



# COMPOSTO GFC INDUZ CITOTOXICIDADE NA LINHAGEM CELULAR DE ADENOCARCINOMA COLORRETAL HUMANO HT-29

Gabriela M. Reis<sup>1</sup>, Jessica M. Miri<sup>2</sup>, Alexandre B. F. Ferraz<sup>3</sup>

Orientadora: Dra. Ivana Grivicich<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Acadêmica do Curso de Biomedicina, Iniciação Científica Bolsista PIBIC/CNPq, PPGBIOSAÚDE, ULBRA; <sup>2</sup>Mestranda do PPGBIOSAÚDE, ULBRA; <sup>3</sup>Professora do Curso de Farmácia e do PPGBIOSAÚDE, ULBRA; <sup>4</sup>Professora do Curso de Biomedicina e Medicina e do PPGBIOSAÚDE, ULBRA

## INTRODUÇÃO

O câncer é considerado um problema de saúde pública, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), principalmente nos países em desenvolvimento. Até o ano 2025, é esperado mais de 20 milhões de novos casos de câncer na população mundial. No Brasil, é estimado para o ano de 2018, 17.380 novos casos de câncer de cólon e reto em homens e de 18.980 em mulheres. O câncer colorretal (CRC) é uma neoplasia maligna que atinge a parede interna ao longo do segmento do intestino grosso (cólon e reto) e seu tratamento geralmente requer ressecção cirúrgica, radioterapia e quimioterapia. Na busca de um tratamento que consiga ser eficiente, produtos naturais que podem inibir ou induzir morte celular estão atraindo cada vez mais atenção no desenvolvimento de novos quimioterapêuticos. O garcinielliptona FC (GFC), é um composto isolado das sementes da espécie *Platonia insignis* Mart. e estudos demonstraram que uma alta concentração de GFC teve efeito sobre células de adenocarcinoma colorretal HT-29.

## OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito citotóxico do composto GFC na linhagem celular de adenocarcinoma colorretal HT-29.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### OBTENÇÃO DO COMPOSTO GARCINIELLIPTONA FC

Os frutos da *P. insignis* Mart. foram coletados em Barras, Piauí, Brasil, em março de 2009. O GFC foi isolado pelo Laboratório de Fitoquímica da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA) a partir do extrato hexânico das sementes secas.

### CULTIVO E MANUTENÇÃO DA LINHAGEM CELULAR HT-29

Foi utilizada a linhagem celular de adenocarcinoma colorretal HT-29 adquirida da American Type Culture Collection (Rockville, MD, EUA). As células foram mantidas em meio de cultura RPMI-1640 contendo L-glutamina 2% (p/v) e soro fetal bovino 10% (v/v), a 37°C em uma atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> e umidade de no mínimo 95%.

### AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DO COMPOSTO GFC

Para o ensaio, as células foram tratadas com concentrações seriadas (0 -100 µg/mL) do composto GFC. O antineoplásico 5-fluorouracil (5-FU) foi utilizado como controle positivo. A seguir, o MTT (0,5 mg/mL) foi adicionado as células por 3 h a 37°C. Após a incubação, o sobrenadante foi removido e os cristais de formazan violeta foram solubilizados em 200 µL de DMSO. A leitura do ensaio foi realizada em um leitor de microplacas, em densidade óptica de 540 nm. A partir destes dados, foram obtidos os valores de IC<sub>50</sub>, isto é, a concentração do composto necessária para inibir 50% do crescimento celular, respectivamente, quando comparada aos controles sem tratamento.

