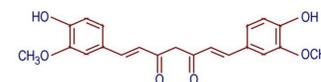
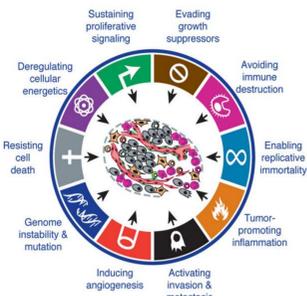


## Introdução e Objetivo

O câncer é uma das principais causas de morte no mundo, devido ao insucesso nos tratamentos e a falta de informações para bloquear as diversas vias utilizadas pelo tumor. Sendo assim, as características do câncer compreendem capacidades biológicas adquiridas durante o desenvolvimento de várias etapas dos tumores, o que nos permite conhecer mais sobre a complexidade da doença. A migração celular é um fenótipo comum em diferentes patologias, e no câncer implica em invasão e metástase o que indica um pior prognóstico. A curcumina é um polifenol lipofílico proveniente do açafrão-da-índia, que tem sido estudado com mais intensidade nos últimos anos, devido ao seu potencial anticancerígeno, atuando na inibição da invasão e da migração celular. **O objetivo do trabalho é avaliar o papel da curcumina no perfil proliferativo e migratório de linhagens celulares tumorais de carcinoma espinocelular oral humano (SCC 25) e nas linhagens não tumorais displásicas (CAL 27) e de fibroblastos (3T3-NIH).**



Estrutura Química da curcumina. Kunnumakkara et al, 2008

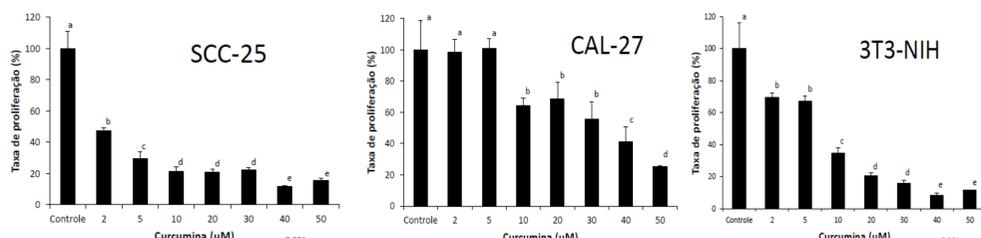


Capacidades biológicas do tumor. Hanahan e Weinberg, 2011

## Estratégias e Resultados

### Resultado 1 - Baixas doses de curcumina diminuem a proliferação celular

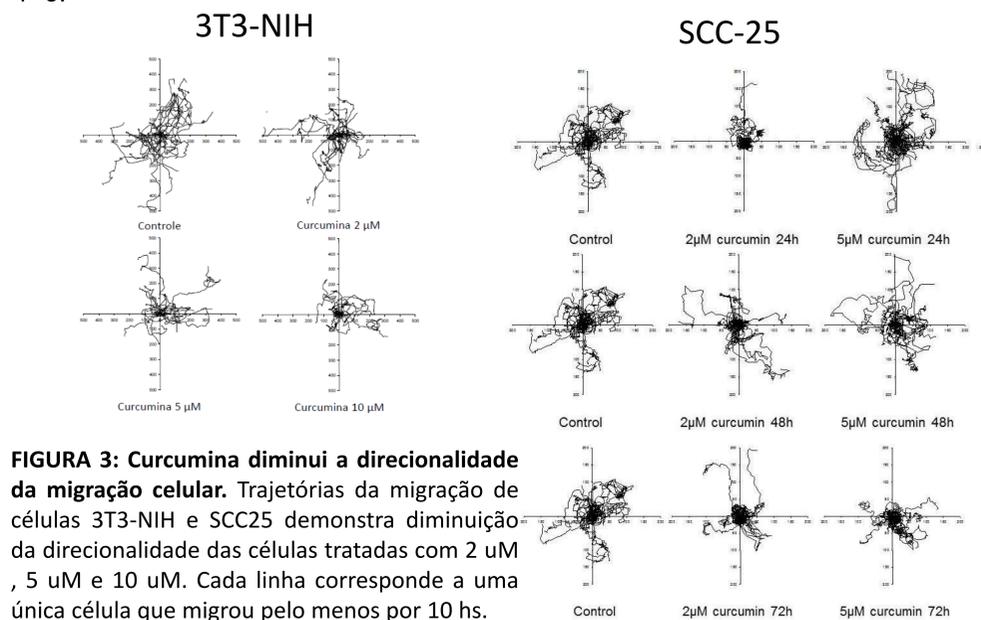
As células SCC 25, CAL 27 e 3T3-NIH foram plaqueadas *overnight* e tratadas com doses crescentes de curcumina (0; 2,5; 10; 20; 30; 40 e 50  $\mu$ M) por 24h. A proliferação celular foi analisada através do kit CyQuant NF Cell Proliferation Assay



