

# RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,  
o texto completo desta tese será  
disponibilizado somente a partir  
de 13/11/2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de São José do Rio Preto

Tairine Zara Lopes

**Estudo da ação da berberina associada à terapia fotodinâmica em células  
de carcinoma renal**

São José do Rio Preto  
2019

Tairine Zara Lopes

**Estudo da ação da berberina associada à terapia fotodinâmica em células  
de carcinoma renal**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marília de Freitas Calmon

São José do Rio Preto  
2019

L864e

Lopes, Tairine Zara

Estudo da ação da berberina associada à terapia fotodinâmica em células de carcinoma renal / Tairine Zara Lopes. -- São José do Rio Preto, 2019

86 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Marília de Freitas Calmon

1. Autofagia. 2. Apoptose. 3. Berberina. 4. Carcinoma de células renais. 5. Terapia fotodinâmica. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.  
Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Tairine Zara Lopes

**Estudo da ação da berberina associada à terapia fotodinâmica em células  
de carcinoma renal**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marília de Freitas Calmon

**Comissão examinadora**

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marília de Freitas Calmon  
UNESP – São José do Rio Preto  
Orientadora

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ana Elizabete Silva  
UNESP – São José do Rio Preto

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Patrícia Simone Leite Vilamaior  
UNESP – São José do Rio Preto

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Paola Jocelan Scarin Provazzi Trabulsi  
Instituto Municipal de Ensino Superior - IMES Catanduva

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Graziella Anselmo Joanitti  
Universidade de Brasília (UnB)

São José do Rio Preto  
13 de novembro de 2019

## **DEDICATÓRIA**

*Aos meus amados pais, que sempre me apoiaram, estiveram presentes e nunca mediram esforços para que meus sonhos se concretizassem.*

*Obrigada por sempre me ensinar os valores da vida e caminho do bem.*

*Não há palavras para descrever o que sinto por vocês!*

*Ao meu querido esposo, que com muito amor torna os meus dias mais leves.*

*Que sempre me incentiva a continuar e perseverar na realização dos meus sonhos.*

*Por me fazer acreditar que Deus é o diferencial em nossas vidas.*

*Obrigada pela sua dedicação, paciência e companheirismo.*

*À minha irmã, pelo forte incentivo e apoio em todos os momentos da minha vida.*

*Pela amizade, carinho e otimismo.*

## AGRADECIMENTOS

*Deus, pelo dom da vida, pela fé e força proporcionada ao longo deste desafio. Pelos constantes cuidados, pela sua presença incomparável e seu impressionante amor. Obrigada por ser a motivação dos meus dias e por dar sentido a eles, pois tudo vem de Ti!*

*Aos meus pais, pelo constante apoio e orações dedicadas a mim. Minha gratidão ao amor e carinho será eterna. Sem vocês nada tem sentido. Obrigada por simplesmente existirem em minha vida.*

*Ao meu esposo, por simplesmente fazer parte dos meus dias e torná-los mais alegres. Por sempre acreditar no meu potencial e me incentivar nos dias mais difíceis. Obrigada por tudo! Amo-te!*

*À Dr<sup>a</sup>. Marília de Freitas Calmon agradeço pela grande oportunidade a mim concedida, pelo acolhimento e apoio. Obrigada por contribuir com a minha evolução profissional, por compartilhar seus conhecimentos e experiências. Agradeço por todas as orientações concedidas.*

*À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Paula Rahal, pelo acolhimento em seu laboratório, por me proporcionar crescimento pessoal e profissional. Obrigada por toda a dedicação e preocupação ao longo do projeto.*

*Aos Membros da banca examinadora, por aceitarem o convite e pela disponibilidade em analisar e contribuir com o meu trabalho.*

*Aos meus amigos do Laboratório de Estudos Genômicos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas: Ágata, Ana Emília, Bárbara (B1), Bárbara (B2), Cíntia, Dayla, Gabriela, Guilherme, Hariel, Lenira, Maria Letícia, Nayara, Pâmela, Ricardo e Tamara, obrigada pela amizade e companheirismo, vocês tornam os meus dias mais alegres!*

*Ao Prof. Dr. Raghuvir Krishnaswamy Arni e Dr. Fábio Rogério de Moraes pela colaboração com o trabalho.*

*À Universidade Estadual Paulista – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (UNESP-IBILCE) pela oportunidade de adquirir conhecimentos. Pelo suporte durante todo o desenvolvimento do trabalho.*

*A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos e gratidão.*

*O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), Código de Financiamento 001.*



