

Análise do efeito biológico de extratos de folhas de *Carica papaya* na viabilidade e na proliferação de células K562

Beatriz Canteiro¹, Maria Mendes¹, Mariana Delgadinho¹, Ketlyn Oliveira¹, Catarina Ginete¹, Mário Gomes¹, Edna Ribeiro¹, Miguel Brito¹, Anita Q. Gomes¹

1. H&TRC – Health & Technology Research Center, ESTeSL – Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa. Lisboa, Portugal. anita.gomes@estesl.ipl.pt

RESUMO: Introdução – A anemia falciforme é uma doença monogénica causada por mutações no gene da β -globina que afeta a estrutura da hemoglobina, sendo associada a diversas complicações clínicas com elevadas taxas de morbilidade e mortalidade. A reativação farmacológica da hemoglobina fetal (HbF) por compostos como a hidroxiureia (HU) é um dos tratamentos atualmente disponíveis; contudo, o seu perfil de segurança e o elevado custo em países subdesenvolvidos limitam a sua utilização. Nesse contexto é essencial estudar novos compostos indutores da HbF com baixa citotoxicidade e que possam estar amplamente disponíveis, como é o caso de extratos de folhas da *Carica papaya* (CP), uma planta medicinal com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. **Objetivos** – Este estudo pretende avaliar o efeito do extrato metanólico das folhas de CP (EMFCP) em parâmetros biológicos como a proliferação e a viabilidade celular em células K562. **Método** – As células K562 foram expostas durante 72h ao EMFCP a 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e durante 24 horas ao EMFCP (0,5; 50; 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e à HU (25 $\mu\text{g}/\text{mL}$). A proliferação e viabilidade celular foram analisadas através da quantificação celular pelo método de exclusão do azul de tripano. **Resultados** – Os resultados demonstram que a proliferação e a viabilidade celular foram afetadas pelo EMFCP apenas na concentração de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, não se tendo verificado alteração nestes parâmetros nas restantes concentrações utilizadas. **Conclusão** – Os resultados mostraram que os EMFCP não são citotóxicos quando incubados em células K562 em concentrações inferiores ou iguais a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, permitindo assim explorar este composto na avaliação do seu potencial terapêutico no contexto da anemia falciforme.

Palavras-chave: Carica papaya; Hemoglobina fetal; Anemia falciforme; Compostos naturais.

Analysis of the biological effect of *Carica papaya* leaf extracts on the viability and proliferation of K562 cells

ABSTRACT: Background – Sickle cell disease (SCD) is a genetic blood disorder caused by mutations in the β -globin gene that affects the shape and transport of red blood cells in blood vessels, leading to various clinical complications. The pharmacological reactivation of fetal hemoglobin (HbF) through compounds such as hydroxyurea (HU), is one of the currently available treatments, however, their safety concerns and expensive cost in low- and middle-income countries limit their use. In this context, it is essential to study novel HbF-inducing compounds that have scarcer adverse effects and can be widely available, such as *Carica papaya* leaf (CP) extracts, a medicinal plant with anti-oxidant and anti-inflammatory properties. **Aim of the study** – Evaluate the effect of CP methanolic leaf extracts (CPMLE) on biological parameters such as cell proliferation and viability on the K562 cell line. **Methods** – K562 cells were exposed for 72 hours to CPMLE at 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and for 24 hours to CPMLE (0.5; 50; 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and HU (25 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Cell proliferation and viability after CPMLE exposure were analyzed by cell counting. **Results** – The results demonstrate that cell proliferation and viability were affected by CPMLE only at the concentration of 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, with no effects being observed at the lower concentrations analysed. **Conclusion** – Our results showed that CPMLE is not cytotoxic when incubated at concentrations equal to or below 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ thus allowing us to explore this compound in the evaluation of its therapeutic potential, in the context of sickle cell anemia treatment.

Keywords: Carica papaya; Fetal hemoglobin; Sickle cell disease; Natural compounds.

