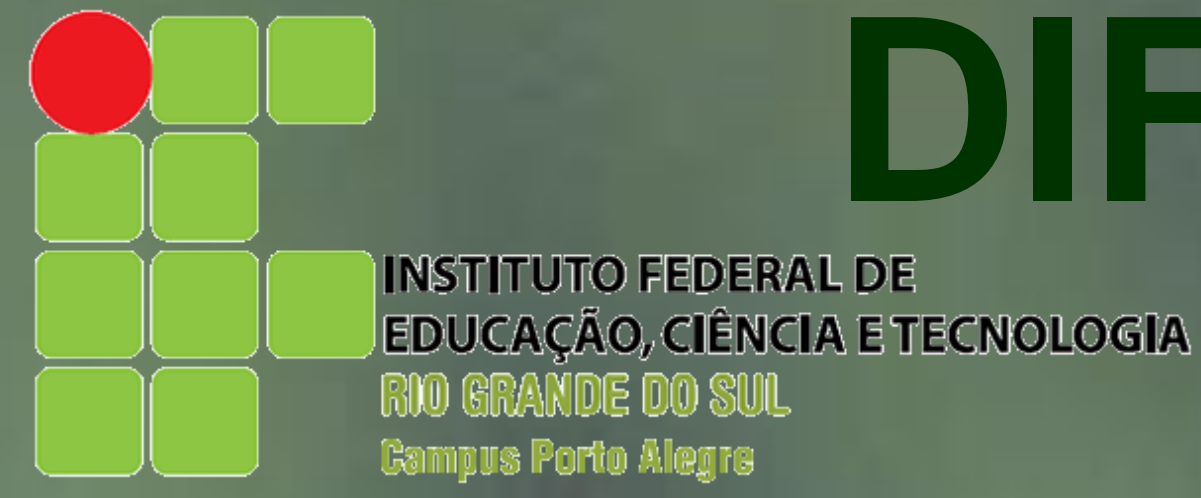


VIABILIDADE DE CÉLULAS DE CÂNCER DE CÉRVIX UTERINO HUMANO APÓS O TRATAMENTO COM DIFERENTES FRAÇÕES DE EXTRATOS DE *B. ARTICULATA*



¹GABRIEL FERNANDES SILVEIRA, ¹KAMILA PAZZA, ²CRISTIANE BERNARDES DE OLIVEIRA, ²GRACE GOSMANN, ²ANDRÉIA BUFFON, ¹ALESSANDRA NEJAR BRUNO.

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – Campus POA (IFRS-POA). ²Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do RS (UFRGS). Porto Alegre-RS.

INTRODUÇÃO

- O câncer de colo de útero ocupa um lugar de destaque nas taxas de morbi-mortalidade entre a população feminina sendo a segunda neoplasia mais frequente no mundo todo;
- É previsto o aumento da incidência deste tipo de câncer, porém tratamentos disponíveis apresentam eficácia variável, além de possibilidade de recorrência, altos custos e uma série de efeitos colaterais;
- Estudos vêm demonstrando propriedades terapêuticas de diferentes espécies vegetais relacionando tais propriedades com a expressão de moléculas ativas;
- Baccharis articulata* é uma planta nativa do sul e sudeste brasileiro amplamente empregada na medicina popular com efeitos biológicos já relatados como: atividades anti-inflamatória, antimicrobiana, analgésica, antidiabética, antihepatotóxica, antimutagênica e relaxante muscular (Oliveira et al., 2005; Betoni et al., 2006);
- Até o momento não existem estudos relacionando efeitos biológicos de plantas do gênero *Baccharis* com proliferação e/ou toxicidade em células tumorais.

OBJETIVOS

- Avaliação do efeito de diferentes frações e concentrações do extrato de *B. articulata* na viabilidade celular de uma linhagens de câncer uterino humano (SiHa) e de uma linhagem não tumoral de queratinócitos humanos (HaCaT), assim como em linfócitos humanos;
- Verificação dos efeitos biológicos de plantas nativas brasileiras empregadas na medicina popular;
- Contribuir para a busca de novos fármacos antineoplásicos específicos para este tipo de tumor.