## RESUMO

O carcinoma renal ou carcinoma de células renais (CCR) é o tipo mais comum de câncer de rim, correspondendo ao décimo quarto tipo de câncer mais prevalente no mundo. Apesar de perfazer cerca de 2-3% de todos os tipos de tumores, este tipo de câncer é de caráter altamente agressivo sendo considerada a lesão maligna urológica mais letal e com índices de mortalidade crescentes. O aumento da incidência vem sendo observado ao longo dos anos devido aos recentes avanços da detecção precoce dos tumores renais, proporcionada através de técnicas de imagem como ultrassonografias, imagens de ressonância magnética e tomografias computadorizadas. A cirurgia constitui a base de tratamento, porém as taxas de recidivas são muito altas, além disso, os tratamentos sistêmicos como a quimioterapia e imunoterapia além de não serem eficazes neste tipo tumoral, induzem a efeitos colaterais severos. Dessa forma, existe uma necessidade de desenvolvimento de novas drogas e modalidades terapêuticas mais efetivas e minimamente invasivas. A berberina possui um grande espectro de aplicações clínicas, e sua atividade anticâncer já foi relatada em diversas linhagens tumorais. Sua natureza fluorescente e seu potencial fototóxico são condições para um eficiente fotossensibilizador para uso em processos fotodinâmicos. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da Terapia Fotodinâmica usando a berberina como agente fotossensibilizante, em linhagens de carcinoma renal. A berberina apresentou citotoxicidade dose e tempo dependente e eficiente internalização em todas as linhagens. O efeito anticâncer da berberina foi potencializado quando associado à terapia fotodinâmica, diminuindo consideravelmente a viabilidade celular, além disso, as espécies reativas de oxigênio geradas induziram morte celular por autofagia e apoptose. Foi observada diminuição da expressão dos genes *FIGF* e *TERT* que estão relacionados aos processos de angiogênese e regulação da atividade da telomerase, respectivamente. Ao contrário do gene *PLK3*, considerado um supressor tumoral, houve aumento da expressão após o tratamento. Neste estudo, o tratamento proposto foi capaz de alterar metabólitos que estão relacionados à proliferação e migração celular, além da angiogênese. Assim, é possível concluir que a berberina tem potencial promissor como agente fotossensibilizante em um sistema de terapia fotodinâmica, pois induziu efeitos anticâncer significativos em células de carcinoma renal.

**Palavras-chave:** Autofagia; Apoptose; Berberina; Carcinoma de células renais; Terapia fotodinâmica

## ABSTRACT

*Renal carcinoma or renal cell carcinoma (RCC) is the most common type of kidney cancer, corresponding to the 14<sup>th</sup> most prevalent type of cancer in the world. Despite it accounts for about 2-3% of all types of tumors, this type of cancer is highly aggressive and is considered the most lethal malignant urologic lesion with increasing mortality rates. Increased incidence has been observed over the years due to recent advances in the early detection of renal tumors, provided by imaging techniques such as ultrasonography, magnetic resonance imaging and computed tomography. Surgery is the basis for treatment, but relapse rates are very high. In addition, systemic treatments such as chemotherapy and immunotherapy, besides not being effective in this tumor type, induce severe side effects. Thus, there is a need for development of new drugs and more effective and minimally invasive therapeutic modalities. Berberine has a wide spectrum of clinical applications, and its anticancer activity has been reported in several tumor lines. Its fluorescent nature and its phototoxic potential is a condition for an efficient photosensitizer for use in photodynamic processes. Thus, this work aimed to evaluate the effects of Photodynamic Therapy using berberine as a photosensitizing agent in renal carcinoma cell lines. Berberine presented dose and time dependent cytotoxicity and efficient internalization in all cell lines. The anticancer effect of berberine was potentiated when associated with photodynamic therapy, considerably reducing cell viability, and the reactive oxygen species generated induce cell death by autophagy and apoptosis. We observed decreased expression of FIGF and TERT genes which are related to angiogenesis processes and regulation of telomerase activity, respectively. Unlike the PLK3 gene, considered a tumor suppressor, expression increased after treatment. In this study, the proposed treatment was able to alter metabolites that are related to cell proliferation, migration and angiogenesis. Thus, it is possible to conclude that berberine has promising potential as a photosensitizing agent in a photodynamic therapy system, because it induced significant anticancer effects on renal carcinoma cells.*

**Keywords:** *Autophagy; Apoptosis; Berberine; Photodynamic therapy; Renal cell carcinoma*

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Estrutura química da berberina.....	24
<b>Figura 2.</b> Terapia fotodinâmica: reações tipo I e tipo II.....	26

