

## AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DA CURCUMINA ASSOCIADA À CISPLATINA EM LINHAGEM DE CARCINOMA DE PULMÃO NCI-H460

### INTRODUÇÃO

O câncer de pulmão é um dos tipos de câncer mais agressivos, com uma razão mortalidade/incidência de, aproximadamente, 90%. Entre os subtipos de câncer de pulmão, o carcinoma de pulmão de não-pequenas células (CPNPC) constitui mais de 80% de todos os casos. A cisplatina, ou cis-diaminodichloroplatina (II) (CDDP), é o agente quimioterápico mais utilizado no tratamento do CPNPC, porém, o seu uso clínico está limitado ao seu efeito tóxico, além do desenvolvimento de quimiorresistência. Diante disso, a identificação de novos alvos terapêuticos se faz necessária. A terapia adjuvante com curcumina (CUR), componente do extrato de *Curcuma longa L.*, tem apresentado resultados promissores, visto que, estudos apontam que esse fitoquímico possui efeitos anti-cancerígenos, anti-inflamatórios e antioxidantes.

### OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da curcumina na viabilidade celular associada, ou não, com cisplatina em linhagem celular de CPNPC.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Foi utilizada a linhagem celular de CPNPC humano NCI-H460, mantida em meio de cultura DMEM suplementado com 10% de soro bovino fetal inativado, a 37°C, em atmosfera úmida, contendo 5% de CO<sub>2</sub>. A avaliação da citotoxicidade e a determinação da dose de inibição de 50% do crescimento celular (IC<sub>50</sub>), foram realizadas através do ensaio colorimétrico SRB, no qual as células foram submetidas aos tratamentos com CDDP e CUR isoladas (concentrações de 0 - 100 µM), na forma de pré-tratamentos (CDDP (IC<sub>50</sub>) 24 h, seguido de CUR (5; 25; 50 µM) 24 h e CUR (IC<sub>50</sub>) 24 h, seguido de CDDP (0,3; 1,6; 3,2 µM) 24 h ou co-tratamentos (CDDP (IC<sub>50</sub>) + doses de CUR simultâneo por 48 h e CUR (IC<sub>50</sub>) + doses de CDDP simultâneo por 48 h), tendo como objetivo principal a caracterização do efeito agudo. O efeito na proliferação em um período mais prolongado foi avaliado pelo ensaio clonogênico, onde as células foram expostas a CDDP isolada (0,3; 0,6; 1,6; 3,2 µM); CUR isolada (5; 25; 50 µM); na forma de pré-tratamentos (CDDP seguido de CUR (IC<sub>50</sub>) e CUR seguido de CDDP (IC<sub>50</sub>)) e co-tratamento (IC<sub>50</sub> CDDP e CUR simultâneos) por 48 h. A seguir, as células foram plaqueadas e avaliadas por 7 dias em meio de cultura sem os tratamentos, e a sobrevivência celular foi calculada como porcentagem relativa ao grupo controle negativo. Ensaios de migração celular estão em andamento.

### RESULTADOS

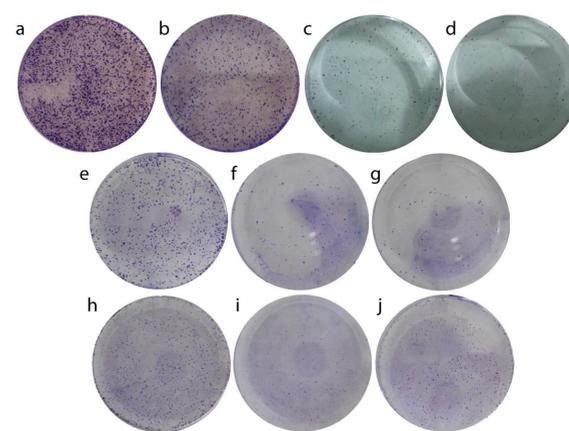
Na caracterização do efeito agudo, o ensaio SRB mostrou que a CUR isolada afeta a viabilidade celular apresentando uma dose de IC<sub>50</sub> de 7,0 ± 0,5 µM. Porém, essa dose é cerca de 3 vezes maior do que a CDDP isolada (Tabela 1) na linhagem de CPNPC NCI-H460. Isso sugere uma menor sensibilidade das células a CUR. Por outro lado, analisando o efeito citotóxico da CUR após o tratamento combinado com a CDDP na forma de pré-tratamento, foi observado um aumento o IC<sub>50</sub> da CDDP em cerca de 3,5 vezes (Tabela 1), mostrando que a CUR reduz o dano induzido por CDDP.

**Tabela 1:** Valores de IC<sub>50</sub> (µM; média ± DP) na linhagem celular de CPNPC H460 após o tratamento por 48 h com CUR, CDDP ou nas combinações e sequências indicadas.