METODOLOGIA

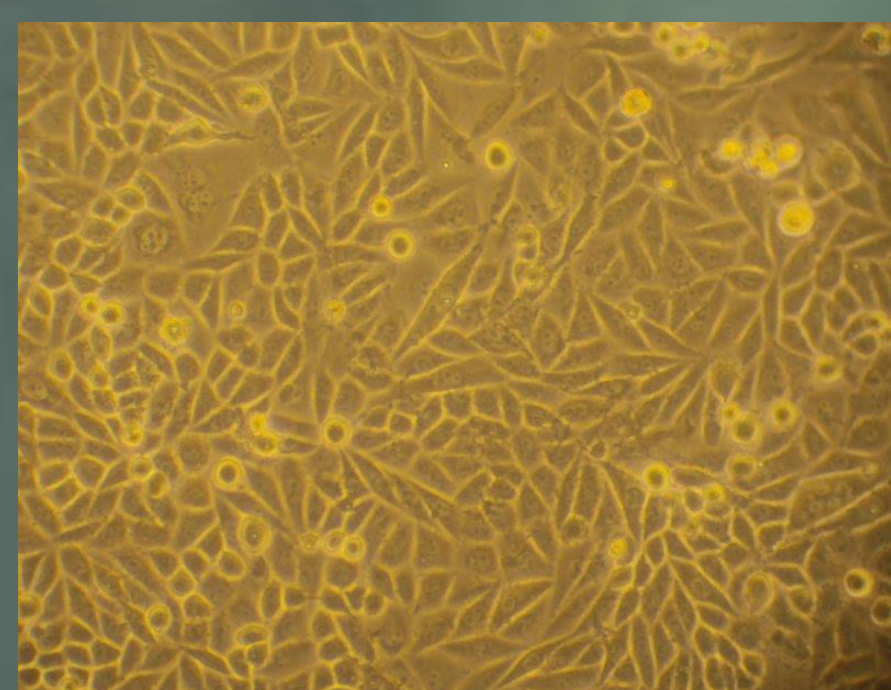


Figura 01: Foto em ampliação de 200x da linhagem de câncer de colo uterino SiHa.



Figura 02: As diferentes linhagens celulares (SiHa e HaCaT) foram mantidas em estufas de CO₂ a 37°C com meio DEMEM acrescido de 10% de soro fetal bovino; A repicagem foi realizada periodicamente com tripsina/EDTA.

