

# EFEITO DO TRATAMENTO COM FRAÇÕES PURIFICADAS BIOATIVAS DE *UNCARIA TOMENTOSA* (WILLD) DC. SOBRE A PROLIFERAÇÃO CELULAR E A SINALIZAÇÃO PURINÉRGICA EM LINHAGEM DE CÂNCER DE BEXIGA HUMANA T24.

Cunha, F.M.<sup>1</sup>; Dietrich, F.<sup>1</sup>; Rockenbach, L.<sup>1</sup>; Cappellari, A.R.<sup>1</sup>; Kaiser, S.<sup>2</sup>; Ortega, G.G.<sup>2</sup>; Morrone, F.B.<sup>3</sup>; Battastini, A.M.O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS, RS/Brasil; <sup>2</sup>PPG-Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, UFRGS, RS/Brasil; <sup>3</sup>Faculdade de Farmácia, PUCRS, RS/Brasil

## Introdução

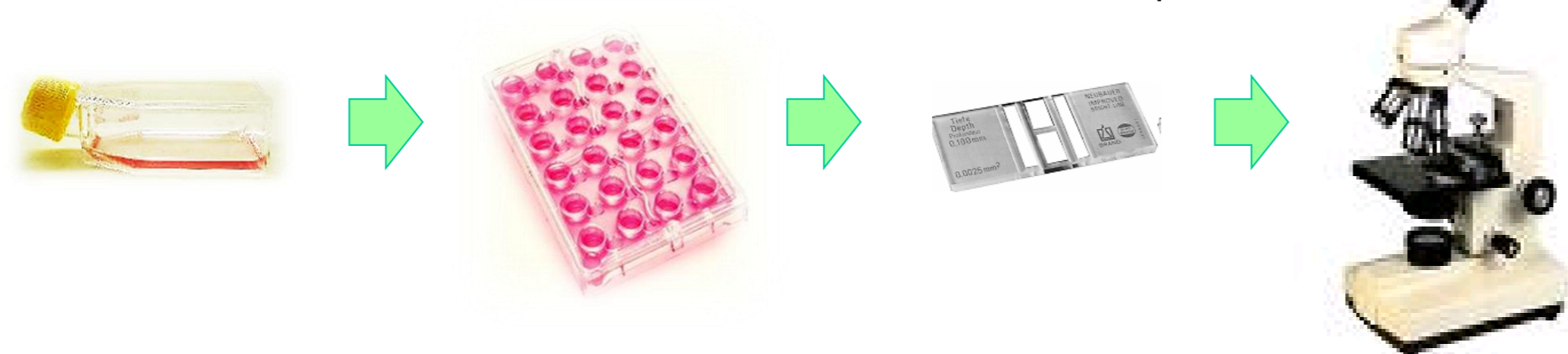
O câncer de bexiga é a neoplasia mais comum do trato urinário, sendo a eficácia dos tratamentos, muitas vezes, insuficiente. Na busca de novos tratamentos, pesquisas tentam encontrar compostos a partir de plantas medicinais como da espécie *Uncaria tomentosa* (UT), que apresenta metabólitos com efeito antitumoral sobre diferentes linhagens celulares. Ainda, a participação da sinalização purinérgica na fisiologia da bexiga, tem demonstrando fortes evidências do envolvimento deste sistema na progressão desta forma tumoral. Considerando estes dados, o objetivo deste estudo é investigar um possível efeito das frações de UT sobre a proliferação de células tumorais de bexiga e sobre a sinalização purinérgica.

## Métodos

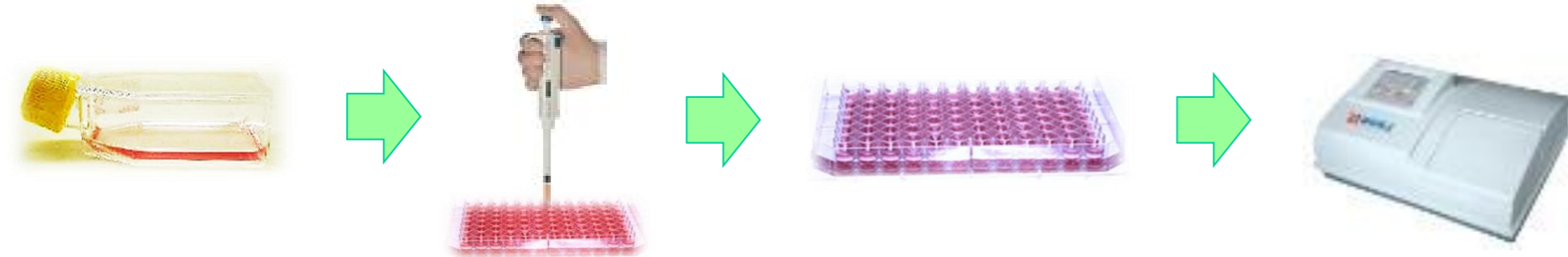
A fração alcaloídica (FA) e a fração triterpênica (FT) foram obtidas das cascas de *Uncaria tomentosa* pelo processo de maceração.

