

Análise metabonômica da resposta de linhagens celulares de leucemia a quercetina utilizando RMN

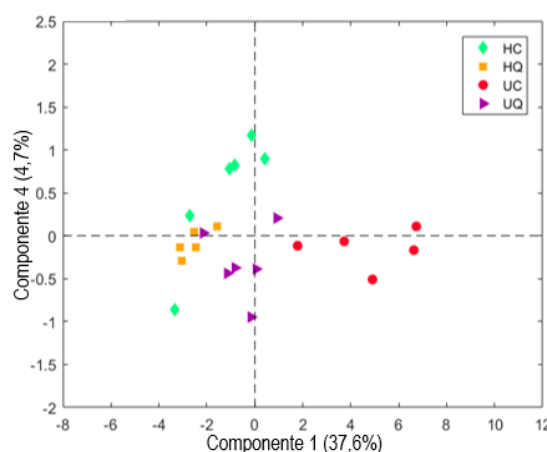
*Tássia Brena da Costa¹, Marisa Alvarez², Letícia Liu¹, Sara Saad², Ljubica Tasic¹

¹Instituto de Química e ²Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas, Brasil. *t190984@dac.unicamp.br

Palavras-chave: câncer, células HL-60, células U-973

Quercetina (Q) induziu a morte de linhagens celulares de leucemia, revertendo as alterações epigenéticas presentes [1] e para compreender os mecanismos de sua ação, as células de leucemia das linhagens HL-60 e U-937 foram tratadas com Q e avaliadas aplicando a metabonômica por RMN. As células foram cultivadas e seis culturas de cada linhagem foram tratadas com 50 $\mu\text{mol/L}$ de Q por 48 h. O *quenching* foi realizado com nitrogênio líquido e os extratos lipofílicos e hidrofílicos foram obtidos baseando-se no método Bligh e Dyer e armazenados a -80°C . As frações hidrofílicas dos extratos (5 HQ, 6 UQ – tratadas, 6HC e 6 UC – controles) foram liofilizadas e dissolvidas em D_2O contendo TSP, usado como referência de deslocamento químico. Foram adquiridos espectros de RMN de ^1H utilizando a sequência de pulsos de Watergate (p3919gp) em um espectrômetro Bruker Avance III 600 MHz com sonda TBI para tubos de 5 mm, a 25°C . A fase e linha de base foram corrigidas no software MestreNova. A região do sinal referente ao metanol residual, 3.36 ppm, foi excluída da análise, assim como a região da água. Foi feita a Análise de Componentes Principais (PCA) e obtidos os espectros médios de cada grupo. Para o assinalamento dos metabólitos chave foram comparados seus deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamentos com os valores da literatura e dos bancos de dados HMDB e BMRB. Pelos escores da PCA, Figura 1, foi possível observar agrupamento das amostras em relação à linhagem e ao tratamento. Os metabólitos identificados como responsáveis pela separação dos grupos

Figura 1: ESCORES DO MODELO PCA.



são lactato, alanina, fosfocolina, taurina, glicina, *myo*-inositol, glutamato, acetato e creatina. Os pesos dos modelos PCA também indicaram como importantes para a separação entre amostras controles e tratadas bins nas regiões que contêm sinais da acetil coenzima A, presente em menor concentração nas amostras após o tratamento. Concluiu-se que Q induz o acúmulo de lactato intracelular na linhagem celular HL-60, contribuindo para a indução da apoptose. Os níveis dos grupos acetato e *N*-acetil diminuíram nas células tratadas, consistente com resultados anteriores, pois o tratamento com Q induziu a acetilação de H3 e H4 que pode induzir um aumento no consumo de acetil-CoA.

Referências

[1] M.C. Alvarez, V. Maso, C.O Torello *et al.*, Clinical Epigenetics, 2018, 10, 139-149.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq, CAPES.