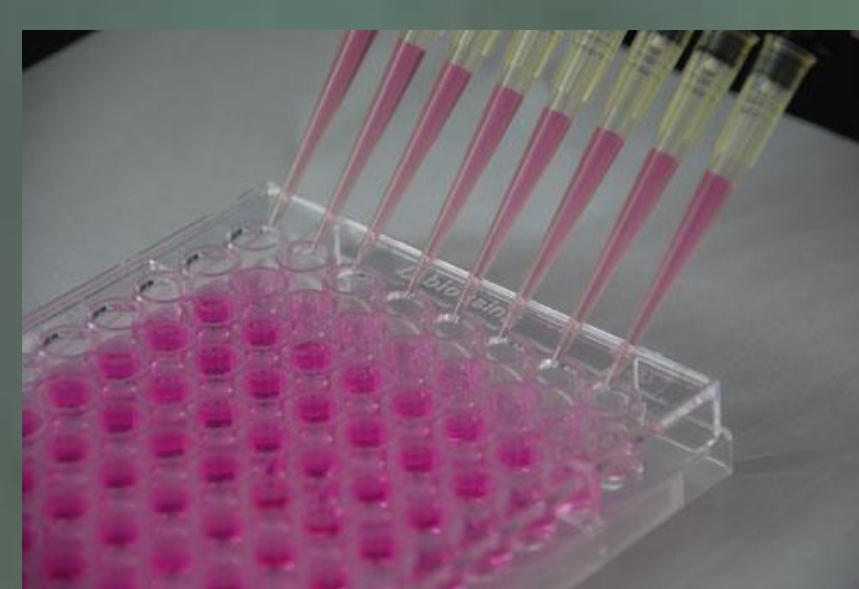


Figura 03

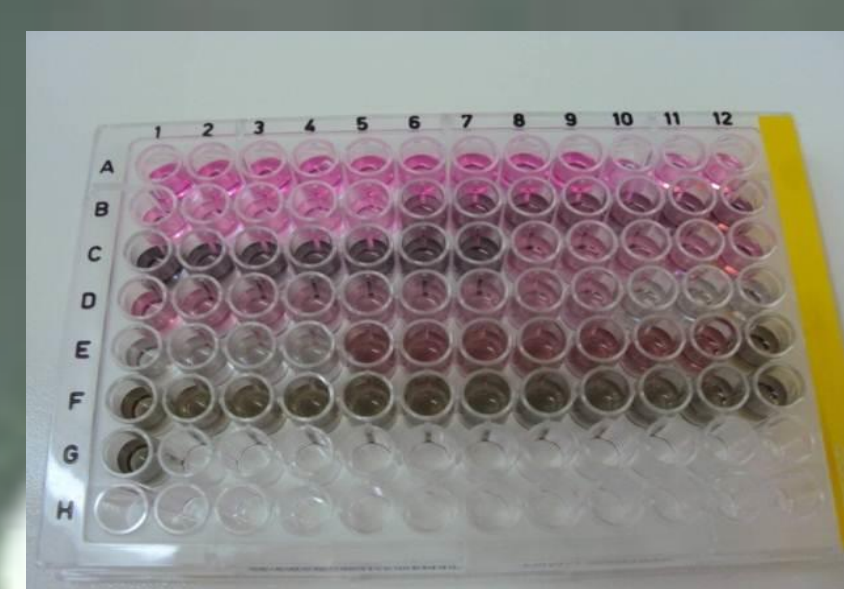


Figura 04

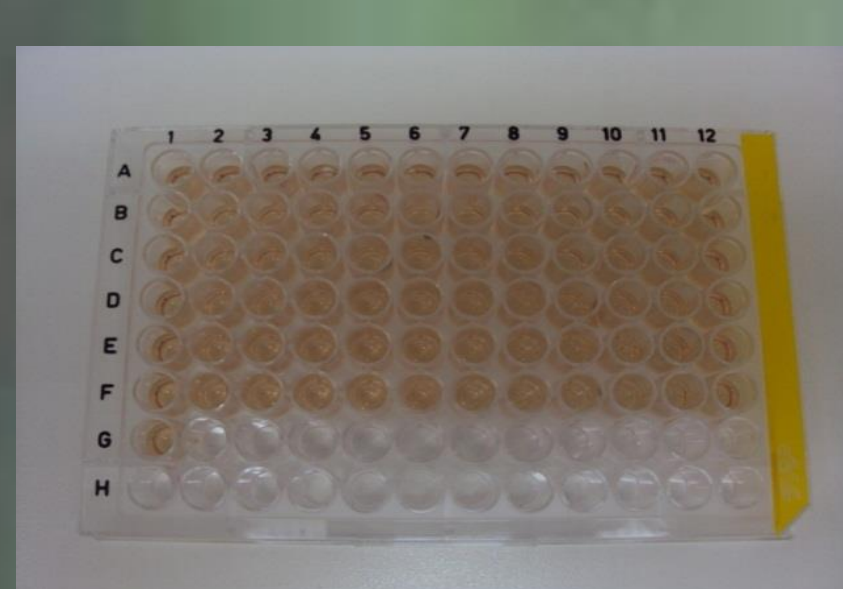


Figura 05

Linfócitos humanos foram obtidos de sangue periférico e isolados utilizando Histopaque® para a obtenção de células mononucleares. Após sucessivas lavagens, os linfócitos obtidos foram plaqueados na concentração de 10.000 células/poço em placas de 96 poços. O tratamento testado foi iniciado 6 horas após o plaqueamento.

Figura 03: As linhagens foram semeadas na concentração de 2000 células em placas 96 poços e o tratamento com os extratos testados foi iniciado 48 horas após o plaqueamento.