### Lista de Ilustrações Artigo Científico

<b>Figure 1:</b> Cytotoxicity of berberine on ACHN, 786-O and HK-2 cells.....	58
<b>Figure 2:</b> Fluorescence microscopy images of cells incubated with berberine.....	59
<b>Figure 3:</b> Phototoxicity assay in ACHN, 786-O and HK-2 cells.....	60
<b>Figure 4:</b> ROS generation was induced by berberine associated PDT.....	61
<b>Figure 5:</b> Autophagy was induced by berberine associated PDT.....	62
<b>Figure 6:</b> Apoptosis was induced by berberine associated PDT.....	63
<b>Figure 7:</b> <sup>1</sup> H-NMR spectra from cell lines 786-O after treatment.....	65
<b>Figure S1:</b> PCA, PLS-DA and OPLS-DA score plots for 786-O cell culture medium metabolites.....	67
<b>Figure S2:</b> Alanine, arginine and asparagine levels from 786-O cell culture medium after 30 minutes, 3 hours and 6 hours.....	68
<b>Figure S3:</b> Aspartate, carnitine and cystine levels from 786-O cell culture medium after 30 minutes, 3 hours and 6 hours.....	69
<b>Figure S4:</b> Valine, formate and fumarate levels from 786-O cell culture medium after 30 minutes, 3 hours and 6 hours.....	70
<b>Figure S5:</b> Glucose, glutamine and histidine levels from 786-O cell culture medium after 30 minutes, 3 hours and 6 hours.....	71
<b>Figure S6:</b> Hypoxanthine, isoleucine and lactate levels from 786-O cell culture medium after 30 minutes, 3 hours and 6 hours.....	72
<b>Figure S7:</b> Leucine, lysine and niacinamide levels from 786-O cell culture medium after 30 minutes, 3 hours and 6 hours.....	73
<b>Figure S8:</b> Phenylalanine, proline and pyridoxine levels from 786-O cell culture medium after 30 minutes, 3 hours and 6 hours.....	74
<b>Figure S9:</b> Sarcosine, succinate and tyrosine levels from 786-O cell culture medium after 30 minutes, 3 hours and 6 hours.....	75

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Grupos de estadiamento.....	21
--	----

### Lista de Tabelas Artigo Científico

<b>Table I:</b> Differential expression of target genes of anticancer drugs in 786-O cells after treatment with berberine associated PDT.....	64
<b>Table II:</b> Differential metabolites in 786-O cells after treatment with berberine associated PDT compared with control.....	66

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus celcius
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Oxigênio singlete
<b>786-O</b>	Linhagem celular derivada de carcinoma de células renais
<b>ACHN</b>	Linhagem celular derivada de carcinoma de células renais metastático
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>AUC</b>	<i>Area under the curve</i> (Área sob a curva)
<b>BBR</b>	Berberina
<b>BLC-2</b>	<i>B-celleukemia/lymphoma-2 genes</i> (Linfoma de células B2)
<b>ccCCR</b>	Carcinoma renal de células claras
<b>CCR</b>	Carcinoma de células renais
<b>cDNA</b>	DNA complementar
<b>cm<sup>2</sup></b>	Centímetros quadrados
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de Carbono
<b>CPMG</b>	Call-Pursell-Meiboom-Gill
<b>D.O</b>	Densidade óptica
<b>D<sub>2</sub>O</b>	Água deuterada
<b>DCF</b>	2'-7'- Diclorodihidrofluoresceína
<b>DCFDA</b>	2'-7'- Diclorodihidrofluoresceína-diacetato
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>DSS</b>	Ácido 4,4-dimetil-4-silapentano-1-sulfônico
<b>DTT</b>	Ditiotreitol
<b>ERO</b>	Espécie reativa de oxigênio
<b>FBS</b>	Fetal bovine serum (Soro fetal bovino)
<b>FIDs</b>	Decaimentos de indução livre
<b>FIGF</b>	<i>Vascular endothelial growth factor – D</i> (Fator de crescimento endotelial vascular)
<b>FITC</b>	<i>Fluorescein isothiocyanate</i> (Isotiocianato de fluoresceína)
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrogênio
<b>HCT116</b>	Linhagem celular derivada de carcinoma de colon
<b>HK-2</b>	Linhagem celular derivada de túbulos proximais de rim
<b>HSQC</b>	<i>Heteromolecular single quantum coherence</i> (Coerência quântica única)

	heteromolecular)
<b>IFN-<math>\alpha</math></b>	Interferon- $\alpha$
<b>IGF-1</b>	Fator de crescimento semelhante à insulina 1
<b>IL-2</b>	Interleucina 2
<b>IMC</b>	Índice de massa corporal
<b>INCA</b>	Instituto Nacional do Câncer
<b>J/cm<sup>2</sup></b>	Joules por centímetro quadrado
<b>K</b>	Kelvin
<b>KSF-M</b>	<i>Keratinocyte serum free medium</i> (Meio para queratinócitos livre de soro)
<b>LN229</b>	Linhagem celular derivada de glioblastoma
<b>MEM<math>\alpha</math></b>	<i>Minimum Essential Medium Eagle <math>\alpha</math></i> (Meio essencial mínimo $\alpha$ )
<b>mg</b>	Miligrama
<b>MHz</b>	Mega-hertz
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mM</b>	Milimolar
<b>MMP-2</b>	Metaloproteinase - 2
<b>MMP-9</b>	Metaloproteinase - 9
<b>MMPs</b>	Metaloproteinases
<b>MTHFDL-1</b>	<i>Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase-1</i> (Metilenotetrahidrofolato dehidrogenase-1)
<b>MTT</b>	3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina
<b>mW</b>	Milliwatt
<b>NCH601</b>	Linhagem celular derivada de glioblastoma
<b>nm</b>	Nanômetro
<b>NMR</b>	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i> (Ressonância Magnética Nuclear)
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Radical superóxido
<b>OH</b>	Hidroxila
<b>OPLS-DA</b>	<i>Orthogonal Partial Least Square Discriminant Analysis</i> (Análise discriminante parcial pelo menor quadrado ortogonal)
<b>PBS</b>	<i>Phosphate Buffered saline</i> (Tampão salino de fosfato)
<b>PCA</b>	<i>Principal component analysis</i> (Análise de componentes principais)
<b>PCR</b>	<i>Polymerase chain reaction</i> (Reação em cadeia da polimerase)
<b>PDT</b>	<i>Photodynamic Therapy</i> (Terapia Fotodinâmica)
<b>PLK-3</b>	<i>Polo-likekinase 3</i> (Polo likequinase 3)