Introdução

A anemia falciforme é uma das doenças monogénicas mais comuns do mundo¹. Esta doença, causada por mutações no gene da β -globina, é mais prevalente em países subdesenvolvidos; contudo, encontra-se disseminada por todo o mundo devido às migrações populacionais², tornando-se num problema de saúde pública já reconhecido pela Organização Mundial da Saúde (OMS)³. Atualmente, a única cura para a anemia falciforme passa pelo transplante de células estaminais da medula óssea⁴. Porém, a falta de doadores compatíveis, os riscos associados⁴ e o seu custo limitam a sua aplicabilidade em países subdesenvolvidos⁵. Em paralelo com esta terapêutica existem hoje em dia alguns tratamentos disponíveis, nomeadamente transfusões sanguíneas recorrentes e indução farmacológica da hemoglobina fetal (HbF), que tentam aliviar os sintomas dos indivíduos com anemia falciforme⁴.

Até à data, a hidroxiureia é uma das três moléculas aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento da anemia falciforme⁶. Este fármaco reativa a produção da HbF⁷⁻⁸, compensando, dessa forma, a falta de hemoglobina adulta. Contudo, a sua citotoxicidade, a existência de não respondedores¹ e o custo elevado em países subdesenvolvidos faz com que a procura por novas moléculas mais eficazes, com menos riscos associados e menos dispendiosas, continue.

Há pelo menos 60 mil anos que as plantas têm sido utilizadas como medicamentos pelo ser humano no tratamento de diversas patologias⁹, uma vez que apresentam efeitos adversos reduzidos, baixo custo e maior disponibilidade¹⁰. O conhecimento das suas propriedades biológicas e a facilidade com que são encontradas faz com que se tornem numa linha de investigação atrativa no contexto do tratamento da anemia falciforme. Até aos nossos dias, os cientistas têm isolado com sucesso vários compostos bioativos provenientes de fontes naturais com baixa toxicidade e com alta eficácia na indução da HbF¹¹.

A espécie *Carica papaya L.*, também conhecida como planta de papaia ou mamão, pertence à família *Caricaceae* e ao género *Carica L.*¹². Esta árvore é abundante em regiões tropicais e subtropicais¹³, tendo a sua produção vindo a crescer ao longo dos anos. O facto de apresentar propriedades fitoquímicas, biológicas, nutricionais e medicinais, incluindo propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias¹⁴⁻¹⁵, faz com que esta planta tenha potencial para ser utilizada no tratamento de doenças como a anemia falciforme¹⁶. Para além disso, foi previamente demons-

trado que extratos metanólicos de folhas de *C. papaya* (CP) protegem a integridade da membrana dos eritrócitos em condições de stress osmótico, impedindo-os de adquirirem a forma de foice¹⁶⁻¹⁷.

Estes resultados promissores, associados à facilidade com que esta planta é encontrada, tornam a CP um bom alvo de investigação.

Neste estudo pretendeu-se avaliar, em células K562 (linha celular derivada de um paciente com leucemia mieloide crónica humana), se os extratos metanólicos de folhas de CP (EMFCP) são seguros e não tóxicos. Estas células foram selecionadas por terem sido utilizadas em vários estudos anteriores com foco na indução de hemoglobina fetal¹⁸⁻¹⁹, incluindo em associação com a indução de expressão da gama globina²⁰.

Método

Colheita e extração do material vegetal

Após a colheita do material vegetal (origem: Algarve, Portugal), as folhas de CP foram secas à temperatura ambiente durante cerca de três semanas, ao abrigo da luz. Seguidamente foram pulverizadas (*cf.* Figura 1-A) com recurso a um almofariz e a um pilão. Posteriormente preparou-se o extrato metanólico de folhas de CP (EMFCP), adicionando cerca de 550mL de metanol a 30g de pó de CP. A extração foi efetuada com uma placa de agitação durante 48 horas à temperatura ambiente. Após este processo, o EMFCP foi filtrado (filtro *whatman* com poros de 0,45 mm) e o solvente evaporado num evaporador rotativo (*cf.* Figura 1-B). O resíduo, livre de metanol, foi armazenado a 4° C, ao abrigo da luz, até à preparação da solução stock. Foi preparada uma solução stock de EMFCP com a concentração final de 40mg/mL, dissolvendo o extrato vegetal em tampão fosfato salino (PBS) (Sigma-Aldrich). A partir desta solução prepararam-se quatro soluções para exposição celular com as concentrações de 0,5; 50; 100 e 500 μ g/mL de EMFCP. As concentrações de EMFCP foram selecionadas com base em estudos anteriores de avaliação do efeito de extratos de CP e sua aplicabilidade terapêutica em doenças humanas, incluindo na anemia das células falciformes¹⁰.