Figura 04: As partes aéreas moidas de *B. articulata* foram extraídas através de soxhlet e fracionadas segundo Oliveira (2005). As frações de *Baccharis articulata* utilizadas foram: diclorometano, acetato de etila, n-butanol, aquosa e bruto nas concentrações de 200 - 1.500 µg/mL, solubilizadas em DMSO (Dimethyl Sulfoxide) e meio DMEM (fração aquosa).

Após 24 e 48 horas de tratamento, as células foram submetidas a contagem celular com azul de tripan e ao ensaio de MTT (5mg/mL) (Figura 05) para análise da viabilidade celular.

Figura 06: Depois de 3,5 horas de incubação, o MTT foi retirado e os cristais de formazona formados foram solubilizados em DMSO para posterior leitura em 545 nm e 630 nm.

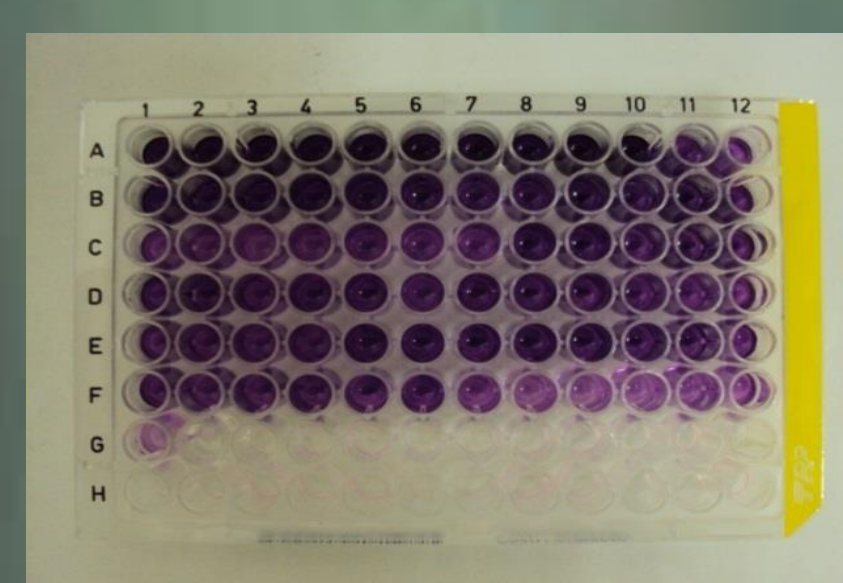


Figura 06

RESULTADOS

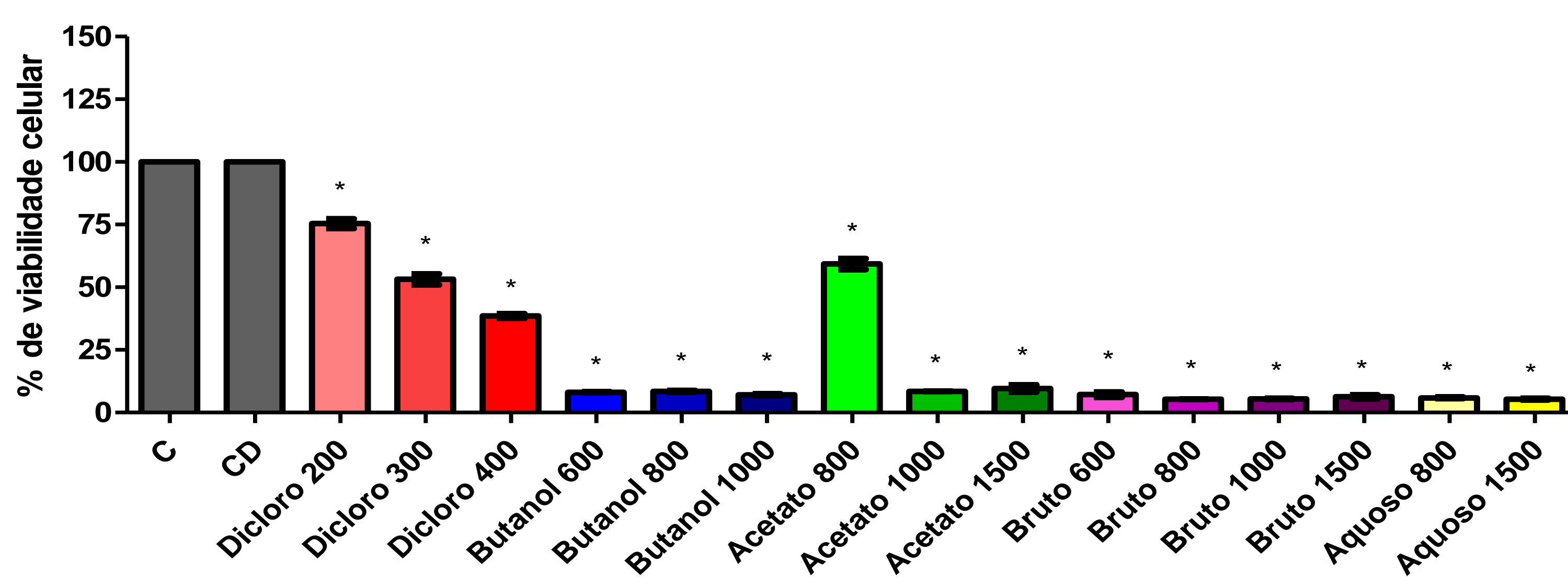


Figura 07: Efeito das diferentes frações de extratos de *B. articulata* sobre a viabilidade de células de carcinoma cervical (SiHa) após 24 e 48 horas de tratamento. Os dados demonstram valores de média e desvio padrão de 4 experimentos independentes realizados em triplicata. * p<0,05 (teste ANOVA de 1 via seguido do teste de Tukey).