**FIGURA 1: Curcumina diminui a proliferação celular.** Foi observado um efeito significativo na proliferação celular das 3 linhagens celulares (SCC25, Cal27 e 3T3-NIH) quando tratadas com baixas doses de curcumina (2 and 5  $\mu$ M) em relação ao controle. ANOVA,  $p < 0,001$  e  $n = 3$ .

### Resultado 3 - Baixas doses de curcumina alteram a direcionalidade

A partir dos resultados do ensaio de time-lapse (resultado 2), as trajetórias individuais foram analisadas e preparadas para começar de um ponto virtual X=0 e Y=0.



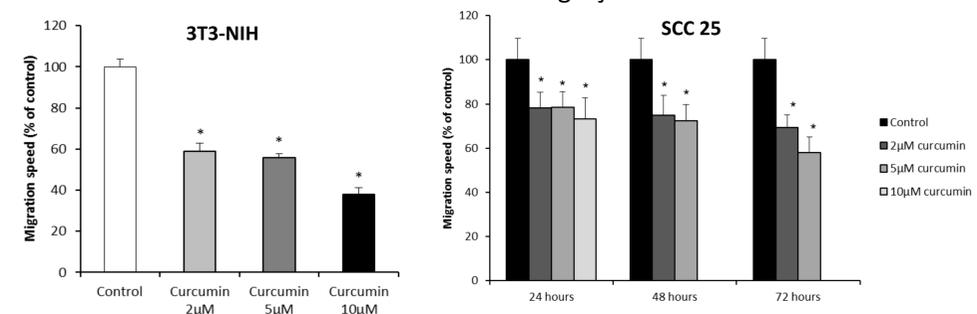
**FIGURA 3: Curcumina diminui a direcionalidade da migração celular.** Trajetórias da migração de células 3T3-NIH e SCC25 demonstra diminuição da direcionalidade das células tratadas com 2  $\mu$ M, 5  $\mu$ M e 10  $\mu$ M. Cada linha corresponde a uma única célula que migrou pelo menos por 10 hs.

## Resumo

Os produtos naturais têm sido estudados quanto aos seus efeitos sobre várias propriedades fisiológicas das células, na tentativa de descobrir novas drogas para o tratamento de diferentes doenças. A curcumina, um polifenol lipofílico amarelado oriundo da *Curcuma longa* possui propriedades antibacterianas, antioxidantes e anti-tumorais. No entanto, ainda não é claro os mecanismos através dos quais a curcumina pode interferir com as propriedades migratórias, um fenótipo comum de diferentes patologias. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da curcumina na migração de fibroblastos (3T3-NIH) e de carcinoma epidermóide de boca (SCC25). As linhagens foram tratadas com curcumina (2  $\mu$ M, 5  $\mu$ M e 10  $\mu$ M), plaqueadas em condições promotoras de migração (fibronectina 2 $\mu$ g/ml) e submetidos a ensaio de time lapse (20 h). Utilizando o software ImageJ, cada célula migratória foi acompanhada e os dados foram analisados quanto à velocidade de migração e à direcionalidade. Adicionalmente, os efeitos da curcumina sobre a atividade proliferativa foi analisada através de kit para a quantificação de conteúdo de DNA (CyQUANT® NF, Invitrogen). Observou-se que a curcumina em baixas concentrações (2 $\mu$ M) diminuiu em 50% a proliferação celular ( $n = 4$ ,  $p < 0,05$ ) em ambas as linhagens, sendo capaz de inibir a velocidade de migração em 50% para 3T3-NIH ( $n = 5$ ,  $p < 0,05$ ) e em 40% para SCC 25 ( $n = 4$ ,  $p < 0,05$ ). Durante a análise qualitativa da direcionalidade foi observado a diminuição da persistência de migração celular a partir de 2  $\mu$ M. Esses resultados sugerem que a curcumina é capaz de modular a migração e a proliferação celular em duas linhagens celulares, indicando um possível uso em futuras terapias.