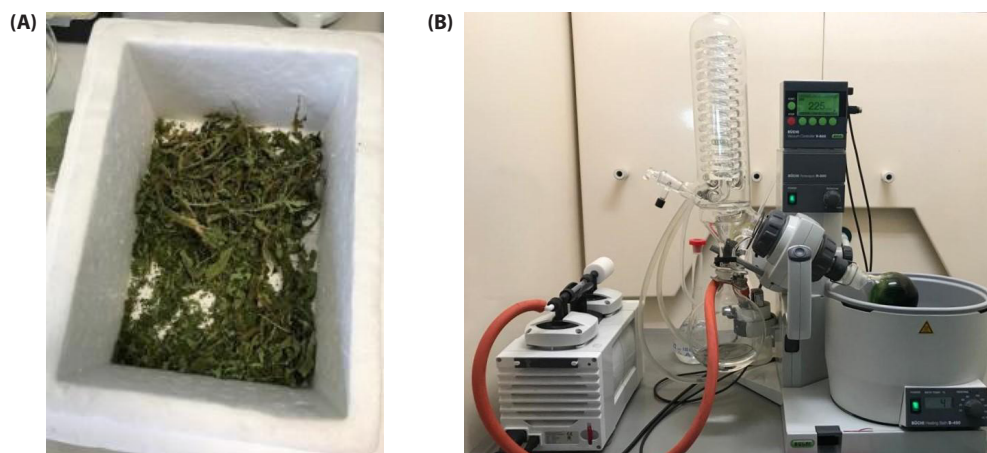


Figura 1. (A) Folhas secas de *C. papaya L.* (B) Processo de extração num evaporador rotativo.

Crescimento e manutenção da cultura de células K562

As células K562 (ECACC no: 89121407) são originárias de uma leucemia mieloide crônica humana em crise de blastos, comprada na *European Collection of Cell Cultures* (ECACC, UK). As células K562 foram cultivadas em meio RPMI 1640 (Biowest), contendo L-Glutamina e 25mM Hepes e suplementado com 10% (v/v) de soro fetal bovino (FBS) (Sigma-Aldrich) e com 500 µL de uma solução de 200mM de L-glutamina suplementada com antibióticos (10000U de penicilina e 10mg/mL de estreptomina [Sigma-Aldrich]). As células K562 foram mantidas a uma densidade de 1×10^5 células/mL, realizando-se subculturas a cada três dias, durante os quais foram incubadas numa atmosfera húmida a 37° C com 5% (v/v) de CO₂.

Exposição das células K562 ao EMFCP

De forma a avaliar possíveis contaminações do EMFCP no meio de cultura utilizou-se uma placa de seis poços (3mL/poço), em que se juntou meio de cultura com EMFCP a 500 µg/mL. Passadas 120 horas, a placa foi visualizada ao microscópio ótico e analisada quanto à presença de contaminações.

Posteriormente expuseram-se as células à maior concentração de EMFCP (500 µg/mL) durante 72h. Após este período analisou-se a proliferação e a viabilidade celular.

Para continuação do estudo, e já com os dados da experiência anterior analisados, as células K562 foram expostas às restantes concentrações do EMFCP (0,5; 50 e 100 µg/mL) durante 24h. Adicionalmente, as células K562 foram ainda expostas a 25 µg/mL de hidroxureia (HYDREA®, USP) dissolvida em PBS, controlo positivo – indutor do gene gama, tendo-se ainda usado como controlo negativo células incubadas apenas em meio de cultura.