RESULTADOS

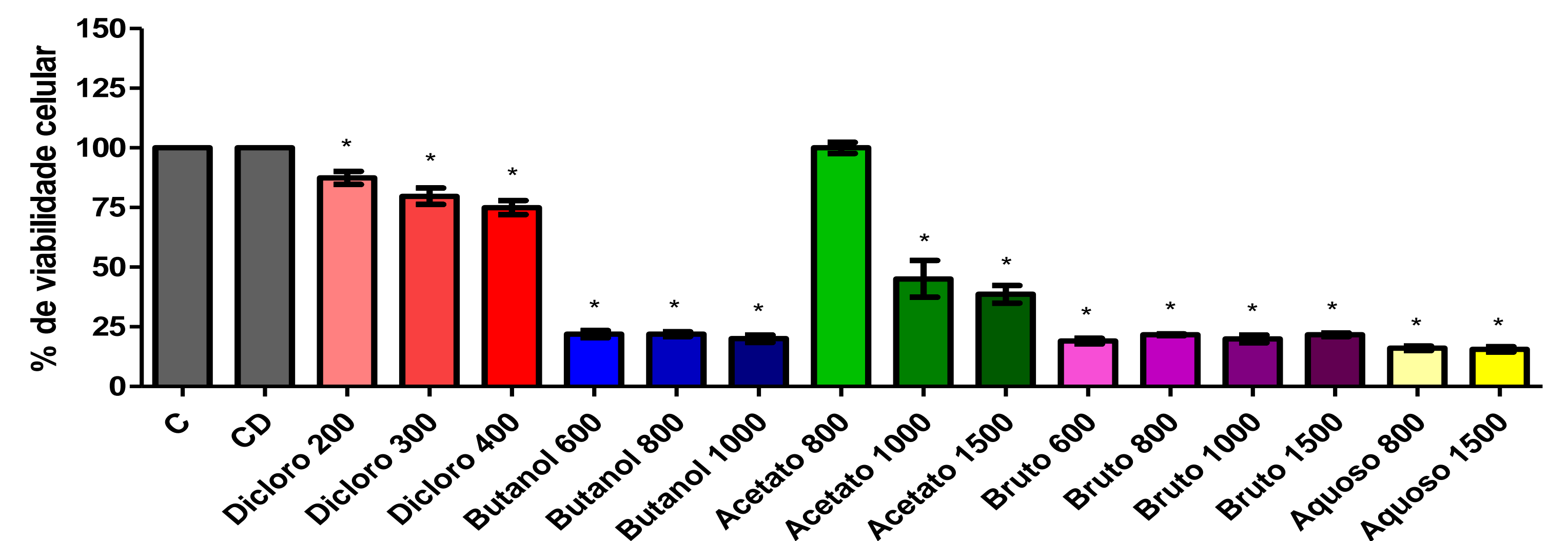


Figura 08: Efeito das diferentes frações de extratos de *B. articulata* sobre a viabilidade de células de carcinoma cervical (SiHa) após 24 e 48 horas de tratamento. Os dados demonstram