### Resultado 2 - Baixas doses de curcumina diminuem a velocidade de migração

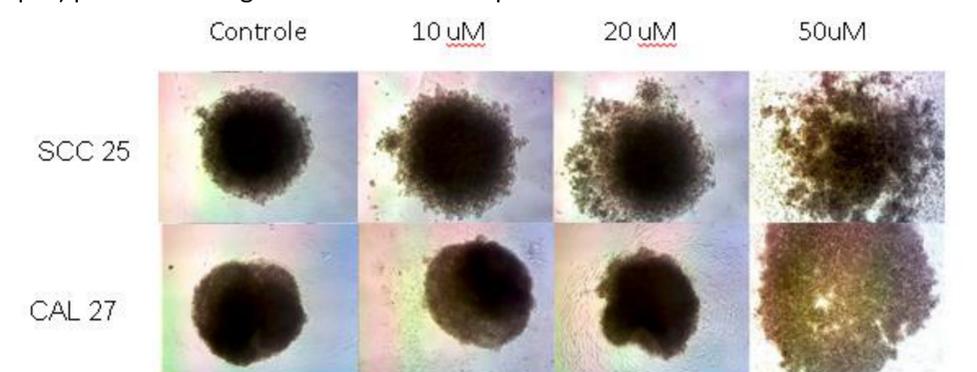
As células 3T3-NIH e SCC 25 foram plaqueadas *overnight* e tratadas com baixas doses de curcumina (0, 2, 5 e 10  $\mu$ M). Após, foram plaqueadas em uma matriz de fibronectina (2 $\mu$ g/ml) e realizado vídeo de migração 2D do tipo *time lapse* para analisar a velocidade e a direcionalidade de migração.



**FIGURA 2: Curcumina induz diminuição da migração celular.** A partir da análise dos filmes de migração celular foi observado que a curcumina diminuiu significativamente ( $p < 0,001$ ) a velocidade de migração celular em diferentes concentrações (2, 5 e 10  $\mu$ M) para ambas as linhagens celulares (3T3-NIH e SCC25), sendo que para a linhagem tumoral este efeito já é observado após 24h de tratamento. ANOVA,  $n = 3$ .

### Resultado 4 - Curcumina altera a coesão celular

As linhagens celulares SCC25 e CAL 27 foram plaqueadas ( $2 \times 10^4$ ;  $3 \times 10^4$ ) em uma placa de 96 poços com fundo recoberto com agarose (superfície não aderente). Após 24h da formação do esferóide, foram tratadas com curcumina (10; 20 e 50  $\mu$ M) por 24h e fotografadas em microscópio invertido.



**FIGURA 4: Curcumina diminui a adesão célula-célula:** Ensaio de esferóides com CAL 27 e SCC 25, após o tratamento com curcumina (10, 20 e 50  $\mu$ M). Houve perda de coesão entre as células após 24h de maneira dose-dependente.  $N = 8$

## Conclusão e Perspectivas

A curcumina é capaz de interferir na proliferação e migração celular, diminuindo-as de forma dose dependente. Efeitos significativos já são observados com doses baixas (2 $\mu$ M e 5 $\mu$ M).

Torna-se necessário analisar o papel da curcumina sobre vias de sinalização de migração celular que levam a alterações fenotípicas.

## Referências

- Hanahan D, Weinberg RA. Cell 2011; Mar 4 144(5): 646-74.
- Lauffenburger DA, Horwitz AF. Cell 1996; Feb 9 84(3): 359-69.
- Gardel ML, Schneider IC, Aratyn-Schaus Y, Waterman CM. Annu Rev Cell Dev Biol 2010; 26: 315-33.
- Gao W, Chan JY, Wei WI, Wong TS. 2012; Nov 12(9): 1110-6.
- Kunnumakkara AB, Anand P, Aggarwal BB. Cancer Lett 2008; Oct 8 269(2): 199-225.
- Yang CL, Liu YY, Ma YG, Xue YX, Liu DG, Ren Y, et al. PLoS One 2012; 7(5): e37960.
- Tsang RK, Tang WW, Gao W, Ho WK, Chan JY, Wei WI, et al. Cancer investigation 2012; Aug 30(7): 503-12.

## Apoio Financeiro