

VIABILIDADE DE DIFERENTES LINHAGENS CELULARES DE CÂNCER DE CÉRVICE UTERINO HUMANO APÓS TRATAMENTO COM EXTRATOS DE *BACCHARIS ARTICULATA*

¹GABRIEL FERNANDES SILVEIRA, ¹SCHERON RATHKE GIUBEL, ¹KETLEN DA SILVEIRA MORAES, ²LUCIMARA NARDI COMUNELLO, ²GRACE GOSMANN, ²ANDRÉIA BUFFON E 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 duas linhagens de câncer uterino humano (SiHa e HeLa);
- 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

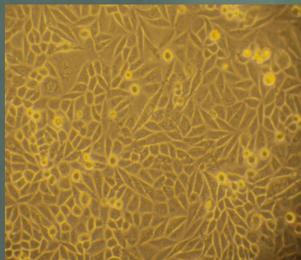


Figura 01: Foto em ampliação de 200x da linhagem de câncer de colo uterino SiHa.



Figura 02

Figura 02: As diferentes linhagens celulares (SiHa e HeLa) 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

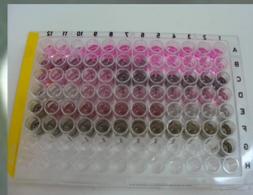


Figura 04

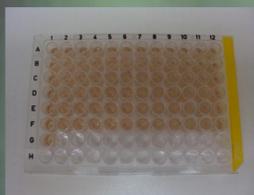


Figura 05

Figura 03: Foram semeadas 2000 células/poço em placas de 96 poços e o tratamento com os extratos testados foi iniciado 36 horas após o plaqueamento.

Figura 04: As partes aéreas moídas 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).

Figura 05: Após 24 e 48 horas de incubação, foi realizado o ensaio de MTT (brometo de 3-dimetiltiazol-2-yl-2,5-difeniltetrazolio) na concentração final de 0,5 mg/mL 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.

Para a análise morfológica da linhagem SiHa, 20.000 células foram plaqueadas por poço em placas de 24 poços utilizando laminulas autoclavadas. Após 24 horas de tratamento, as lâminas foram preparadas utilizando hematoxilina e fotografadas com o auxílio de microscópio invertido acoplado com câmara em aumento aproximado de 400 vezes.

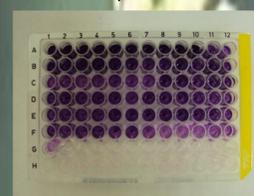


Figura 06

RESULTADOS

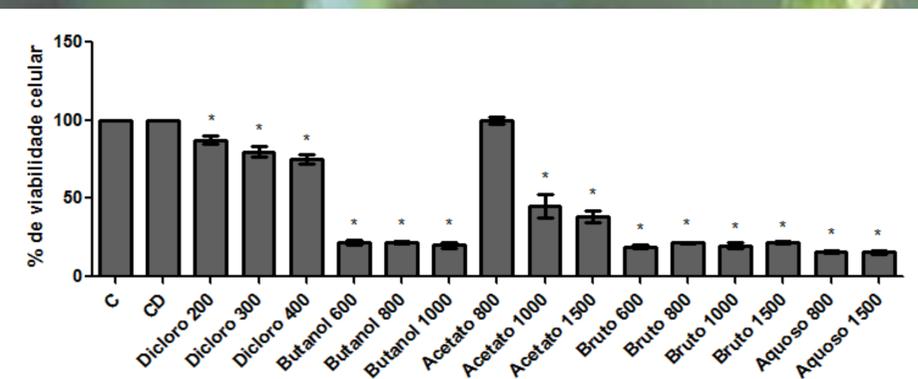


Figura 07: Efeito das diferentes frações de extratos de *B. articulata* sobre a viabilidade de células de carcinoma cervical (SiHa) após 24 horas de tratamento. Os dados demonstram valores de média e desvio padrão de 4 experimentos independentes realizados em triplicata. * p<0,05 (teste ANOVA de 1 via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

APOIO

RESULTADOS

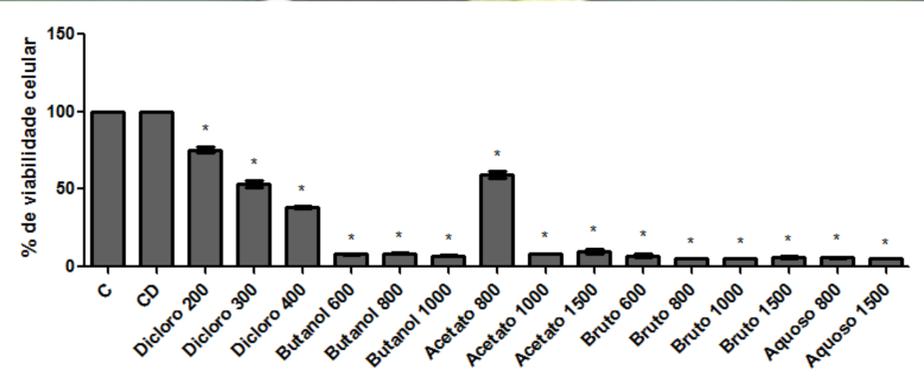


Figura 08: Efeito das diferentes frações de extratos de *B. articulata* sobre a viabilidade de células de carcinoma cervical (SiHa) após 48 horas de tratamento. Os dados demonstram valores de média e desvio padrão de 4 experimentos independentes realizados em triplicata. * p<0,05 (teste ANOVA de 1 via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

