

# Fenólicos de *Baccharis trimera* induzem apoptose em células de glioma da linhagem C6

\*Chairini Cássia Thomé<sup>1</sup>, Lucimara Nardi Comunello<sup>2</sup>, Carulina Bueno Mesquita<sup>2</sup>, Mery Stéfani Leivas Pereira<sup>1</sup>, Fabrício Figueiró<sup>3</sup>, Ana Maria Oliveira Battastini<sup>3</sup>, Grace Gosmann<sup>2</sup>, Diogo Losch de Oliveira<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório 24, Departamento de Bioquímica, UFRGS. <sup>2</sup>Laboratório de Fitoquímica e Síntese Orgânica, Faculdade de Farmácia, UFRGS; <sup>3</sup>Laboratório 22, Departamento de Bioquímica, UFRGS.

\*chairini.thome@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o câncer tem ganhado uma dimensão cada vez maior, convertendo-se em um evidente problema de saúde pública mundial<sup>1</sup>. Glioblastomas são tumores primários do Sistema Nervoso Central altamente invasivos, vascularizados, de proliferação rápida e, geralmente, resistentes à quimioterapia. Apesar dos progressos nos estudos desses gliomas, seu prognóstico continua deficiente e a sobrevida média dos pacientes é de aproximadamente um ano. Em razão disso, são necessários mais esforços para conduzir o desenvolvimento racional de novas terapias.

*Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae), popularmente conhecida como carqueja, vem sendo amplamente estudada devido à sua atividade anti-inflamatória e antioxidante<sup>2</sup>. Os compostos fenólicos são os constituintes majoritários desse gênero e são descritos como bons marcadores químicos para a família Asteraceae. Os flavonoides são seus principais constituintes fenólicos, sendo relatada nesta espécie a presença de luteolina, nepetina, quercetina, apigenina e rutina. Nas últimas décadas, a quercetina e outros flavonoides têm sido estudados como agentes anticancerígenos, exercendo efeitos anti-proliferativos e atividade indutora de apoptose seletiva em células cancerosas, incluindo gliomas.

## OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi verificar se *B. trimera* interfere no crescimento das células da linhagem de glioma C6 em cultivo, assim como buscar elucidar o mecanismo para tal interferência

## MÉTODOS

**Extração de fenólicos:** As partes aéreas de *B. trimera* foram extraídas em soxhlet com solventes de polaridade crescente, diclorometano, acetato de etila e *n*-butanol. A fração enriquecida de fenólicos foi obtida a partir das frações acetato de etila e butanol, através de cromatografia por exclusão molecular.

**Cultura celular:** As células da linhagem C6 foram cultivadas em DMEM 5% SFB a 37°C e CO<sub>2</sub>/ar (95:5), semeadas em placas de 96 poços (4.000 células/poço) e após 48 horas, tratadas com a fração nas concentrações de 100-1.500 µg/mL, em quadruplicata.

**Viabilidade Celular:** Após 24 e 48 horas de incubação, as células contendo as frações e os controles (DMSO 1% e meio de cultura DMEM) foram submetidas ao ensaio de MTT (0,5 mg/mL) (n=4-9) e SRB (n=4-9).

**Ciclo celular** As células foram tratadas com a fração de fenólicos no IC<sub>50</sub> ou DMSO e 24h após foram marcadas com Iodeto de Propídeo (IP) (n=3). A fluorescência foi avaliada no citômetro de fluxo.

**Morte celular:** As células foram tratadas com a fração de fenólicos no IC<sub>50</sub> ou DMSO e 24h após foram marcadas com IP e Anexina V (n=3). A fluorescência foi avaliada no citômetro de fluxo.

**Análise Estatística:** Os resultados foram analisados por ANOVA seguidos do teste Tukey e comparados com o grupo DMSO (P<0.05).

## RESULTADOS

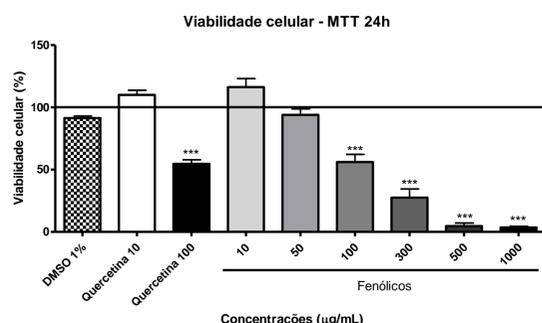


Figura 1. Viabilidade celular após tratamento por 24h. \*P<0,05, \*\*P<0,01 e \*\*\*P<0,001, quando comparado ao grupo controle DMSO 1% (ANOVA seguido por Tukey).

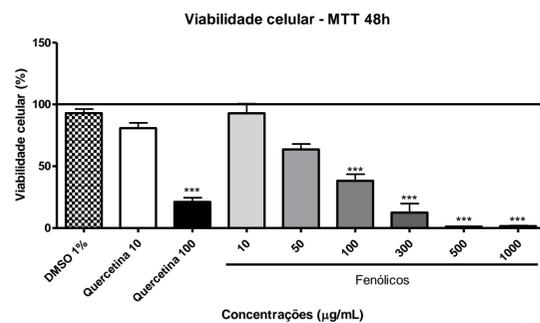


Figura 2. Viabilidade celular após tratamento por 48h. \*P<0,05, \*\*P<0,01 e \*\*\*P<0,001, quando comparado ao grupo controle DMSO 1% (ANOVA seguido por Tukey).