Mais especificamente, as células K562 a uma densidade de 1×10^5 células/mL foram cultivadas em placas de seis poços (3mL/poço), tendo-se realizado três experiências diferentes (replicados biológicos) por cada tratamento. Estas placas foram posteriormente incubadas num ambiente húmido a 37°C com 5% (v/v) de CO₂ durante 24 horas (tempo de exposição do tratamento). Após este período de exposição procedeu-se à colheita das células de modo a avaliar-se a proliferação e a viabilidade celular.

Proliferação e viabilidade celular

Para avaliar os efeitos citotóxicos após as 24 horas de exposição realizou-se o ensaio de exclusão do azul de tripano (Sigma-Aldrich), tendo-se adicionado uma solução de suspensão celular com 0,4% (m/v) de azul de tripano.

Após a visualização das células na câmara de Neubauer, num microscópio invertido com contraste de fase (ampliação de 20x), foi possível calcular, através da contagem celular, a taxa de proliferação e a percentagem da viabilidade celular:

$$\text{Taxa de proliferação celular} = \frac{\text{Contagem de células viáveis}}{\text{Número inicial de células em cada poço } (1 \times 10^5)}$$

$$\text{Percentagem de viabilidade celular} = \frac{\text{Número de células viáveis}}{\text{Número total de células}} \times 100$$

Análise estatística dos resultados

A análise estatística dos dados obtidos ao nível da proliferação e viabilidade celular na linha celular K562 foi realizada com recurso ao *software Microsoft Excel 365*. Foi utilizado o teste-*t* de *student*.

Resultados

Neste estudo pretende-se analisar o efeito citotóxico da exposição de células K562 a EMFCP, um extrato natural com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, com vista ao seu potencial uso como alternativa terapêutica à HU, atualmente aprovada pela FDA para o tratamento da anemia falciforme. Para tal, as células foram expostas a diferentes concentrações de extratos de EMFCP e a sua proliferação e viabilidade celular foram medidas, sempre por comparação à exposição à HU, um indutor do gene gama.

Inicialmente expuseram-se as células K562 à concentração de 500 µg/mL do EMFCP, durante 72 horas, tendo-se de seguida calculado a taxa de proliferação e a respetiva viabilidade celular. Os resultados obtidos mostram que as células expostas a esta concentração apresentam uma taxa de proliferação de $5,33 \pm 2,90$, enquanto para o controlo (células não tratadas) o valor é de $12,30 \pm 1,16$ (cf. Figura 2-A).

Quanto à viabilidade celular verificou-se que, para o tratamento com 500 µg/mL do EMFCP, menos de 50% das células eram viáveis ($44,8\% \pm 16,2\%$) (cf. Figura 2-B).

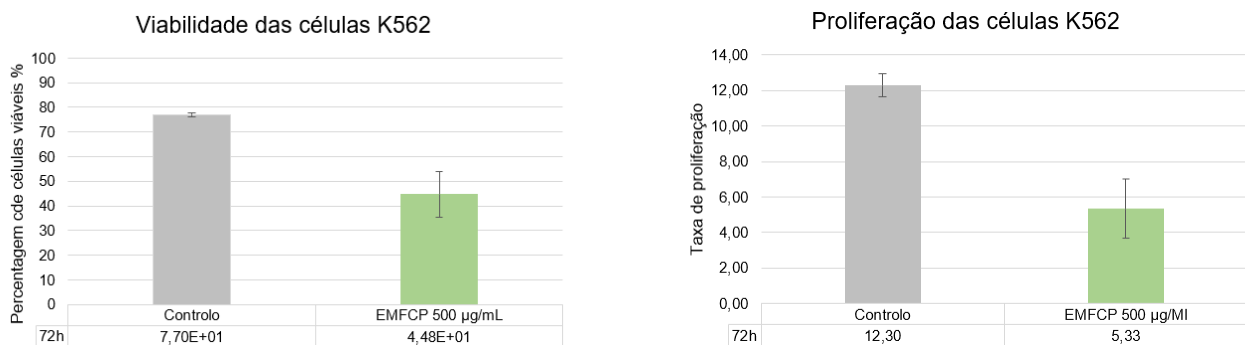


Figura 2. Efeitos do EMFCP na proliferação (A) e na viabilidade (B) das células K562.