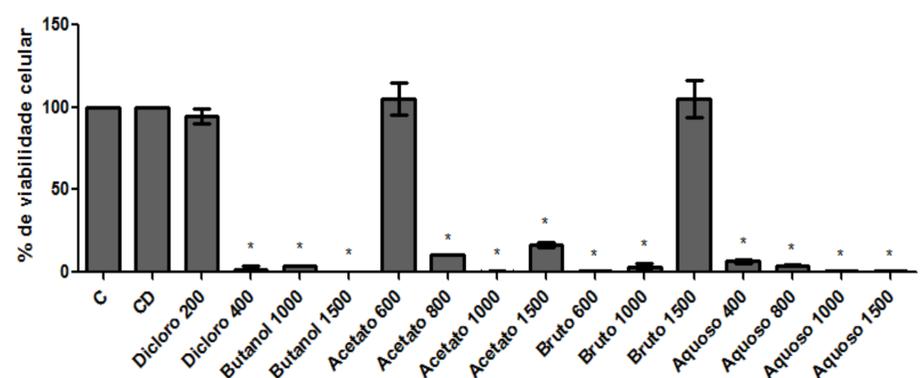


Figura 09: Efeito das diferentes frações de extratos de *B. articulata* sobre a viabilidade de células de carcinoma cervical (HeLa) após 24 horas de tratamento. Os dados demonstram valores de média e desvio padrão de 2 experimentos independentes realizados em triplicata. * p<0,05 (teste ANOVA de 1 via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

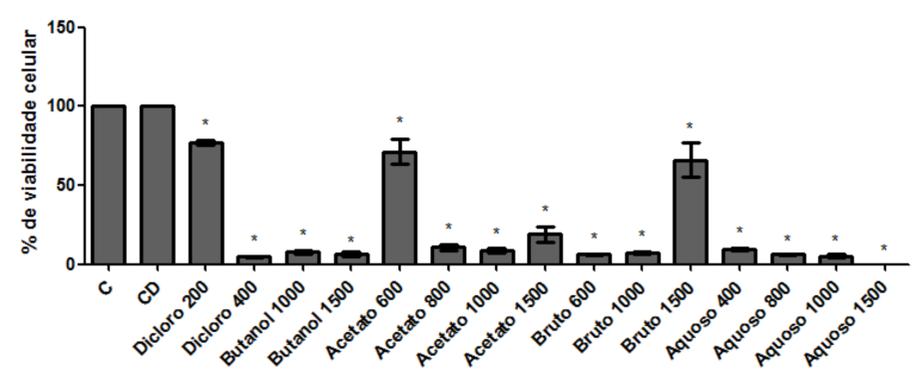


Figura 10: Efeito das diferentes frações de extratos de *B. articulata* sobre a viabilidade de células de carcinoma cervical (HeLa) após 48 horas de tratamento. Os dados demonstram valores de média e desvio padrão de 2 experimentos independentes realizados em triplicata. * p<0,05 (teste ANOVA de 1 via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

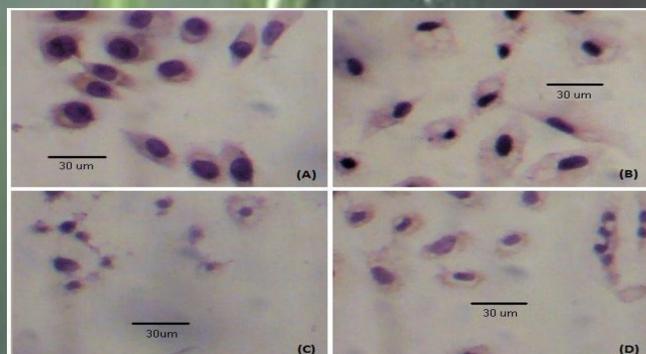


Figura 11: Análise morfológica da linhagem SiHa após 24 horas de tratamento com as frações dicloro metano 400 mg/mL (B), aquosa 1500 mg/mL (C) e butanol 600 mg/mL em relação às células não submetidas ao tratamento (A).

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;
 - Entre 03 e 99% em 24 horas e 23 e 95% em 48 horas de tratamento para HeLa;
- Verificação de dose dependência em diferentes frações e tempos de tratamento em ambas as linhagens tumorais testadas;
- Várias frações foram capazes de induzir alterações morfológicas, provavelmente associadas com processos apoptóticos;
- Contribuição na geração de perspectivas para a descoberta de novas alternativas terapêuticas para o câncer uterino humano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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*, v. 101, n. 4, p. 387-390, 2006.

OLIVEIRA, A. C. P.; ENDRINGER, D. C.; AMORIN, L. A. S.; BRANDÃO, M. G.; COELHO, M. M. Effect of the extracts & fractions of *Baccharis trimera* & *Syzygium cumini* on glycaemia of diabetic & non-diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 102: 465-469, 2005.