valores de média e desvio padrão de 4 experimentos independentes realizados em triplicata. * p<0,05 (teste ANOVA de 1 via seguido do teste de Tukey).

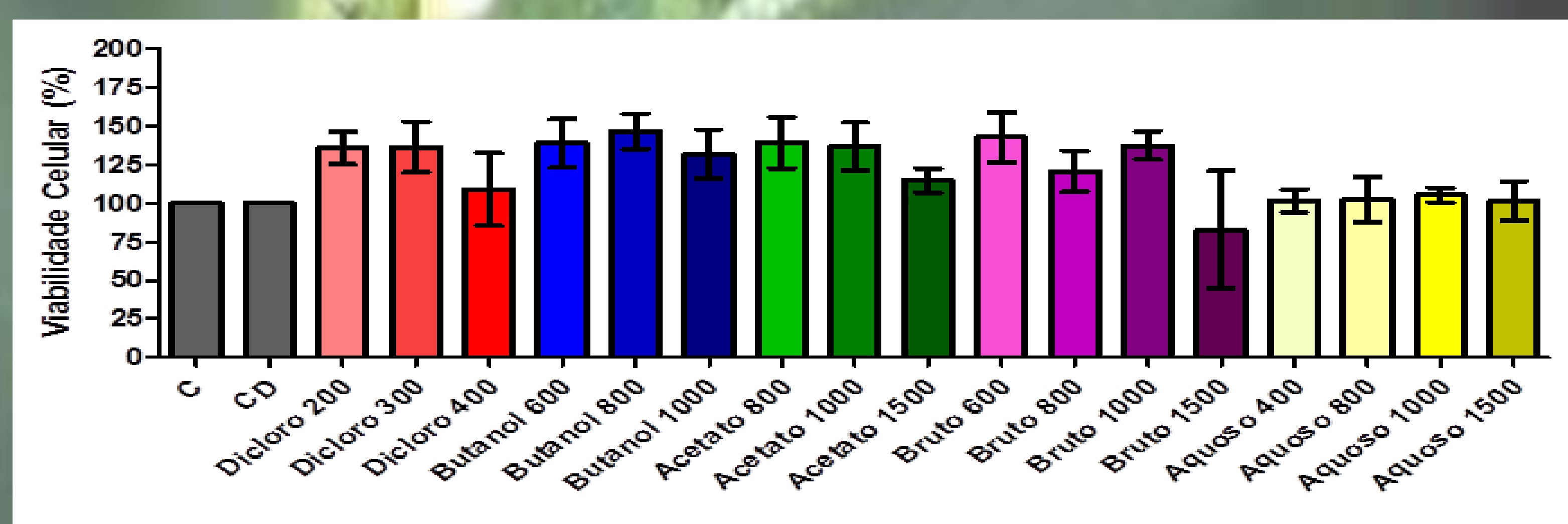
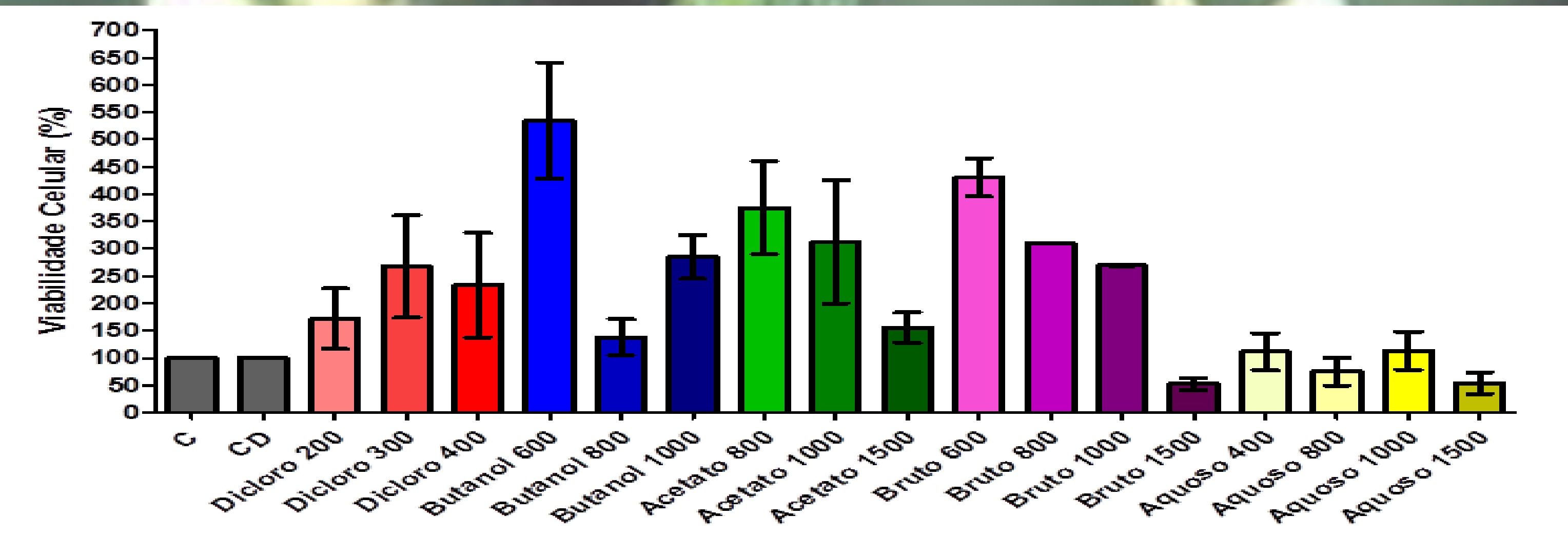