Proliferação e viabilidade das células K562 após 24h de exposição ao meio de cultura RPMI (controlo) e ao EMFCP com concentração final de 500 µg/mL.

Dado o efeito citotóxico observado nas células K562, expostas à concentração de 500 µg/mL durante 72 horas, decidiu-se expor as células K562 a 1×10^5 células/mL durante

24 horas a três concentrações de EMFCP abaixo dos 500 µg/mL (0,5; 50 e 100 µg/mL) e também à concentração de 25 µg/mL de HU, como controlo positivo de indução do gene gama.

Após o período de exposição analisou-se a proliferação e a viabilidade celular.

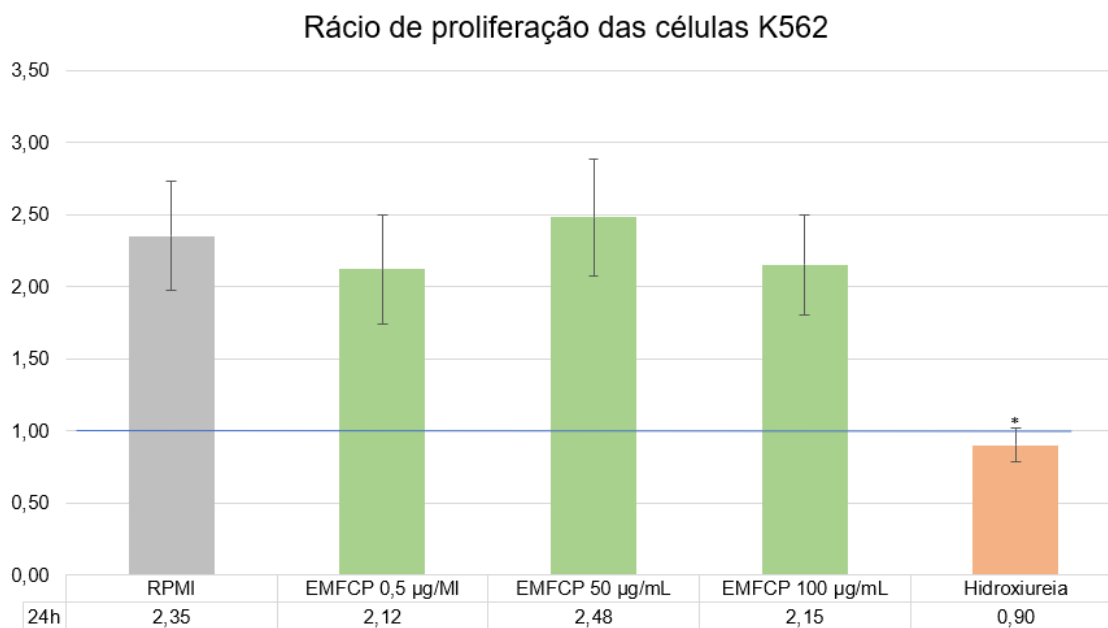


Figura 3. Efeitos do EMFCP na proliferação das células K562.

Proliferação das células K562 após 24h de exposição ao meio de cultura RPMI (controlo), a 25 µg/mL de HU e ao EMFCP com concentração final de 0,5 µg/mL; 50 µg/mL e 100 µg/mL. As variações estatisticamente significativas em relação ao controlo são avaliadas através do teste-t (* $p < 0,05$).

No que se refere à proliferação celular observou-se que os rácios obtidos para as concentrações de EMFCP de 0,5; 50 e 100 µg/mL assumiram os valores 2,12; 2,48 e 2,15, respetivamente (cf. Figura 3). O maior aumento da proliferação celular verificou-se aquando da exposição das células ao EMFCP à concentração de 50 µg/mL.

O tratamento com HU ($p=0,021$) provocou uma diminuição de proliferação celular significativa relativamente ao controlo negativo (meio de cultura).