<b>PLS-DA</b>	<i>Partial Least Square Discriminant Analysis</i> (Análise discriminante parcial pelo menor quadrado)
<b>ppm</b>	Partes por milhão
<b>PS</b>	<i>Photosensitizer</i> (fotossensibilizador)
<b>PS es</b>	<i>Photosensitizer</i> excited singlet (Fotossensibilizador no estado singlete excitado)
<b>PS et</b>	<i>Photosensitizer</i> excited triplet (Fotossensibilizador no estado singlete excitado)
<b>RCC</b>	<i>Renal cell carcinoma</i> (Carcinoma de células renais)
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico
<b>ROC</b>	<i>Receiver Operating Characteristic</i> (Característica de operação do receptor)
<b>ROS</b>	<i>Reactive Oxygen Species</i> (Espécies Reativas de Oxigênio)
<b>rpm</b>	Rotações por minuto
<b>RPMI 1640</b>	<i>Roswell Park Memorial Institute 1640 Medium</i> (Meio de cultura Roswell Park Memorial Instituto 1640)
<b>RT-PCR</b>	<i>Real time-PCR</i> (Reação em cadeia da Polimerase em tempo real)
<b>SVM</b>	<i>Support vector machine</i> (Máquina de vetores de suporte)
<b>TBHP</b>	Terc-butilhidroperóxido
<b>TCE</b>	Tricloroetileno
<b>TERT</b>	Trascriptase reversa da telomerase
<b>TFD</b>	Terapia Fotodinâmica
<b>TGF-β2</b>	<i>Transforming growth factor-beta 2</i> (Fator de crescimento de transformação bet-2)
<b>TOCSY</b>	<i>Total correlation spectroscopy</i> (Espectroscopia de correlação total)
<b>TSA</b>	Tricostatina A
<b>U</b>	Unidades
<b>U87</b>	Linhagem celular derivada de glioblastoma
<b>UVA</b>	Ultravioleta A
<b>v/v</b>	Volume/volume
<b>VEGFD</b>	<i>Vascular endothelial growth factor – D</i> (Fator de crescimento endotelial vascular - D)
<b>VEGFD-3</b>	<i>Vascular endothelial growth factor - D3</i> (Fator de crescimento endotelial vascular – D3)
<b>VHL</b>	<i>Von Hippel-Lindau tumor supressor</i> (Ubiquitinaligase3)
<b>µg</b>	Micrograma

**$\mu\text{L}$**

Microlitro

**$\mu\text{M}$**

Micromolar



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	16
1.1 Carcinoma de células renais.....	16
1.1.1 Epidemiologia.....	16
1.1.2 Classificação e caracterização.....	17
1.1.3 Fatores de risco.....	18
1.1.4 Diagnóstico e fatores prognósticos.....	20
1.1.5 Tratamento.....	21
1.2 Berberina.....	23
1.3 Terapia fotodinâmica.....	25
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	29
2.1 Objetivos específicos.....	29
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	30
3.1 Preparação da berberina.....	30
3.2 Cultivo e manutenção das linhagens celulares.....	30
3.3 Ensaio de viabilidade celular.....	30
3.4 Microscopia de fluorescência para análise de captação de berberina.....	31
3.5 Ensaio de fototoxicidade.....	31
3.6 Ensaio de quantificação de espécies reativas de oxigênio (ERO's).....	32
3.7 Ensaio de Autofagia.....	33
3.8 Ensaio de Apoptose.....	33
3.9 PCR Array.....	34
3.10 Análise metabolômica.....	34
3.10.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....	35
3.11 Análise estatística.....	35
<b>4. ARTIGO CIENTÍFICO</b>	
<b>Berberine associated photodynamic therapy promotes autophagy and apoptosis via ROS generation in renal carcinoma cells</b> .....	37
<b>Abstract</b> .....	38
<b>1. Introduction</b> .....	39
<b>2. Material and methods</b> .....	40
2.1 Preparation of the berberine.....	40

2.2 Cell lines and culture conditions.....	40
2.3 Cell viability assay.....	41
2.4 Cellular uptake of the BBR.....	41
2.5 Cellular viability and phototoxicity.....	41
2.6 Measurement of Reactive Oxygen Species (ROS) assay.....	42
2.7 Autophagy assay.....	42
2.8 Apoptosis assay.....	43
2.9 PCR Array.....	43
2.10 Metabolite footprinting analysis.....	43
2.11 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy.....	44
2.12 Statistical analysis.....	44
<b>3. Results.....</b>	<b>45</b>
3.1 Effects of the BBR on cell viability.....	45
3.2 Cellular uptake of BBR.....	45
3.3 Effects of the phototoxicity of the BBR.....	45
3.4 BBR associated PDT induces ROS generation.....	46
3.5 BBR associated PDT induces autophagy.....	46
3.6 BBR associated PDT induces apoptosis.....	46
3.7 Expression of Target Genes of Anti-Cancer Drugs in 786-O cells treated with BBR associated PDT.....	47
3.8 Metabolic changes induced by BBR associated PDT.....	47
<b>4. Discussion.....</b>	<b>48</b>
Acknowledgments.....	52
Conflict of interest.....	52
References.....	53
<b>SUPPLEMENTARY MATERIAL.....</b>	<b>67</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>76</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>77</b>

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1 Carcinoma de células renais**

#### **1.1.1 Epidemiologia**

O câncer é considerado uma doença de alta complexidade decorrente de falhas nos mecanismos que geralmente controlam o crescimento e a proliferação celular (LODISH, 2000). O acúmulo progressivo de alterações genéticas e epigenéticas como a acetilação, metilação, fosforilação, ubiquinação, carbonilação e a regulação por microRNAs favorece uma célula cancerosa (BENNETT; LICHT, 2018). Esta é capaz de reproduzir-se desobedecendo aos limites normais da divisão celular e invadir regiões normalmente destinadas a outras células (ALBERTS, 2017).

A invasividade é uma característica primordial das células cancerosas, onde ocorre o despreendimento da célula no tecido com posterior penetração na corrente sanguínea ou vasos linfáticos formando tumores secundários (metástases) em sítios mais distantes do organismo (THOMPSON E THOMPSON, 2002; ALBERTS, 2017).

Considerado um grave problema de saúde pública, o câncer afeta a população mundial tanto em países desenvolvidos como em condições de subdesenvolvimento (SIEGEL; MILLER; JEMAL, 2016). Atualmente constitui a segunda principal causa de morte no mundo e a estimativa mais recente é de 18,1 milhões de novos casos no ano de 2018, provocando 9,6 milhões de óbitos (WHO, 2018). No Brasil, segundo a projeção do Instituto Nacional do Câncer (INCA), serão diagnosticados 640 mil novos casos de câncer no biênio 2018-2019 (INCA, 2017).

O carcinoma renal ou carcinoma de células renais (CCR) é o tipo mais comum de câncer de rim, correspondendo ao décimo quarto tipo de câncer mais prevalente no mundo e estimativas mundiais mais recentes são de aproximadamente 338.000 novos casos diagnosticados e 175.000 óbitos para o ano de 2018 (FERLAY et al., 2015). As maiores taxas são observadas na Europa, América do Norte e Austrália e em regiões em condições de subdesenvolvimento como África e ilhas do Pacífico os índices são menores (FERLAY et al., 2015). No Brasil, os dados mais recentes são de 6.270 novos casos, sendo 3.760 em homens e 2.510 em mulheres para o biênio 2018/2019 (ONCOGUIA, 2018). Apesar de perfazer cerca de 2-3% de todos os tipos de tumores, este tipo de câncer é de caráter altamente agressivo sendo considerada a lesão maligna urológica mais letal, com índices de mortalidade crescentes (LI et al., 2016). O aumento da incidência vem sendo observado ao longo dos anos

devido aos recentes avanços da detecção precoce dos tumores renais, proporcionada através de técnicas de imagem como ultrassonografias, imagens de ressonância magnética e tomografias computadorizadas (ZHAO et al., 2013).

O CCR acomete principalmente indivíduos do sexo masculino, e o pico de incidência ocorre a partir dos 50 anos de idade (CHOW; DONG; DEVESA, 2010).

### **1.1.2 Classificação e caracterização**

A determinação dos diversos tipos histológicos do CCR é de extrema relevância, pois, tem implicação na conduta terapêutica a ser adotada, bem como no prognóstico do paciente (LOPEZ-BELTRAN et al., 2009; MUGLIA; PRANDO, 2015). O CCR se apresenta como uma doença de acentuada heterogeneidade, com variados padrões morfológicos, características moleculares e clínicas, que são divididos em vários subtipos histológicos (JONASCH et al., 2012; MUGLIA; PRANDO, 2015). Os subtipos são o carcinoma renal de células claras, papilífero, cromóforo, cístico sólido, ductos coletores, medular, translocação Xp11, mucinoso tubular, associado a neuroblastoma e carcinomas não classificados (LOPEZ-BELTRAN et al., 2009; MUGLIA; PRANDO, 2015).

O carcinoma renal de células claras (ccCCR) é o subtipo histológico mais comum de câncer renal, representando cerca de 70% - 80% dos casos (MUGLIA; PRANDO, 2015). O ccCCR origina-se a partir das células do epitélio tubular proximal e em geral apresenta crescimento expansivo. Apresenta-se como uma lesão sólida, de cor amarelada e diferentes graus de necrose e hemorragia (MUGLIA; PRANDO, 2015). Histologicamente, é caracterizado por células claras devido aos depósitos abundantes de glicogênio e lipídeos no citoplasma que são dissolvidos durante os métodos de preparação histológica deixando o citoplasma claro (RINI; CAMPBELL; ESCUDIER, 2009). O diagnóstico geralmente é tardio com quadro metastático em um quinto dos pacientes e os sítios metastáticos mais comuns são fígado, glândula adrenal, pele, pulmões e linfonodos, além disso, a taxa de mortalidade é de 40% em cinco anos (DAGHER et al., 2017). A mutação no gene supressor tumoral Von Hippel-Lindau (*VHL*), localizado no cromossomo 3p25-p26 está presente em 50-70% dos carcinomas renais de células claras e esta alteração causa a perda de função supressora que está associada à transcrição de fatores pró-angiogênicos (KIM et al., 2017).

O carcinoma papilífero é o segundo tipo histológico mais comum, representando cerca de 10% dos casos, tem crescimento lento e habitualmente o curso clínico é menos agressivo do que o carcinoma renal de células claras, apresentando assim um melhor prognóstico

(LOPEZ-BELTRAN et al., 2009). Este tumor apresenta porções variáveis de papilas onde as células estão organizadas em arranjos fusiformes podendo apresentar áreas de hemorragia e necrose principalmente nas lesões maiores e, além disso, está subdividido em tipo 1 e 2 (LOPEZ-BELTRAN et al., 2009; MUGLIA; PRANDO, 2015). No tipo 1 as lesões geralmente são multifocais pequenas, contendo células de citoplasma basofílico e núcleos ovais uniformes, enquanto o tipo 2 é mais heterogêneo, contendo papilas recobertas por citoplasma eosinofílico e grandes núcleos esféricos com nucléolos proeminentes (CANCER GENOME ATLAS RESEARCH et al., 2016).

O carcinoma cromóforo tem uma incidência de 5% a 10% de todos os subtipos histológicos de carcinoma renal e é considerado de baixa agressividade, apresentando um melhor prognóstico em relação aos demais subtipos histológicos (MUGLIA; PRANDO, 2015). Macroscopicamente são lesões sólidas, bem delimitadas e altamente lobuladas, além disso, a superfície apresenta cor bege, marrom e castanho claro (VERA-BADILLO; CONDE; DURAN, 2012). Microscopicamente as células são grandes, poligonais com abundante citoplasma, membrana plasmática proeminente, núcleos irregulares, sendo a binucleação muito comum neste tipo tumoral (VERA-BADILLO; CONDE; DURAN, 2012).

Os carcinomas císticos sólidos, ductos coletores, medulares, translocações Xp11 e mucinosos tubulares representam 1% de todos os subtipos histológicos, sendo considerados raros e com prognósticos variáveis (LOPEZ-BELTRAN et al., 2009). Os subtipos ducto coletor e medular apresentam prognóstico ruim, pois 30% dos pacientes apresentam metástases no momento do diagnóstico (MUGLIA; PRANDO, 2015). Com prognóstico mais favorável, o cístico sólido, translocação Xp11 e mucinoso são de baixa agressividade e em alguns casos a patologia é totalmente curável (MUGLIA; PRANDO, 2015).

### **1.1.3 Fatores de risco**

Considera-se fator de risco qualquer característica que aumente ou afete a probabilidade de vir a contrair uma determinada doença (ACS, 2017). Embora existam alguns fatores de risco que aumentam a chance de desenvolver o CCR, ainda não está completamente elucidado como esses fatores transformam as células renais em células malignas (ACS, 2017). Existem diversos fatores, genéticos e ambientais, que têm sido apontados como possíveis causas do CCR, sendo os mais estabelecidos o consumo de tabaco, a obesidade e hipertensão arterial (CHOW; DONG; DEVESA, 2010). Outros fatores de risco como consumo de álcool e

exposição profissional a agentes químicos também foram implicados, mas as evidências ainda permanecem inconclusivas e controversas (KABARIA; KLAASSEN; TERRIS, 2016).

O consumo de tabaco é considerado o maior fator de risco para o CCR (FAJKOVIC et al., 2016). O risco é 50% maior em homens e 20% em mulheres quando comparado a indivíduos que nunca fumaram (CHOW; DONG; DEVESA, 2010). Tabagistas ativos ou que tiveram uma história de exposição ao tabaco desenvolvem formas mais agressivas da doença e apresentam menor sobrevida global (TSIVIAN et al., 2011). Existem algumas hipóteses que tentam elucidar os mecanismos pelos quais o tabaco induz ao carcinoma renal, dentre elas está a de que a fumaça produzida causa estresse oxidativo e lesiona os rins, promovendo insuficiência renal, além disso, a nicotina presente no tabaco tem demonstrado estimular processos angiogênicos acelerando o crescimento do tumor (KABARIA; KLAASSEN; TERRIS, 2016).

O sobrepeso e a obesidade são fatores de risco bem estabelecidos para o desenvolvimento de CCR e a proporção de casos atribuídos a esses fatores é estimada em 30 - 40% tanto em homens como em mulheres (CHOW; DONG; DEVESA, 2010; MCGUIRE; FITZPATRICK, 2011; WILSON; CHO, 2016). Os mecanismos que correlacionam obesidade e risco de CCR ainda não estão bem compreendidos. O tecido adiposo é capaz de secretar moléculas como a leptina que dão suporte ao crescimento tumoral, em contrapartida, pacientes obesos tem baixos níveis de adiponectina que pode atuar como supressor tumoral (CHOW; DONG; DEVESA, 2010; KABARIA; KLAASSEN; TERRIS, 2016; WILSON; CHO, 2016).

A associação entre hipertensão arterial e risco para o CCR tem sido objeto de inúmeros estudos e mostra uma correlação dose-dependente, maiores níveis de pressão sanguínea e tempo de exposição a este quadro clínico, implicando em risco aumentado para o CCR (KABARIA; KLAASSEN; TERRIS, 2016). Um estudo mostrou que 31,8% dos pacientes com CCR eram hipertensos e que a pressão arterial foi normalizada após procedimento de nefrectomia, levantando desta forma o questionamento de que o CCR também possa induzir aumento de pressão sanguínea (STOJANOVIC; GOLDNER; IVKOVIC, 2009; COLT et al., 2011). Semelhante a indivíduos com IMC elevado, pacientes com hipertensão também apresentam aumento da peroxidação lipídica, que tem sido implicado na patogênese do CCR (KABARIA; KLAASSEN; TERRIS, 2016).

Apesar de o consumo de álcool estar associado ao desenvolvimento de diversos tipos de câncer como mama, fígado, laringe, cólon e esôfago, um risco reduzido tem sido reportado para o CCR (LEW et al., 2011). Um grande estudo de corte com 100 mil americanos observou

relação inversa entre o consumo de álcool e risco de CCR, tanto para homens quanto para mulheres e em diferentes tipos de bebidas incluindo vinho, cerveja, entre outras (KARAMI; DAUGHERTY; PURDUE, 2015). O mecanismo pelo qual o consumo moderado de álcool diminui o risco de CCR pode estar ligado ao aumento da sensibilidade à insulina, que diminui o risco de diabetes do tipo 2 e aumenta a produção de IGF-1 (fator de crescimento semelhante à insulina 1) (CHENG; XIE, 2011; SONG et al., 2012).

O CCR geralmente não é considerado uma doença relacionada à exposição ocupacional, mas este risco tem sido associado ao contato com vários agentes químicos industriais (CHOW; DONG; DEVESA, 2010). Diversos autores tem reportado significativa associação da exposição ao tricloroetileno (TCE) e aumento do risco para CCR; trata-se de um solvente orgânico usado como desengordurante e aditivo químico, considerado altamente carcinogênico (CHOW; DEVESA, 2008; ALANEE et al., 2015). Vários metais como arsênio, cádmio, chumbo e urânio, hidrocarbonetos poliaromáticos e amianto são considerados fatores de risco ocupacionais para o desenvolvimento de CCR (KIM et al., 2014).

#### **1.1.4 Diagnóstico e fatores prognósticos**

Cerca de 50% dos tumores renais são diagnosticados incidentalmente (ESCUDIER et al., 2019). Nos estágios iniciais, esta doença se apresenta completamente assintomática e à medida que o tumor se avança surgem os sintomas clássicos locais, como hematúria, dor abdominal e massa palpável no flanco, todos esses com implicações prognósticas negativas (RINI; CAMPBELL; ESCUDIER, 2009; ESCUDIER et al., 2019). Sintomas sistêmicos como síndromes febris, prostração, anorexia e perda de peso significativa, podem ser evidências de um quadro possivelmente metastático (ESCUDIER et al., 2019).

Tumores diagnosticados incidentalmente têm aumentado consideravelmente através da disseminação e melhoria das técnicas de diagnóstico, especificamente as técnicas de imagem como ultrassonografias, tomografias computadorizadas e ressonância magnética (NG et al., 2008; RINI; CAMPBELL; ESCUDIER, 2009). A biópsia percutânea de tumor renal pode revelar a histologia de massas renais radiologicamente indeterminadas a fim de evitar procedimentos cirúrgicos de lesões benignas, além disso, possui alta eficiência e especificidade, em torno de 98-100% (LJUNGBERG et al., 2015).