Figura 09 e 10: Efeito das diferentes frações de extratos de *B. articulata* sobre a viabilidade de células de queratinócitos humanos imortalizados (HaCaT) após 24 e 48 horas de tratamento. Os dados demonstram valores de média e desvio padrão de 2 experimentos independentes realizados em triplicata. * p<0,05 (teste ANOVA de 1 via seguido do teste de Tukey).

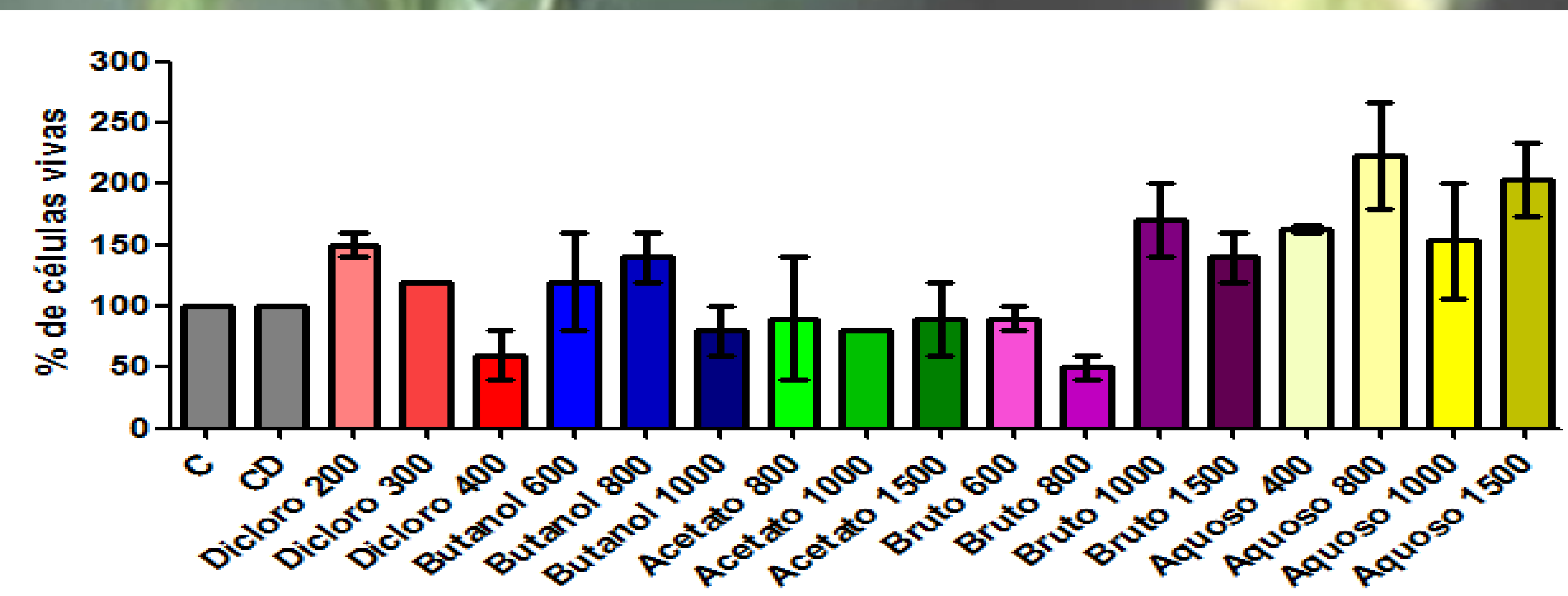


Figura 11: Efeito das diferentes frações de extratos de *B. articulata* sobre a viabilidade de linfócitos humanos após 24 horas de tratamento. Os dados demonstram valores de média e desvio padrão de 2 experimentos independentes realizados em triplicata. * p<0,05 (teste ANOVA de 1 via seguido do teste de Tukey).

CONCLUSÕES

- As frações de *B. articulata* inibiram a viabilidade das células de câncer de colo uterino humano.
- Entre 13 e 85% em 24 horas e 25 a 95% em 48 horas de tratamento para SiHa;

•O resultado da contagem celular foi condizente com o MTT;

•Não foi verificada inibição significativa na linhagem não tumoral (HaCaT);

•Não foi verificada inibição significativa nos linfócitos humanos.

•Verificação de dose dependência em diferentes frações e tempos de tratamento em naslinhagem tumoral testada;

