, n. 1, p. 24, 23 dez. 2020.

MCLAUGHLIN, J. L.; ROGERS, L. L.; ANDERSON, J. E. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug information journal*, v. 32, n. 2, p. 513-524, 1998.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. J.; MCLAUGHLIN, J. GÜVEN, E.; PARNELL, L.A.; JACKSON, E.D.; PARKER, M.C.; GUPTA, N.; RODRIGUES, J.; QIN, H. Hydrogen peroxide induced loss of heterozygosity correlates with replicative lifespan and mitotic asymmetry in *Saccharomyces cerevisiae*. *Peer J*, v. 4, n. e2671, 2016.

NELIS, G. F.; VAN DE MEENE, J. G. Comparative effect of cimetidine and ranitidine on prolactin secretion. *Postgraduate Medical Journal.* 1980.

OUDEMANS-VAN STRAATEN, H. M.; MAN, A. M. S.; DE WAARD, M. C. Vitamin C revisited. *Critical Care*, v. 18, n. 4, ago. 2014.

ÖZKARA A, AKYIL D, EREN Y, ERDOĞMUŞ, S. F. **Efeito citotóxico potencial de Anilofos usando o *Allium cepa* assay.** Citotecnologia, 2005.

PADAYATTY, S.; LEVINE, M. Vitamin C: the known and the unknown and Goldilocks. *Oral Diseases*, v. 22, n. 6, p. 463–493, 14 abr. 2016.

PADAYATTY, S.; LEVINE, M. Vitamin C: the known and the unknown and Goldilocks. *Oral Diseases*, v. 22, n. 6, p. 463–493, 14 abr. 2016.

PANAYIOTIDIS, M.; COLLINS, A. R. Ex vivo assessment of lymphocyte antioxidant status using the comet assay. *Free Radical Res*, v. 27, p. 533–537, 1997.

PARK S. The effects of high concentrations of vitamin C on cancer cells. *Nutrients.* 2013; 5(9):3496-505.

PENILDON, S. *Farmacologia.* 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

PEREGO, P.; JIMENEZ, G.S.; GATTI, L.; HOWELL, S.B.; ZUNINO, F. Yeast mutants as a model system for identification of determinants of chemosensitivity. *Pharmacology Reviews*, v. 52, n. 4, p. 477-492, 2000.

PERES, L.A.B.; JÚNIOR, A.D.C. Nefrotoxicidade aguda da cisplatina: Mecanismos moleculares. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, v. 35, n. 4, p. 332-340, 2013.

PERES, L. A. B.; CUNHA JÚNIOR, A. D.; ASSUMPÇÃO, R A B. Papel da lipocalina associada à gelatinas eneutrofílica (NGAL) urinária na nefrotoxicidade da cisplatina em pacientes com câncer de cabeça e pescoço. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, v. 36, n. 3, 2014.

PEREZ, D. G.; RUIZ, E. G.; ALCALDE, M. *Saccharomyces cerevisiae* in directed evolution: Anefficient tool to improve enzymes. **Bioengineered Bugs**, v. 3, n. 3, p. 172–177, 2012.

PETERSEN H.; JOHANNESSEN T.; KLEVELAND P. M.; FJOSNE U.; DYBDAHL J. H.; WALDUM H. L; Do we need to listen to the patient? The predictive value of symptoms. **Scand J Gastroenterol Suppl** 1988.

PETERSON, W. L.; CIOCIOLA, A. A.; SYKES, D. L.; MCSORLEY, D. J.; WEBB, D. D. Ranitidine bismuth citrate plus clarithromycin is effective for healing duodenal ulcers, eradicating *H. pylori* and reducing ulcer recurrence. RBC *H. pylori* Study Group. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**. 1996.

PIPKIN, G. A.; MILLS, J. G.; KLER, L.; DIXON, J. S.; WOOD, J. R. The safety of ranitidine bismuth citrate in controlled clinical studies. **Pharmacoepidemiology and Drug Safety**. 1996.

PIRES, A. S. et al. Ascorbic Acid Chemosensitizes Colorectal Cancer Cells and Synergistically Inhibits Tumor Growth. **Frontiers in Physiology**, v. 9, 23 jul. 2018.

RANG, H.P. et al. **Farmacologia**. 5.ed. 6.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

RANK, J.; NIELSEN, Mette Hviid. A modified *Allium* test as a tool in the screening of the genotoxicity of complex mixtures. **Hereditas**, v. 118, n. 1, p. 49-53, 1993.

RAWLA, P.; BARSOUK, A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. **Gastroenterology Review**, v. 14, n. 1, p. 26–38, 2019.

RAWLA, P.; BARSOUK, A. Epidemiology of gastric cancer: global trends, risk factors and prevention. **Gastroenterology Review**, v. 14, n. 1, p. 26–38, 2019.

REGUEIRAS, Ana et al. Differential Toxicity of Cyanobacteria Isolated from Marine Sponges towards Echinoderms and Crustaceans. **Toxins**, v. 10, n. 7, 2018.