A linhagem T24 de tumor de bexiga humana foi obtida da ATCC e mantida em meio de cultivo RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino e mantida em incubadora a 37°C com umidade relativa do ar de 95% e atmosfera de 5% CO<sub>2</sub>.

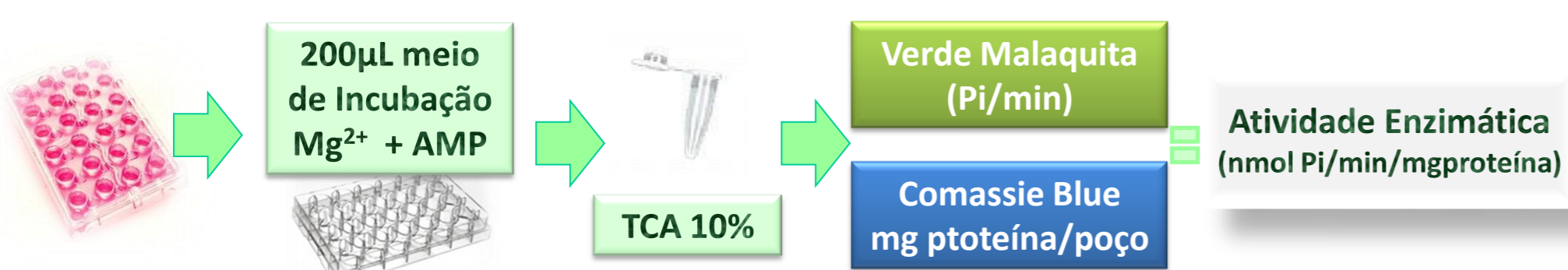
Para avaliar a **proliferação celular**, as células foram semeadas em placas de 24 poços e expostas por períodos de 24, 48 e 72h à concentrações de 5, 10, 25, 50, 100 e 150 µg.mL<sup>-1</sup> de FA e FT.



Para a medida da **viabilidade celular** foi utilizado o ensaio do MTT.



Para determinação da **atividade enzimática** da ecto-5'-nucleotidase/CD73, o fosfato inorgânico liberado foi medido pelo método do verde malaquita.



Ainda, verificou-se a adesão celular, onde as células tiveram a intensidade da coloração determinada por densidade óptica.