•Contribuição na geração de perspectivas para a descoberta de novas alternativas terapêuticas para o câncer uterino humano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DE OLIVEIRA, S.Q.; DAL-PIZZOL, F.; GOSMANN, G.; GUILLAUME, D.; MOREIRA, J.C.F.; SCHENKEL, E.P. Antioxidant Activity of *Baccharis articulata* Extracts: Isolation of a New Compound with Antioxidant Activity. *Free Rad. Res.*, 37(5): 555–559, 2003.
- BETONI, J. E. C. ; MANTOVANI, R. P. ; BARBOSA, L. N. ; STASI, L. C. D. ; JUNIOR, A. F. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 101: 387-390, 2006.
- BUFFON, A.; RIBEIRO, V.B.; WINK, M.R.; CASALI, E.A.; SARKIS, J.J. Nucleotide metabolizing ecto-enzymes in Walker 256 tumor cells: molecular identification, kinetic characterization and biochemical properties. *Life Sci.*, 80(10): 950-958, 2007.
- KANDOUZ, M.; ALACHKAR, A.; ZHANG, L.; DEKHLI, H.; CHEHNA, F.; YASMEEN, A.; MOUSTAFA, A. *Teucrium polium* plant extract inhibits cell invasion and motility of human prostate cancer cells via the restoration of the E-cadherin/catenin complex. *J. Ethnopharmacol.*, 129: 410–415, 2010.
- SOUZA, J.N.S.; SILVA, E.M.; LOIR, A.; REES, J-F.; ROGEZ, H.; LARONDELLE, Y. Antioxidant capacity of four polyphenol-rich Amazonian plant extracts: A correlation study using chemical and biological *in vitro* assays. *Food Chem.*, 106: 331–339, 2008.

APOIO

