

FLAVONÓIDE QUERCETINA: REVERSÃO DO FENÓTIPO MDR EM CÉLULAS ERITROLEUCÊMICAS

SASSI, Juliana Saraçol; MACHADO, Ayane Pontes; MARQUES, Maiara Bernardes; VOTTO, Ana Paula de Souza
ju.saracol@gmail.com

Evento: XXIV Congresso de Iniciação Científica
Área do conhecimento: Biofísica Celular

Palavras-chave: ABCB1; viabilidade celular; expressão gênica.

1 INTRODUÇÃO

A resistência a múltiplas drogas (MDR) é considerada a principal causa da falta de sucesso no tratamento do câncer. Alguns compostos de origem natural têm sido estudados com o objetivo de propor tratamentos que ultrapassem o fenótipo MDR. As plantas e seus compostos devido a sua longa história no tratamento do câncer têm sido utilizadas em alguns países junto com agentes quimioterápicos. Dentre elas a quercetina (QUE) tem sido estudada devido ao potencial para alterar a atividade do transportador ABCB1. Nesse sentido, o objetivo da pesquisa foi avaliar o possível efeito da QUE na atividade e expressão do transportador ABCB1 e do gene MDR1 nas linhagens MDR.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A literatura científica tem demonstrado que diferentes extratos e compostos de cebola (*Allium cepa*, Linn) produzem efeitos biológicos significativos (Chang et al., 2005; Santos et al., 2008). A QUE, flavonóide presente na cebola, tem sido considerada responsável pela inibição da função do transportador ABCB1 intestinal em porcos e ratos (Hsiu et al., 2002; Wang et al., 2004), e os polifenóis derivados de *Mangifera indica*, como a QUE, podem afetar a atividade desse transportador (Chieli, et al., 2009) em células renais HK-2 que expressam a ABCB1 constitutivamente e da linhagem tumoral Caco-2, selecionada resistente com o quimioterápico vincristina (Caco-2/VCR). Neste sentido, a VCR foi utilizada para estabelecer uma linhagem eritroleucêmica MDR, a qual foi denominada K562-Lucena1 (Lucena) para distinguir de sua linhagem parental K562 (Rumjanek et al. 1994).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As linhagens celulares K562 e Lucena ($2,5 \times 10^5$ células/ml) foram mantidas com meio RPMI-1640, com 10% de soro fetal bovino, 1% de antibiótico e antimicótico, em garrafas de cultura a 37°C em estufa de CO₂. Para verificar o efeito da exposição a QUE (10 µg/ml) na atividade da ABCB1 as células Lucena foram incubadas com QUE por 24 horas para realização do ensaio de extrusão do corante Rhodamina 123 (Rho 123) na presença ou ausência do inibidor da ABCB1 verapamil (VP). As células K562 foram utilizadas como controle positivo de fluorescência da Rho 123. Para verificar a viabilidade das células Lucena incubadas com QUE na ausência ou presença do quimioterápico VCR foi utilizado o método de exclusão por azul de trypan imediatamente, 24, 48 e 72 horas após incubação. Ainda analisamos a expressão do gene MDR1 que codifica esta proteína através de PCR em tempo real em ambas as linhagens expostas à QUE. Os controles foram incubados com o

mesmo volume de água estéril.

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Houve um aumento significativo na fluorescência em células K562 incubadas com Rho 123. Já nas células Lucena a fluorescência não foi significativamente alterada após incubação com Rho 123, QUE (10 ug/ml) ou VP (5 uM) quando comparado com o controle. No entanto, ocorreu um aumento significativo na fluorescência das células Lucena nos tratamentos com QUE ou VP quando incubados com Rho 123, ao serem comparados com as células tratadas apenas com QUE, VP ou Rho 123. Esse resultado leva a considerar que a QUE está interferindo no funcionamento da ABCB1 de forma similar ao VP que é um inibidor clássico da bomba de efluxo. No entanto, esse resultado não indica se a QUE está atuando como um substrato ou inibidor da ABCB1. Dessa forma, o ensaio de viabilidade por exclusão por azul de trypan na ausência ou presença do quimioterápico VCR foi utilizada para distinguir qual a ação da QUE no funcionamento da ABCB1. Sendo assim, o ensaio indicou que a QUE atua na ABCB1 da mesma forma que o VP, inibindo a atividade e extrusão de substratos da célula. Essa afirmação é devida a observação de que a viabilidade das células tratadas com QUE e VP foi a mesma das células tratadas apenas com QUE. Entretanto houve uma diminuição da viabilidade das células tratadas com QUE e VCR, semelhante a que foi observada no tratamento de QUE e VP. Verificamos também um aumento na expressão do gene MDR1 que codifica a proteína ABCB1 em ambas as linhagens, indicando uma possível compensação pela perda da atividade da ABCB1 com o aumento na expressão do referido gene.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A QUE foi capaz de inibir a atividade do transportador ABCB1 de modo similar ao inibidor clássico VP, além de aumentar a expressão do gene que codifica a bomba de efluxo indicando que a capacidade de funcionamento da ABCB1 foi prejudicada.

REFERÊNCIAS

- CHANG, H-S.; YAMATO, O.; YAMASAKI, M.; KO, M.; MAEDE, Y. 2005. Growth inhibitory effect of alk(en)yl Thiosulfates derived from onion and garlic in human immortalized and tumor cell lines. *Cancer Lett.* 223, 47-55.
- CHIELI, E.; ROMITI, N.; RODEIRO, I.; GARRIDO, G. 2009. In vitro effects of *Mangifera indica* and polyphenols derived on ABCB1/P-glycoprotein activity. *Food Chem. Toxicol.* 47, 2703–2710.
- HSIU, S-L., HOU, Y-C., WANG, Y-H., TSAO, C-W., SU, S-F. and Chao, P-D.L., 2002. Quercetin significantly decreased cyclosporine oral bioavailability in pigs and rats. *Life Sci.* 72, 227-235.
- RUMJANEK V, M.; LUCENA, M.; CAMPOS M, M.; MARQUES-SILVA, V, M.; MAIA, R. C.; 1994. Multidrug resistance in leukemias: the problem and some approaches to its circumvention. *Cienc Cult* 46, 63-69
- SANTAS, J., CARBÓ, R., GORDON, M.H., ALMAJANO, M.P., 2008. Comparison of the antioxidant activity of two Spanish onion varieties. *Food Chem.* 107, 1210-1216.
- WANG, Y-H., CHAO, P-D.L., HSIU, S-L., WEN, K-C., HOU, Y-C., 2004. Lethal quercetin-digoxin interaction in pigs. *Life Sci.* 74, 1191-1197.