## Resultados

### Atividade anti-proliferativa da FA e FT na linhagem celular de câncer de bexiga humana

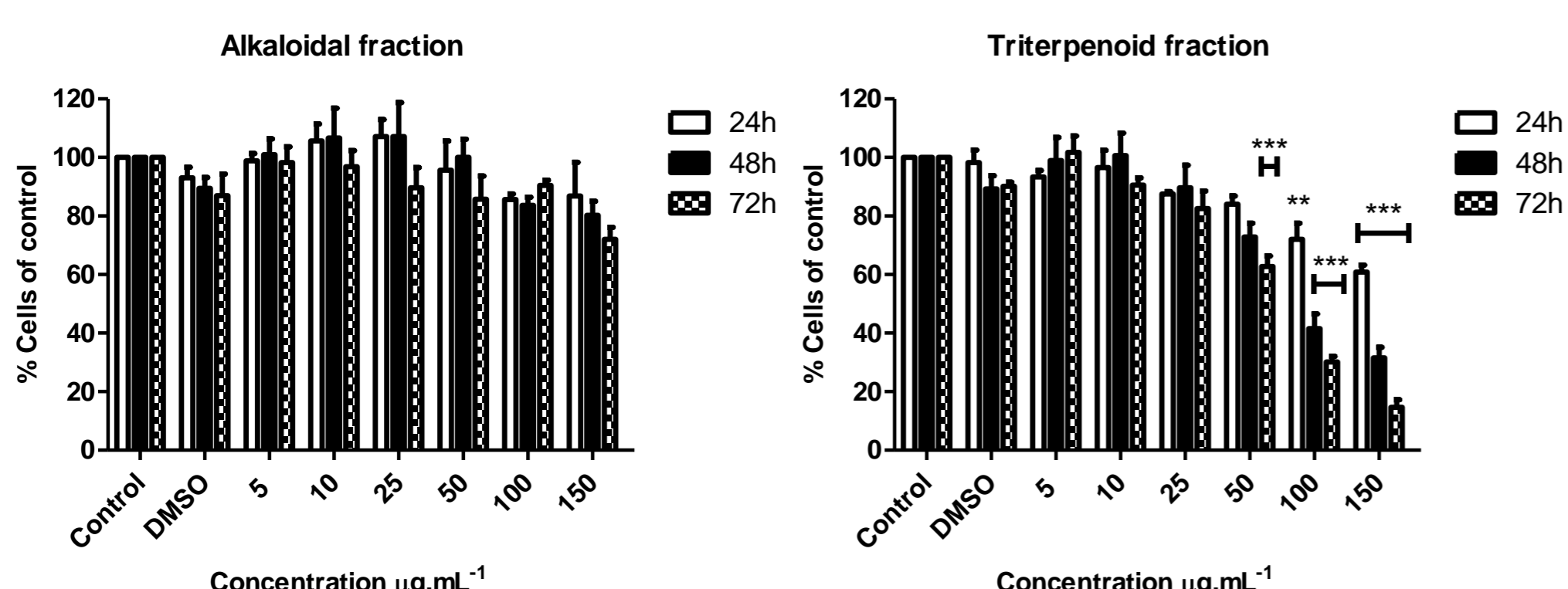


Fig. 1. Efeito antiproliferativo da FA e FT na linhagem de câncer de bexiga humana. Experimentos foram realizados em triplicata (n=3) e os valores expressos como média±DP e analisados pelo teste estatístico ANOVA de uma via, seguido por Tukey post-hoc. \*\* p < 0.001; \*\*\* p < 0.0001 comparados ao DMSO.

### FT diminui a viabilidade celular

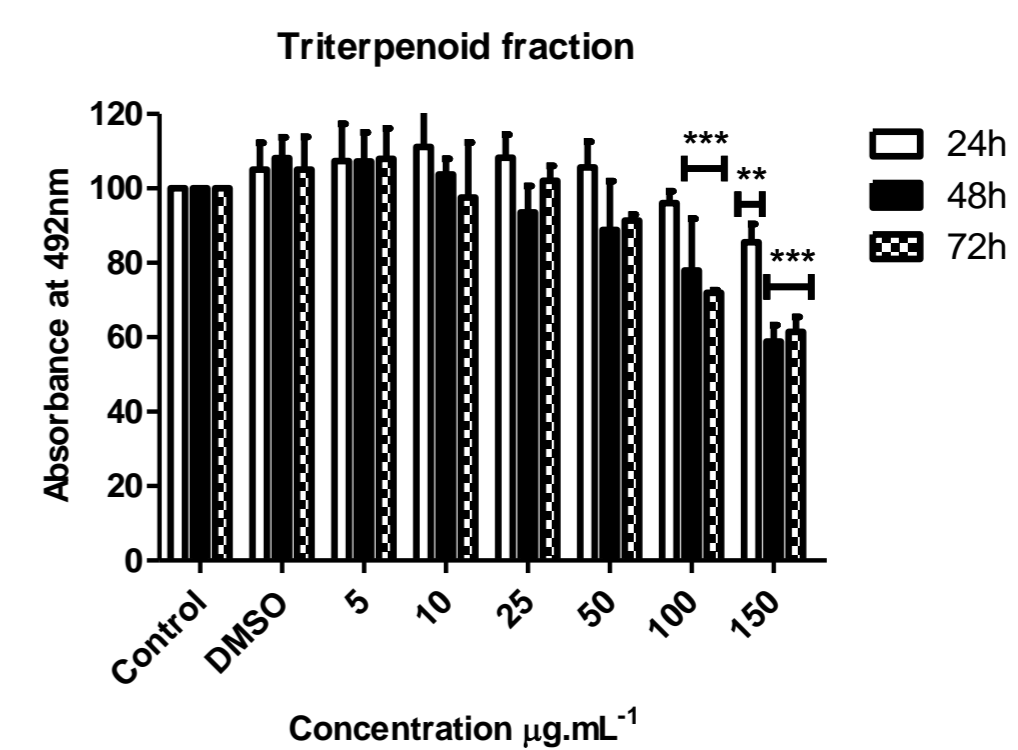


Fig. 2. Efeito da FT na viabilidade celular da linhagem T24. Experimentos foram realizados em triplicata (n=3) e os valores expressos como média±DP e analisados pelo teste estatístico ANOVA de uma via, seguido por Tukey post-hoc. \*\* p < 0.001; \*\*\* p < 0.0001 comparados com DMSO.