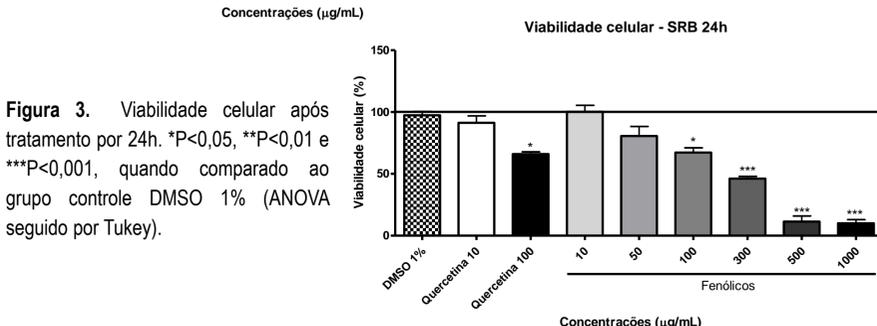


Figura 3. Viabilidade celular após tratamento por 24h. \*P<0,05, \*\*P<0,01 e \*\*\*P<0,001, quando comparado ao grupo controle DMSO 1% (ANOVA seguido por Tukey).

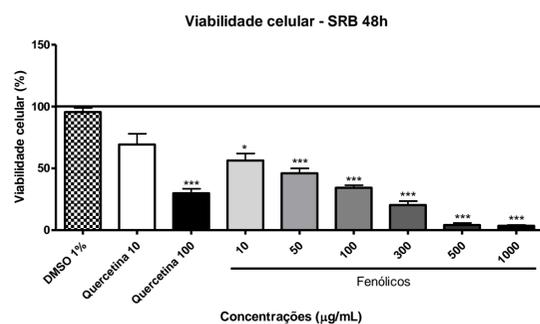


Figura 4. Viabilidade celular após tratamento por 48h. \*P<0,05, \*\*P<0,01 e \*\*\*P<0,001, quando comparado ao grupo controle DMSO 1% (ANOVA seguido por Tukey).

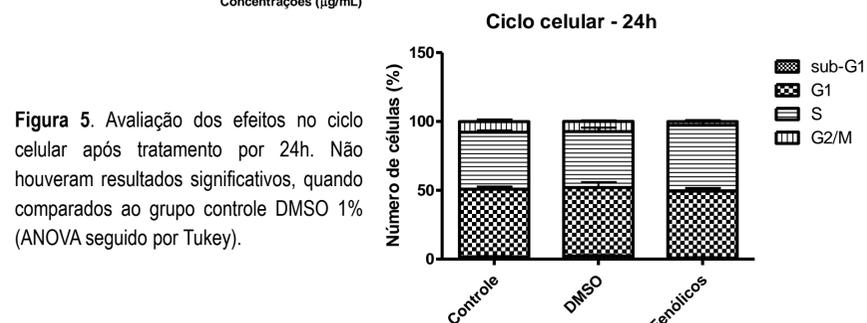


Figura 5. Avaliação dos efeitos no ciclo celular após tratamento por 24h. Não houveram resultados significativos, quando comparados ao grupo controle DMSO 1% (ANOVA seguido por Tukey).

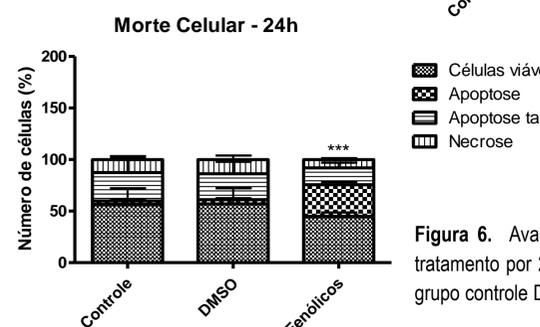


Figura 6. Avaliação dos efeitos na morte celular após tratamento por 24h. \*\*\*P<0,001, quando comparado ao grupo controle DMSO 1% (ANOVA seguido por Tukey).

## CONCLUSÃO

A fração de fenólicos apresentou uma inibição dose e tempo-dependente da viabilidade das células C6, apresentando IC<sub>50</sub> de 113,4 µg/ml após 24 horas de incubação. Não foram detectadas alterações nas fases do ciclo celular, demonstrando que atividade da fração não apresenta efeito anti-proliferativo. Os resultados demonstram que a diminuição da viabilidade celular das células da linhagem C6 causada pelo seu tratamento com a fração enriquecida de fenólicos de *B. trimera* está mais relacionada com o evento apoptótico do que com o necrótico. Este resultado torna relevante futuras avaliações das vias de sinalização envolvidas no processo de apoptose das células da linhagem C6 tratadas com esta fração.

## PALAVRAS-CHAVE:

Glioma, *B. trimera*, linhagem C6, cromatografia por exclusão molecular, viabilidade celular, morte celular.

## REFERÊNCIAS

<sup>1</sup>INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA), 2012. <sup>2</sup>GOSMANN, G.; OLIVEIRA, C .B. de; COMUNELLO, L. N. *RPMP, Ethnomedicine - Source & Mechanism-II* 28, 107-120, 2010.

## APOIO: