

RESUMOS DE TESES E DISSERTAÇÕES / ABSTRACTS OF THESES AND DISSERTATIONS

ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E ESTRUTURAIS INDUZIDAS POR UM COMPONENTE DO AÇAFRÃO, *CURCUMA LONGA L.* (ZINGIBERACEAE), EM CÉLULAS DE MELANOMA HUMANO EM CULTURA

STRUCTURAL AND MORPHOLOGICAL ALTERATIONS INDUCED BY A TURMERIC, *CURCUMA LONGA L.* (ZINGIBERACEAE), COMPONENT IN HUMAN MELANOMA CELLS IN CULTURE

MARCELLA LEMOS BRETTAS CARNEIRO

Endereço Atual / Current address: Laboratório de Bioquímica Celular, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil, CEP 74001-970; e-mail: marbretas@gmail.com

Dissertação de Mestrado / Master Dissertation: Dissertation: Programa de Pós-Graduação em Biologia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil, CEP 74001-970/ Posgraduate Program in Biology, Federal University of Goiás, Goiânia, Goiás, Brazil, 74001-970.

Defendida / Defended: 28.II.2007.

Orientadora / Supervisor: Profa. Dra. Lídia Andreu Guillo, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil, CEP 74001-970/ Department of Biochemistry and Molecular Biology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Goiás, Goiânia, Goiás, Brazil, 74001-970.

RESUMO: O melanoma maligno é uma forma de câncer de pele muito agressiva que frequentemente torna-se resistente a agentes quimioterápicos. Em virtude da baixa eficácia dos agentes empregados atualmente, torna-se primordial o desenvolvimento de novos agentes que não desencadeiem quimiorresistência. A curcumina, componente derivado do rizoma de falso-açafrão (*Curcuma longa L.*) apresenta ampla variedade de propriedades farmacológicas, destacando-se suas características antiinflamatória, antioxidante e antitumoral. Esse fitoquímico é considerado um agente quimiopreventivo e farmacologicamente seguro, representando uma nova perspectiva terapêutica para os pacientes com melanoma. Neste estudo, foram avaliados o efeito da curcumina sobre a proliferação, o perfil do ciclo celular, a indução de apoptose e a dissipação do potencial transmembranar em células de melanoma humano da linhagem SKMEL 37. As células foram tratadas com 5, 10, 15 e 20 μM de curcumina por 24 horas. As análises da indução de fragmentação do DNA, das alterações no ciclo celular e da dissipação do potencial transmembranar foram realizadas por citometria de fluxo. As alterações morfológicas e ultra-estruturais foram examinadas por microscopia de fluorescência e microscopia eletrônica de transmissão e de varredura. Observou-se que a indução de fragmentação do DNA foi proporcional ao aumento da concentração de curcumina. Esses resultados indicam que a população de células com DNA fragmentado aumentou de 2,36% ($\pm 0,76$) no controle para 3,53% ($\pm 1,61$), 7,52% ($\pm 5,05$), 11,1% ($\pm 5,43$) e 18,43% ($\pm 7,02$) em células tratadas com 5, 10, 15 e 20 μM , respectivamente ($p < 0.001$). Células tratadas com 5 μM de curcumina apresentaram acúmulo significativo na subfase G0G1 do ciclo celular em comparação com os demais tratamentos ($p < 0.001$).

Ademais, foram observadas alterações morfológicas e estruturais, como *blebbing* de membrana e fragmentação nuclear, em células tratadas com concentrações acima de 10 μM de curcumina. Outras alterações morfológicas e ultra-estruturais, peculiares à apoptose, tais como compactação e segregação da cromatina, formação de corpos apoptóticos e de vacúolos citoplasmáticos, também foram observadas em células tratadas com essas concentrações de curcumina. Além disso, foi observado que esse componente não induz alteração do potencial transmembranar da mitocôndria. Esses dados sugerem, portanto, que a curcumina induz alteração no perfil do ciclo celular e morte por apoptose em células SKMEL 37 por uma via de sinalização que não é mediada pela mitocôndria. Assim, a curcumina representa valiosa ferramenta para desenvolver novas terapias visando tratar tumores como o melanoma humano.

PALAVRAS-CHAVE: Apoptose, ciclo celular, curcuma, curcumina, melanoma.

ABSTRACTS: Malign melanoma is a very aggressive form of skin cancer that frequently becomes resistant to chemotherapeutic agents. Due to the low effectiveness of the chemotherapeutic agents currently employed, the development of new medications that do not provoke chemoresistance is of vital importance. Curcumin is a component derived from rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* L.), which presents a large variety of pharmacological properties, including anti-inflammatory, antioxidant and anticancer effects. This phytochemical component is considered a chemopreventive agent and is pharmacologically safe, representing a new therapeutical perspective for patients presenting with melanoma. In this study, we evaluated the effect of curcumin on the proliferation, profile of the cell cycle, induction of apoptosis, and dissipation of transmitochondrial potential in human melanoma cells line SKMEL 37. The cells were treated with 5, 10, 15, and 20 μM curcumin for 24 hours. The analyses of induction of DNA fragmentation, alterations on cell cycle, and dissipation of transmitochondrial potential were carried out by flow cytometry. Morphologic and ultra-structural alterations were examined by fluorescence microscopy and transmission and scanning electron microscopy. It was observed that the induction of DNA fragmentation was proportional to the increase of curcumin concentration. These results indicate that the population of cells with fragmented DNA increased from 2.36% (± 0.76) in the control to 3.53% (± 1.61), 7.52% (± 5.05), 11.1% (± 5.43), and 18.43% (± 7.02) in cells treated with 5, 10, 15, and 20 μM , respectively ($p < 0.001$). Cells treated with 5 μM curcumin showed significant accumulation in G0G1 subphase of the cellular cycle compared to the other treatments ($p < 0.001$). Moreover, morphologic and structural alterations, such as membrane blebbing and nucleus fragmentation, could be observed in cells treated with concentrations above 10 μM curcumin. Other morphologic and ultra-structural alterations, peculiar to apoptosis, such as compaction and segregation of chromatin, formation of membrane blebs, apoptotic bodies, and cytoplasmic vacuoles were also observed in cells treated with these concentrations of curcumin. In addition to this, it was observed that curcumin does not induce transmitochondrial potential alterations. Altogether, these data suggest that curcumin induces alteration on the cell cycle profile and death by apoptosis in SKMEL 37 cells in a signalling pathway that is not mediated by mitochondria. Thus, curcumin represents a valuable tool to develop new therapies aiming to treat tumors such as the human melanoma.

KEY-WORDS: Apoptosis, cell cycle, curcuma, curcumin, melanoma.