### Ecto-5'-NT/CD73 não é responsável pela morte das células tumorais T24

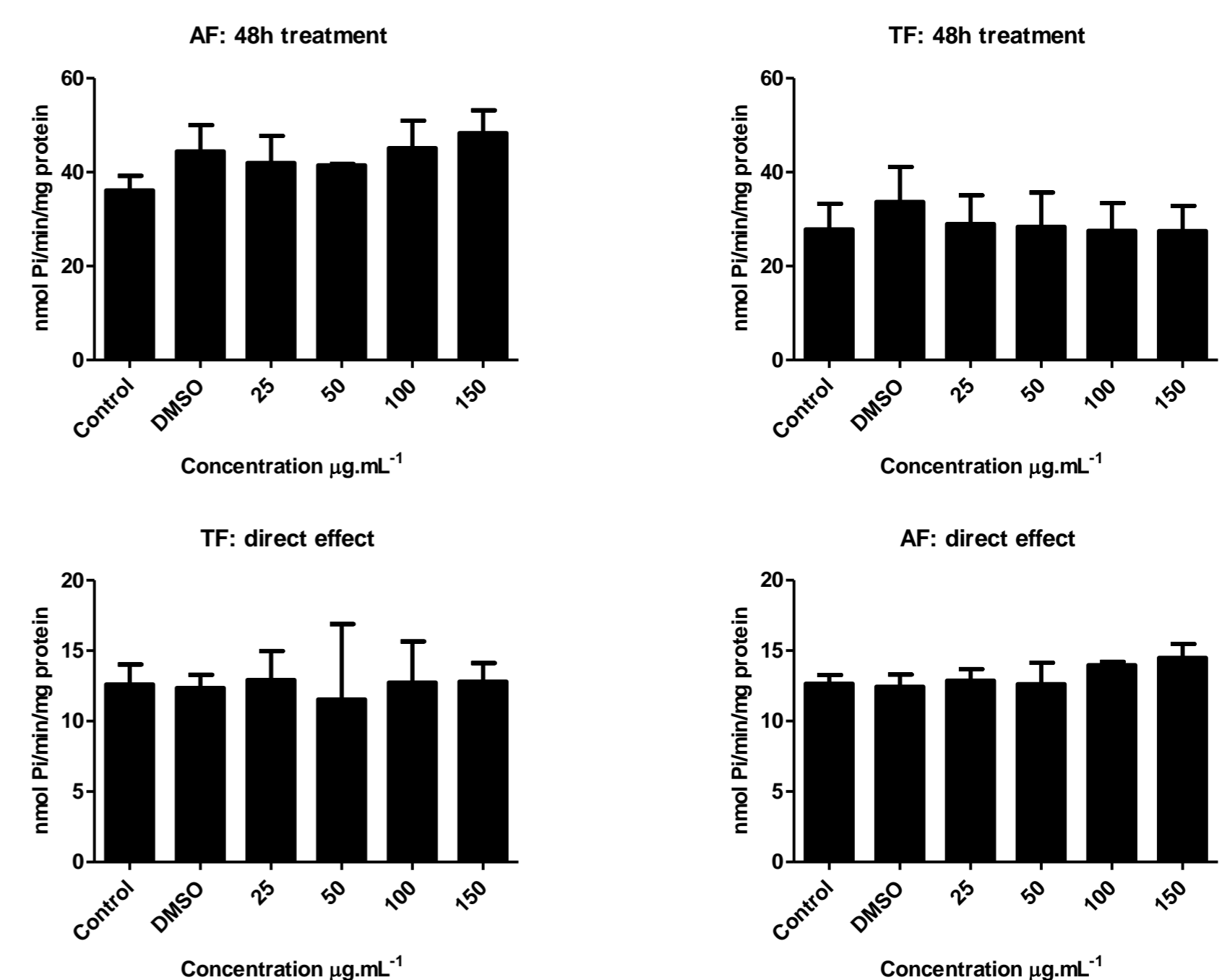


Fig. 3. Efeito do tratamento da FT na atividade da ecto-5'-NT/CD73. Experimentos foram realizados em triplicata (n=3) e os valores expressos como média±DP e analisados pelo teste estatístico ANOVA de uma via, seguido por Tukey post-hoc.

### Tratamento com FT aumenta a adesão celular

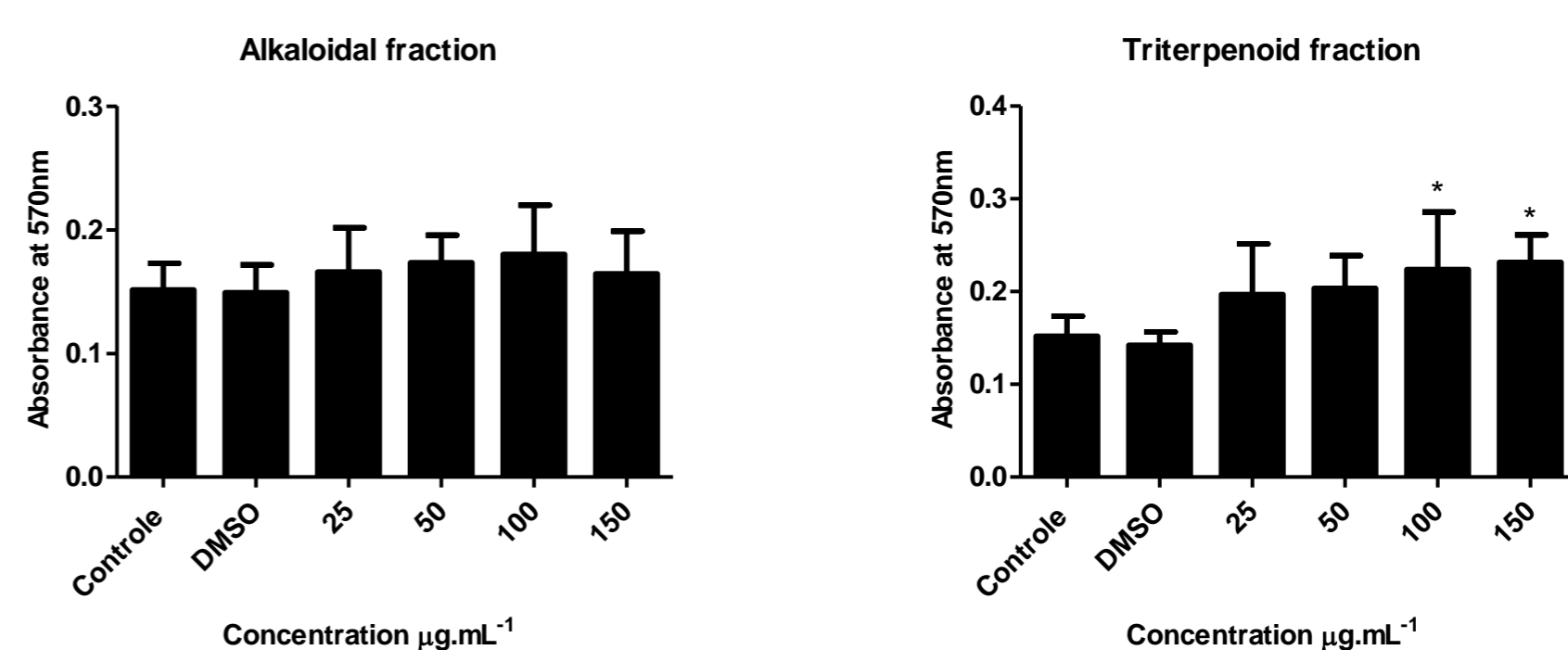


Fig. 4. Efeito do tratamento com a FT na adesão celular. Experimentos foram realizados em triplicata (n=3) e os valores expressos como média±DP e analisados pelo teste estatístico ANOVA de uma via, seguido por Tukey post-hoc. \* p < 0.01 comparado ao DMSO.

## Conclusões

Considerando os objetivos propostos, se torna evidente que esta investigação tem demonstrado propriedades biológicas promissoras da FT de *U. tomentosa*, a qual demonstrou inibição significativa da proliferação celular na linhagem celular T24, quando comparado a FA. No entanto, o envolvimento da enzima ecto-5'-nucleotidase/CD73 não foi observado após tratamentos com ambas as frações, excluindo, portanto, sua participação na morte destas células tumorais. Além disto, o aumento da adesão celular, evidenciado após o tratamento com a FT, traz novas perspectivas de investigação, uma vez que a procura por tratamentos que aumentem a adesão e, conseqüentemente, inibam a migração celular são importantes alternativas na diminuição do processo de metástase tumoral.