REGUEIRAS, Ana et al. Differential Toxicity of Cyanobacteria Isolated from Marine Sponges towards Echinoderms and Crustaceans. **Toxins**, v. 10, n. 7, 2018.

ROHENKOHL, C.C.; CARNIEL, A.P.; COLPO, E. Consumo de antioxidantes durante tratamento quimioterápico. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 24, n. 1, p.107-112, 2011.

SAUBERLICH, H. E. Pharmacology of Vitamin C. **Annual Review of Nutrition**, v. 14, n. 1, p. 371–391, jul. 1994.

SHARMA, S. VIG, A. P. Genotoxicity of atrazine, avenoxan, diuron and quizal of op-P-ethyl herbicides using the *Allium cepa* root chromosomal aberration assay. **Terr. Aquat. Environ. Toxicol**, 2012.

SILVA et al. Quality control of ranitidine hydrochloride compounded capsules. **Scientific Electronic Archives**, v. 11, n. 5, p. 154–161, 2018.

SMITH, J. L.; HODGES, R. E. Serum Levels of Vitamin C in Relation to Dietary and Supplemental Intake of Vitamin C in Smokers and Nonsmokers. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 498, n. 1 Third Confere, p. 144–152, jul. 1987.

SUBRAMANI, T.; YEAP, S. K.; HO, W. Y.; HO, C. L.; OMAR, A. R.; AZIZ, S. A. et al. Vitamin C suppresses cell death in MCF-7 human breast cancer cells induced by tamoxifen. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 18, n. 2, p. 305-313, 2014.

SUNG J. J.; TSOI K. K.; YUNG M. Y.; LAU J. Y.; CHIU P. W. Causes of mortality in patients with peptic ulcer bleeding: a prospective cohort study of 10,428 cases. **Journal Gastroenterol.** 2012.

SWIFT, L. H.; GOLSTEYN, R. M. Genotoxic Anti-Cancer Agents and Their Relationship to DNA Damage, Mitosis, and Checkpoint Adaptation in Proliferating Cancer Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, p. 3403-3431, 2014.

TAKEMURA Y, SATOH M, SATOH K, HAMADA H, SEKIDO Y, KUBOTA S. High dose of ascorbic acid induced cell death in mesothelioma cells. **Biochem Biophys Res Commun.** 2010; 394(2):249-53.

TANAKA, S.; GUTH, P. H.; PAULSEN, G.; KAUNITZ, J. D. Gastroprotective effect of ranitidine bismuth citrate is associated with increased mucus bismuth concentration in rats. **Gut.** 1996.

TORTORA, GJ., DERRICKSON, B., *Corpo humano: fundamentos de anatomia e fisiologia.*, Porto Alegre, ARTMED, 789p. 2012.

UNLU, A.; KIRCA, O.; OZDOGAN, M.; NAYIR, E. High-dose vitamin C and câncer. **Journal of Oncological Science**, v. 1, p. 10-12, 2016.

UNLU, A.; KIRCA, O.; OZDOGAN, M.; NAYIR, E. High-dose vitamin C and câncer. **Journal of Oncological Science**, v. 1, p. 10-12, 2016.

VENTURELLI, S. et al. Molecular mechanisms of pharmacological doses of ascorbate on cancer cells. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, v. 165, n. 11-12, p. 251–257, jun. 2015.

VIAL, T. et al. Side Effects of Ranitidine. **Drug Safety**, v. 6, n. 2, p. 94–117, 1991.

VIAL, T. et al. Side Effects of Ranitidine. **Drug Safety**, v. 6, n. 2, p. 94–117, 1991.

VILA-LEAHEY, A. et al. Ranitidine modifies myeloid cell populations and inhibits breast tumor development and spread in mice. **OncoImmunology**, v. 5, n. 7, p. e1151591, 10 mar. 2016.

VOLLBRACHT, C.; SCHNEIDER, B.; LEENDERT, V.; WEISS, G.; AUERBACH, L.; BEUTH, J. Intravenous vitamin C administration improves quality of life in breast cancer patients during chemo-/radiotherapy and after care: results of a retrospective, multicentre, epidemiological cohort study in Germany. **In Vivo**, v. 25, n. 6, 983-990, 2011.

WANG, Y.; WANG, X.; YU, Z. Vitamin C and E intake and risk of bladder cancer: a meta analysis of observational studies. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 7, n. 11, p. 4154-4164, 2014.

WEAKLEY, S.M.; JIANG, J.; KOUGIAS, P.; LIN, P.H.; YAO, Q.; BRUNICARDI, F. C. et al. Role of somatic mutations in vascular disease formation. **Expertise Review in Molecular Diagnose**, v. 10, n. 1, p. 173-185, 2010.

WONG, Donna L. / *Enfermagem Pediátrica*. 5º edição, editora Guanabara Koogan, 1999.
GOMES, Reynaldo de Oliveira. **Manual de Referências de Pediatria**. 3ª edição; BH; editora Black Book-2005.

WORM, J.; FALKENBERG, K.; OLESEN, J. Histamine and migraine revisited: mechanisms and possible drug targets. **The Journal of Headache and Pain**, v. 20, n. 1, 25 mar. 2019.