Seguidamente avaliaram-se os potenciais efeitos citotóxicos do EMFCP em células K562 através do ensaio de exclusão por azul de tripano (cf. Figura 4).

Viabilidade das células K562 após 24h de exposição ao meio de cultura RPMI (controlo), a 25 µg/mL de HU e ao EMFCP com concentração final de 0,5 µg/mL, 50 µg/mL e 100 µg/mL.

A análise dos dados demonstrou que para as várias doses de EMFCP utilizadas não existiram variações estatisticamente significativas quanto à viabilidade celular.

Por outro lado, observou-se que a HU foi o composto que mais afetou a viabilidade celular das células expostas a (82,41% \pm 4,69), não tendo significado estatístico.

Discussão

Os extratos de folhas de *Carica papaya L.* têm-se revelado potenciais aliados no tratamento de várias doenças na medicina tradicional¹⁰, nomeadamente na malária, na dengue e na anemia falciforme^{10,21}. Neste sentido, é fundamental avaliar-se o perfil de segurança deste extrato, de modo a prever a sua citotoxicidade e determinar uma dose segura para o uso humano²². Tendo em conta esta necessidade, no presente estudo avaliou-se a proliferação e a viabilidade do EMFCP em células K562. Os resultados obtidos demonstraram que a exposição das células a este extrato na sua concentração máxima de 500 µg/mL apresentou evidências de citotoxicidade. Contudo, em concentrações iguais ou inferiores a 100 µg/mL (100 µg/mL, 50 µg/mL e 0,5 µg/mL), incubadas por 24h, não se evidenciaram indícios de citotoxicidade, demonstrando que o EMFCP é vantajoso quando comparado com outros indutores da HbF, como a HU que, tendo sido usado como controlo positivo de indução do gene gama, neste estudo, também mostrou ser citotóxico. Desta forma, o uso

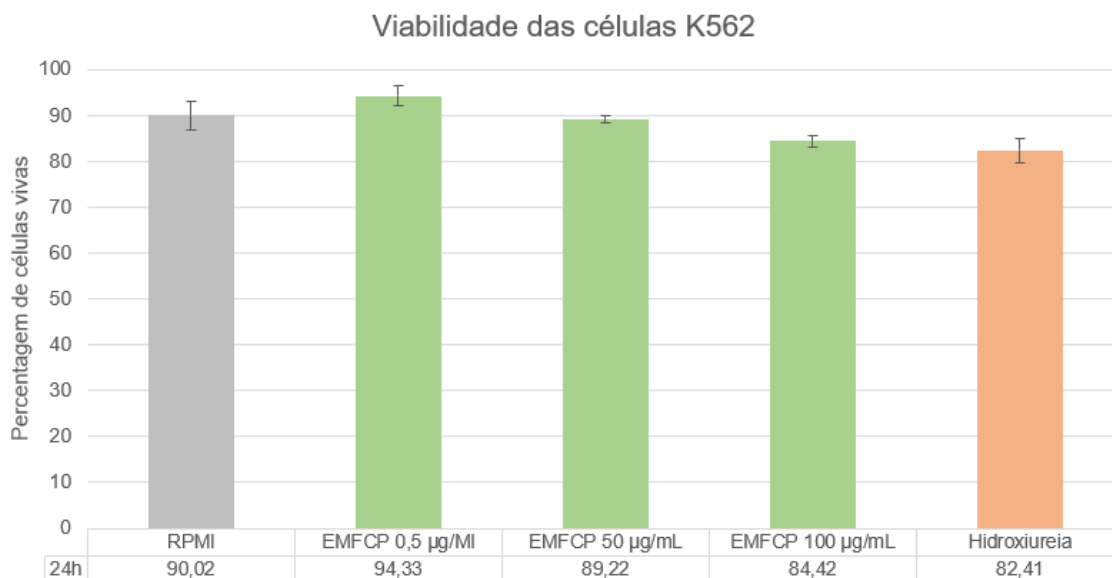


Figura 4. Efeito do EMFPCP na viabilidade das células K562.

de EMFPCP tem um grande potencial em estudos futuros que visam a caracterização molecular da indução da HbF e seu potencial terapêutico.