### DISTRIBUIÇÃO DAS CÉLULAS NO CICLO CELULAR

A distribuição das células nas fases do ciclo celular após tratamento por 24 h foi determinada por citometria de fluxo nas células marcadas com iodeto de propídio. Para isto, após tratamento as células foram lavadas e fixadas em etanol 70%. Após, foram centrifugadas e tratadas com solução contendo citrato de sódio 3,4 µM, iodeto de propídio 20 µg/mL e RNase A 100 µg/mL por 30 min, na ausência de luz. A análise foi realizada em citômetro de fluxo BD Accuri™ C6. Foram analisados 30.000 eventos. Os resultados foram expressos em percentual de células por fase do ciclo celular.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nossos resultados mostraram inibição do crescimento celular com doses de 7,9 ± 0,2; 10,6 ± 1,1 e 6,0 ± 1,1 µg/mL nos tempos de 24 h, 48 h e 72 h respectivamente (Tabela 1). Estudos publicados utilizando o GFC mostraram inibição do crescimento celular em HEP-2 e NCI-H-292 correspondendo a 77,8 ± 6,9% e 88,2 ± 0,7% (JUNIOR *et al.*, 2012). Um significativo aumento de indução de apoptose foi apresentado em células MCF-7 tratadas com GFC (WU *et al.*, 2008).

Tabela 1: Valores de IC<sub>50</sub> na linhagem celular de adenocarcinoma colorretal HT-29 após tratamento por 24, 48 e 72 h com GFC e 5-FU.

	GFC	5-FU
24 h	7,9 ± 0,2	8,5 ± 2,1
48 h	10,6 ± 1,1	7,5 ± 1,1
72 h	6,0 ± 1,1	17,8 ± 1,5

Após 24 h de tratamento, o GFC induziu um aumento de 2,7 vezes no número de células na fase G2/M (Figura 1) quando comparado com o controle. Este bloqueio do ciclo celular na fase G2/M está associado com fragmentação do DNA e interrupção da replicação, o que pode levar a célula à morte por apoptose (SHEN *et al.*, 2014). Neste sentido, foi demonstrado que o GFC causou um significativo aumento de indução de apoptose na linhagem celular de câncer de mama MCF-7 (WU *et al.*, 2008)

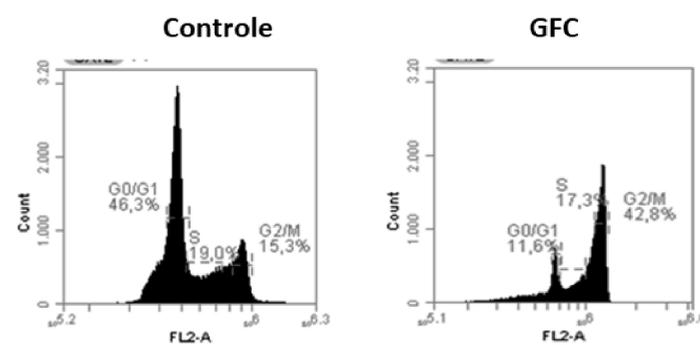


Figura 1 Efeito do tratamento com GFC sobre a distribuição das células nas fases do ciclo celular da linhagem celular HT-29.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que o GFC é citotóxico na linhagem celular HT-29 e que este efeito está associado com bloqueio na fase G2/M do ciclo celular.

## REFERÊNCIAS

- JUNIOR, J.S.C.; FERRAZ, A.B.F.; FILHO, B.A.B.; FEITOSA, C.M.; CITO, A.M.G.L.; FREITAS, R.M. Evaluation of antioxidant effects in vitro of garcinielliptone FC (GFC) isolated from *Platonia insignis* Mart. *J Med Plants Res*, v. 5, p. 293–9. 2011.
- JUNIOR, J.S.C.; DE ALMEIDA, A.A.C.; ALEXANDRE DE BARROS FALCÃO FERRAZ, A.B.F.; ROSSATTO, R.R.; SILVA, T.G.; SILVA, P.B.N.; MILITÃO, G.C.G.; CITO, A.M.D.G.L.; SANTANA, L.C.L.R.; CARVALHO, F.A.D.A.C.; FREITAS, R.M. Cytotoxic and leishmanicidal properties of garcinielliptone FC, a prenylated benzophenone from *Platonia insignis*. *Natural Product Research*, v. 27, p. 470-474. 2012.
- WU, C.C.; LU, Y.H.; WEI, B.L.; YANG, S.C.; WON, S.J.; LIN, C.N., Phloroglucinols with Prooxidant Activity from *Garcinia subelliptica*. *J Nat Prod*, v. 71, p. 246-250. 2008.

APOIO:

