

ACÇÃO DO ÁCIDO ROSMARÍNICO SOBRE A ATIVIDADE E EXPRESSÃO DA CD39 EM CÉLULAS SK-MEL-28

VITÓRIA CAPELLI DE MELO¹, CAROLINA LOPES BRUNA OLIVATTO², LETÍCIA DE SOUZA MATIAS³, ISABELA LANZA ABREU⁴, LAÍSA COSTA RIBEIRO⁵, YARA JUAREZ TEIXEIRA DOS SANTOS⁶, LUCAS EFRAIM DE ALCÂNTARA GUIMARÃES⁷, DAIANE MANICA⁸, GILNEI BRUNO DA SILVA⁹, MARGARETE DULCE BAGATINI¹⁰

Introdução

O melanoma cutâneo (MC) é um dos tipos de câncer de pele mais agressivos, caracterizado por sua alta capacidade metastática e uma elevada taxa de mortalidade (Paddock *et al.*, 2016; Schadendorf *et al.*, 2018). A busca por novas abordagens terapêuticas é, portanto, uma prioridade urgente no campo da oncologia. Dentre os compostos bioativos em estudo, o ácido rosmarínico (AR), um polifenol encontrado em plantas das famílias *Boraginaceae* e *Lamiaceae*, como o alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*), tem atraído atenção devido às suas pronunciadas propriedades antineoplásicas (Luo *et al.*, 2020; Radziejewska *et al.*, 2021). O AR não apenas exibe eficácia antitumoral, mas também influencia a sinalização celular e processos inflamatórios associados ao desenvolvimento tumoral. Este estudo concentra-se especificamente no impacto do AR na modulação da sinalização purinérgica avaliado através da enzima CD39 em células de melanoma SK-MEL-28. A atividade e a expressão de CD39 e CD73 são cruciais para a regulação do microambiente tumoral, influenciando tanto a progressão do tumor quanto às respostas imunológicas no melanoma. Portanto, investigar o efeito do AR sobre esses aspectos pode fornecer conhecimentos valiosos para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas que visem modular o ambiente imune e inibir a progressão do MC (Silva *et al.*, 2024).

¹ Acadêmica do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó - SC, vitoriacapelli@hotmail.com

² Acadêmica do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó-SC

³ Acadêmica do curso de Enfermagem, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó - SC

⁴ Acadêmica do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó - SC

⁵ Acadêmica do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó - SC

⁶ Acadêmica do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó - SC

⁷ Acadêmico do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó - SC

⁸ Mestre em Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC

⁹ Mestre em Ciências Biomédicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó-SC

¹⁰ Doutora em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria - SC

Objetivos

O presente estudo teve como objetivo principal investigar a ação do ácido rosmarínico (AR) na indução da apoptose e sobre a atividade e expressão das enzimas CD39 e CD73 em células de melanoma SK-MEL-28, destacando seu potencial terapêutico em modulações específicas da sinalização purinérgica associadas ao controle tumoral. Pretendeu-se analisar como o AR modula a CD39, uma ectonucleotidase crítica na modulação do ambiente tumoral por meio da hidrólise de nucleotídeos extracelulares que podem afetar a imunossupressão e a progressão do melanoma. Esta investigação não apenas evidenciou o papel do AR na regulação da CD39, mas também buscou explorar suas implicações terapêuticas mais amplas, incluindo efeitos sobre outros componentes chave da sinalização purinérgica, como a CD73.

Metodologia

Neste estudo *in vitro*, células de melanoma SK-MEL-28 foram cultivadas em meio Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM), suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de penicilina-estreptomicina, a 37°C e 5% de CO₂. O AR foi aplicado nas concentrações de 400 µM e 800 µM, seguindo protocolos pré-estabelecidos (Anwar *et al.*, 2020). A indução de apoptose foi avaliada utilizando o kit Annexin V-FITC e iodeto de propídio, com leituras por citometria de fluxo.

A expressão gênica de CD39 e CD73 foi determinada após extração de RNA total usando TRIzol™, seguida de síntese de cDNA e amplificação via RT-qPCR com primers específicos, incluindo o gene referência GAPDH. A expressão proteica foi analisada por citometria de fluxo após incubação das células com anticorpos fluorocromados específicos.

A atividade de ectonucleotidases foi mensurada pela hidrólise de ATP, ADP e AMP, e quantificação do fosfato inorgânico liberado. Os dados foram analisados usando ANOVA e teste *post hoc* de Tukey, estabelecendo-se significância com p-valor < 0,05.

Resultados

O AR demonstrou induzir apoptose em células de melanoma após 24 horas de tratamento, com efeitos significativos em concentrações de 400 µM (P < 0,0001) e 800 µM (P < 0,0001) em comparação ao controle. Esses resultados mostraram que o AR exibe fortes efeitos anti-neoplásicos em células de melanoma por meio da indução de apoptose. Além disso, o AR modulou a expressão das ectonucleotidases nas células de melanoma. Observou-se uma

regulação negativa na expressão gênica de CD39 e CD73 na concentração de 800 μ M, com a expressão proteica de CD73 sendo significativamente reduzida ($P < 0,0001$).

Discussão

Os resultados obtidos destacam o papel do AR na modulação da sinalização purinérgica, particularmente através da modulação da expressão e atividade da ectonucleotidase CD39 e CD73. A CD39 tem um papel crítico no microambiente tumoral, convertendo ATP e ADP em AMP, um passo que modula a resposta imune ao reduzir a disponibilidade de adenosina. A modulação da expressão de CD39 pelo AR sugere uma estratégia para aumentar seletivamente a citotoxicidade contra as células tumorais, interrompendo assim a progressão do melanoma. Além disso, foi observado que o AR reduz a expressão de CD73, complementando a modulação do eixo adenosinérgico e potencializando a resposta imunológica. Essas ações do AR podem ser cruciais devido aos impactos nas citocinas, o que pode favorecer uma resposta imune contra o câncer, podendo-se reverter a imunossupressão no ambiente tumoral.

Conclusão

Os resultados confirmam o potencial do AR como um modulador da sinalização purinérgica e um agente pró-apoptótico em células de melanoma SK-MEL-28. O AR influencia nas atividades enzimáticas, componentes importantes do sistema purinérgico e que podem auxiliar na indução da morte de células malignas. Sendo assim, o AR mostra-se promissor no desenvolvimento de novas terapias para o MC, fornecendo uma base forte para futuras pesquisas e aplicações clínicas.

Referências Bibliográficas

ANWAR, S.; SHAMSI, A.; SHAHBAAZ, M. et al. Rosmarinic Acid Exhibits Anticancer Effects via MARK4 Inhibition. *Sci Rep*, 10, 10300, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65648-z>.

DA SILVA, G. B.; MANICA, D.; DALLAGNOL, P. et al. Ácido rosmarínico modula a sinalização purinérgica e induz apoptose em células de melanoma. *Purinergic Signalling*, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11302-024-10040-z>.

LU, C.; KERBEL, R. S. Interleukin-6 undergoes transition from paracrine growth inhibitor to autocrine stimulator during human melanoma progression. *Journal of Cell Biology*, v. 120, p. 1281–1288, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.1083/jcb.120.5.1281>.

PADDOCK, L. E. et al. Skin self-examination and long-term melanoma survival. *Melanoma Research*, v. 26, n. 4, p. 401-408, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/CMR.0000000000000255>.

RADZIEJEWSKA, I.; SUPRUNIUK, K.; BIELAWSKA, A. Efeito anticancerígeno da ação combinada de anti-MUC1 e ácido rosmarínico em células de câncer gástrico AGS. *European Journal of Pharmacology*, v. 902, jul. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174119>.

YU, F. et al. Adenosine A2A receptor antagonists for cancer immunotherapy: miniperspective. *Journal of Medical Chemistry*, v. 63, p. 12196–12212, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c00237>.

Palavras-chave: Melanoma Cutâneo; Ácido Rosmarínico; Sistema Purinérgico

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2023-0400

Financiamento: CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Título do projeto no PRISMA: Ação do ácido rosmarínico sobre a atividade e expressão da CD39 e CD73 em células SK-Mel-28