É importante referir que a exposição das células ao EMFPCP à concentração de 500 µg/mL teve uma duração de 72h, ao contrário do ensaio com os restantes tratamentos com uma duração de 24h. Assim, o menor rácio de proliferação na Figura 3 comparativamente com a Figura 2-A parece dever-se ao menor tempo de exposição, dado que as células tiveram menos tempo para proliferarem. Quanto à viabilidade, esta é menor na exposição das células ao EMFPCP à concentração de 500 µg/mL comparativamente com as restantes concentrações, tendo uma relação direta com o tempo de exposição. A avaliação da exposição celular a concentrações do EMFPCP entre 100 e 500 µg/ml será considerada em estudos futuros, a fim de melhor caracterizar a proliferação e viabilidade das células na presença deste extrato. Está também prevista a análise destes extratos em linhas celulares eritroides de origem saudável.

Conclusões

A alta prevalência, morbidade e mortalidade da anemia falciforme²³ levou a comunidade científica a procurar novos compostos mais eficazes na indução da hemoglobina fetal e com menos efeitos secundários²⁴.

O presente estudo demonstrou que a maior concentração do EMFPCP (500 µg/mL, durante 72h) aparenta afetar tanto a proliferação como a viabilidade celular. Contudo, verificou-se que as restantes concentrações utilizadas (100 µg/mL, 50 µg/mL e 0,5 µg/mL), e incubadas por 24h, não parecem afetar estes dois parâmetros.

Assim, este estudo traz uma nova perspetiva sobre os compostos naturais como potenciais candidatos na descoberta de uma futura terapia acessível e eficaz no tratamento

da anemia falciforme. Considerando que esta patologia é caracterizada por uma mutação pontual no gene da β -globina¹, no futuro será interessante avaliar o efeito do EMFPCP na expressão deste gene juntamente com a avaliação da expressão do gene da γ -globina, uma vez que estes estão envolvidos no mecanismo de regulação da HbF.

Agradecimentos

Os autores reconhecem o apoio do H&TRC – Centro de Investigação em Saúde e Tecnologia, ESTeSL – Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa (apoio FCT/MCTES, UIDB/05608/2020 e UIDP/05608/2020). Os autores agradecem a gentileza do Sr. Fernando Nunes por colher as folhas de *C. papaya L.* em Faro, Algarve, Portugal.

Este estudo foi financiado pelo projeto IDI&CA-IPL/2021/EpiCa/ESTeSL.

Contributo dos autores. BC e MM contribuíram igualmente para a realização deste trabalho, tendo contribuído para a execução das experiências relacionadas com a viabilidade e proliferação celular, juntamente com MD, KO e CG. MG foi o responsável pela preparação dos extratos metanólicos da *Carica papaya L.*, tendo os autores ER, MB e AQG contribuído para o desenho das experiências e a escrita do artigo.

Referências bibliográficas

1. Carden MA, Little J. Emerging disease-modifying therapies for sickle cell disease. *Haematologica*. 2019;104(9):1710-9.
2. Zittersteijn HA, Harteveld CL, Klaver-Flores S, Lankester AC, Hoeben RC, Staal FJ, et al. A small key for a heavy door: genetic therapies for the treatment of hemoglobinopathies. *Front Genome Ed*. 2021;2: 617780.