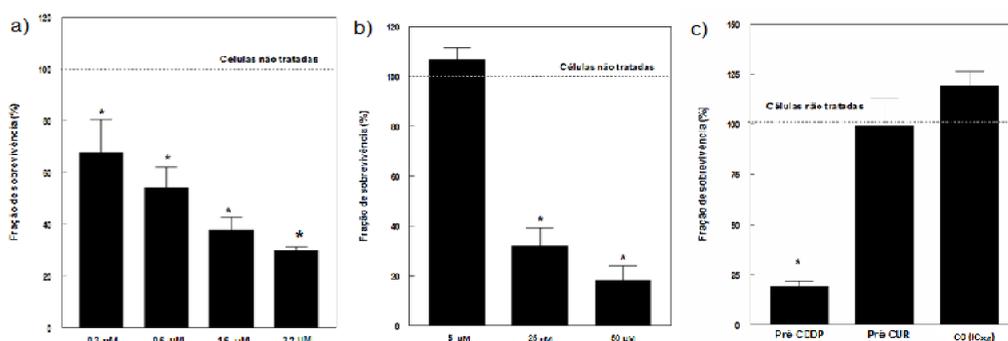
Tratamentos	IC <sub>50</sub> (µM)
CIS	1,2 ± 0,2
CUR	7,0 ± 0,5
CIS (IC <sub>50</sub> ) 24 h, seguido de CUR 24 h	4,8 ± 1,7
CUR (IC <sub>50</sub> ) 24 h, seguido de CIS 24 h	4,3 ± 0,5
CIS (IC <sub>50</sub> ) + CUR simultâneo por 48 h	4,4 ± 0,4
CUR (IC <sub>50</sub> ) + CIS simultâneo por 48 h	1,3 ± 0,04

Gabriela Jachs Stepien, Érica Ballestreri,  
Ivana Grivicich  
Universidade Luterana do Brasil

Considerando que muitos dos danos celulares induzidos por agentes citotóxicos podem ser reparados, a avaliação do efeito da CUR e CDDP na proliferação em um período mais prolongado, foi avaliada (Figuras 1 e 2). Podemos observar que, a CDDP isolada, quando comparado ao controle não tratado, reduziu a fração de sobrevivência em todas as doses utilizadas (Figura 2a). Já o tratamento com CUR isolada, reduziu a fração de sobrevivência celular a partir da dose de 25 µM (Figura 2b), e o pré-tratamento com CDDP seguido de CUR reduziu a fração de sobrevivência em aproximadamente 80% (Figura 2c).



**Figura 2:** Fotografia representativa do ensaio clonogênico. Crescimento de colônias de células da linhagem celular NCI-H460 após tratamentos e 7 dias de incubação. a) Doses de 0; b-d) CDDP isolada 0,3; 1,6; 3,2 µM respectivamente; e-g) CUR isolada 5; 25; 50 µM respectivamente; h) pré-tratamento CDDP (IC<sub>50</sub>) seguido de CUR; i) pré-tratamento CDDP (IC<sub>50</sub>) seguido de CUR; j) co-tratamento (IC<sub>50</sub> simultâneos).



**Figura 3:** a) Fração de sobrevivência da linhagem celular NCI-H460 tratada com CDDP por 48 h; b) tratamento com CUR isolada; c) pré-tratamento com CDDP (IC<sub>50</sub>) 24 h seguido de CUR (IC<sub>50</sub>) 24 h; pré-tratamento CUR (IC<sub>50</sub>) 24 h seguido de CDDP (IC<sub>50</sub>) 24 h e co-tratamento (IC<sub>50</sub> simultâneos). Os controles são representados como 100% de fração de sobrevivência. \*Valor considerado significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ).

### CONCLUSÕES

Através dos experimentos realizados, concluímos que a CUR possui efeito citotóxico na linhagem celular de CPNPC NCI-H460 em doses maiores que a CDDP. Por outro lado, na forma de pré-tratamento agudo (CDDP seguido de CUR), a CUR reduz o efeito da CDDP indicando uma ação protetora aos danos causados pela CDDP. Além disso, esse tratamento também apresenta efeito a longo prazo, evidenciando que os danos agudos causados pela CDDP são reparados pela CUR.

**Referências:** American Cancer Society, disponível em <http://www.cancer.org/cancer/lungcancer-non-smallcell/detailedguide/non-small-cell-lung-cancer-key-statistics>. Acesso em julho, 2016. Langer CJ, Mok T, Postmus PE. Targeted in the third-/fourth-line treatment of patients with advanced (stage III/IV) non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Cancer Treat Rev*, 2013;39: 252-60. Bandyopadhyay D. Farmer to pharmacist: curcumin as an anti-invasive and antimetastatic agente for the treatment of cancer. *Front Chem*. 2014;2:1-11.

gaby.jachs@hotmail.com