3. World Health Organization. Sick cell anaemia: report by the Secretariat [homepage]. Geneva: WHO; 2006. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/20890>
4. Mussolino C, Strouboulis J. Recent approaches for manipulating globin gene expression in treating hemoglobinopathies. *Front Genome Ed.* 2021;3:618111.
5. Pabuprapap W, Wassanatip Y, Khetkam P, Chaichompoo W, Kunkaewom S, Senabud P, et al. Quercetin analogs with high fetal hemoglobin-inducing activity. *Med Chem Res.* 2019;28(10):1755-65.
6. Yu L, Myers G, Engel JD. Small molecule therapeutics to treat the β -globinopathies. *Curr Opin Hematol.* 2020;27(3):129-40.
7. Eridani S, Avemaria F, Mosca A. Reactivation of fetal hemoglobin in thalassemia and sickle cell disease. *Thalassemia Rep.* 2014;4(2):2196.
8. Paikari A, Sheehan VA. Fetal haemoglobin induction in sickle cell disease. *Br J Haematol.* 2018;180(2):189-200.
9. Yuan H, Ma Q, Ye L, Piao G. The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules.* 2016;21(5):559.
10. Singh SP, Kumar S, Mathan SV, Tomar MS, Singh RK, Verma PK, et al. Therapeutic application of *Carica papaya* leaf extract in the management of human diseases. *DARU.* 2020;28(2):735-44.
11. Mukherjee M, Rahaman M, Ray SK, Shukla PC, Dolai TK, Chakravorty N. Revisiting fetal hemoglobin inducers in beta-hemoglobinopathies: a review of natural products, conventional and combinatorial therapies. *Mol Biol Rep.* 2022;49(3):2359-73.
12. Karunamoorthi K, Min KH, Jegajeevanram K, Xavier J, Vijayalakshmi J. Papaya: a gifted nutraceutical plant (a critical review of recent human health research). *CellMed.* 2014;4(1):e2.
13. Vij T, Prashar Y. A review on medicinal properties of *Carica papaya* Linn. *Asian Pac J Trop Dis.* 2015;5(1):1-6.
14. Maia MF. Propriedades biológicas das sementes da papaia (*Carica papaya* L.): valorização de um resíduo alimentar [dissertation]. Porto: Universidade Fernando Pessoa; 2017.
15. Anuar NS, Zahari SS, Taib IA, Rahman MT. Effect of green and ripe *Carica papaya* epicarp extracts on wound healing and during pregnancy. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(7):2384-9.
16. Imaga NA. Phytomedicines and nutraceuticals: alternative therapeutics for sickle cell anemia. *Sci World Journal.* 2013;2013:269659.
17. Naiho AO, Okonkwor BC, Okoukwu C. Anti-sickling and membrane stabilizing effects of *Carica papaya* leaf extract. *Br J Med Med Res.* 2015;6(5):484-92.
18. Li J, Lai Y, Shi L. BCL11A down-regulation induces γ -globin in human β -thalassemia major erythroid cells. *Hemoglobin.* 2018;42(4):225-30.
19. Qian X, Chen J, Zhao D, Guo L, Qian X. *Plastrum testudinis* induces γ -globin gene expression through epigenetic histone modifications within the γ -globin gene promoter via activation of the p38 MAPK signaling pathway. *Int J Mol Med.* 2013;31(6):1418-28.
20. Khosravi MA, Abbasalipour M, Concordet JP, Berg JV, Zeinali S, Arashkia A, et al. Targeted deletion of BCL11A gene by CRISPR-Cas9 system for fetal hemoglobin reactivation: a promising approach for gene therapy of beta thalassemia disease. *Eur J Pharmacol.* 2019;854:398-405.
21. Nugroho A, Heryani H, Choi JS, Park HJ. Identification and quantification of flavonoids in *Carica papaya* leaf and peroxynitrite-scavenging activity. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2017;7(3):208-13.
22. Ismail Z, Halim SZ, Abdullah NR, Afzan A, Rashid BA, Jantan I. Safety evaluation of oral toxicity of *Carica papaya* Linn. Leaves: a subchronic toxicity study in sprague dawley rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2014;2014:741470.
23. Gardner RV. Sick cell disease: advances in treatment. *Ochsner J.* 2018;18(4):377-89.
24. Ribeiro E, Delgadinho M, Matos E, Santos R, Sousa D, Galante H, et al. Epigenetic and transcriptional modulator potential of Epigallocatechin-3-gallate and genistein on fetal hemoglobin reactivators genes. *Clin Complement Med Pharmacol.* 2022;2(2):100034.

Conflito de interesses

Os autores declaram não possuir quaisquer conflitos de interesses.

Artigo recebido em 30.09.2022 e aprovado em 24.04.2023