Um dos parâmetros morfológicos patológicos que apresenta melhores resultados e indica as variáveis mais utilizadas como fator prognóstico é o sistema de classificação TNM. Este se baseia na observação do estadiamento da extensão tumoral (T1-T4),

comprometimento de linfonodos (N0-N2) e ausência ou presença de metástases (M0 ou M1) (DUNNICK, 2016; TANEJA; WILLIAMSON, 2018). Após a identificação de cada variável é feita uma classificação do grupo de estadiamento que varia do estágio I a IV (EDGE; COMPTON, 2010; DUNNICK, 2016; TANEJA; WILLIAMSON, 2018). Pacientes com estadios clínicos baixos (I e II) possuem melhor prognóstico quando comparados aqueles com estadios clínicos mais avançados (III e IV) (HUTSON, 2005).

Um segundo parâmetro utilizado é o grau nuclear ou grau de Fuhrman, que é dividido em quatro graus nucleares (G1 - G4) e são definidos em ordem crescente de tamanho, irregularidade e proeminência nucleolar (HUTSON, 2005). Estudos atuais mostram que o grau da classificação de Fuhrman está intimamente relacionado com a taxa de crescimento dos tumores e o prognóstico dos pacientes, tumores de alto grau (G3 e G4) tem maior capacidade invasiva, maior possibilidade de metástase e pior prognóstico (FENG et al., 2019).

Portanto, a detecção incidental, a extensão da lesão, a invasão de linfonodos e a ausência ou presença de metástase compõem fatores prognósticos independentes e muito importantes que influenciam na sobrevida dos pacientes com CCR (HUTSON, 2005; DUNNICK, 2016; TANEJA; WILLIAMSON, 2018).

Tabela 1: Grupos de estadiamento de tumores renais.

<b>Estágio</b>	<b>T</b>	<b>N</b>	<b>M</b>
<b>I</b>	T1	N0	M0
<b>II</b>	T2	N0	M0
<b>III</b>	T1-2	N1	M0
<b>III</b>	T3	N0-1	M0
<b>IV</b>	T4	Nx	M0
<b>IV</b>	Tx	Nx	M1

Fonte: (TANEJA; WILLIAMSON, 2018)

### 1.1.5 Tratamento

O tratamento do CCR é determinado pelo estágio em que a doença se encontra (PENTICUFF; KYPRIANOU, 2015). A cirurgia constitui a base para o tratamento dos tumores clinicamente localizados, sendo a nefrectomia radical usualmente indicada em



tumores mais avançados ou múltiplos tumores pequenos, nesse caso ocorrendo a remoção completa do rim e órgãos adjacentes, como a glândula supra renal (HSIEH et al., 2017).

A nefrectomia radical expõe o paciente à insuficiência renal crônica, cardiopatias e consequente aumento da taxa de mortalidade devido às complicações (RINI; CAMPBELL; ESCUDIER, 2009; PENTICUFF; KYPRIANOU, 2015). A nefrectomia parcial é utilizada em pacientes com tumores pequenos (inferiores a 4 cm de diâmetro) ou tumores bilaterais, permitindo assim preservar parcialmente o parênquima renal evitando complicações pós-cirúrgicas como a insuficiência renal crônica (HUTSON, 2005; HSIEH et al., 2017; ESCUDIER et al., 2019).

Apesar do aumento na detecção de pequenas massas renais e subsequente remoção com nefrectomia, a mortalidade aumentou. As taxas de recidiva local ou sistêmica após ressecção do tumor primário são em torno de 59% em 12 meses, 83% em 24 meses e 93% em 36 meses (HUTSON, 2005; RINI; CAMPBELL; ESCUDIER, 2009; MAKHOV et al., 2018). Esse achado sugere que a extirpação cirúrgica de todas as pequenas massas renais pode não reduzir a mortalidade (RINI; CAMPBELL; ESCUDIER, 2009; PENTICUFF; KYPRIANOU, 2015). Pacientes com recorrência após nefrectomia tem prognóstico ruim e são candidatos à terapia sistêmica (HUTSON, 2005).

A base da terapia sistêmica para o CCR metastático tem sido historicamente a imunoterapia com interleucina-2 (IL-2) e interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ). Altas doses de IL-2 produzem consistentemente uma taxa de remissão completa de 6-8% e taxa de cura de aproximadamente 5%, no entanto, é uma estratégia bastante tóxica (NG et al., 2008; PENTICUFF; KYPRIANOU, 2015). O tratamento com altas doses de IL-2 geralmente produz uma síndrome de extravasamento capilar em pacientes e requer monitoramento frequente da pressão arterial (PENTICUFF; KYPRIANOU, 2015). O IFN- $\alpha$  proporcionou melhores benefícios em relação à sobrevida, um perfil de toxicidade mais favorável e é mais facilmente administrado que a IL-2 (PENTICUFF; KYPRIANOU, 2015).

Inibidores de angiogênese podem ser usados como uma alternativa terapêutica, visto que a angiogênese é um processo muito importante para desenvolvimento do carcinoma renal (RINI; CAMPBELL; ESCUDIER, 2009).

A quimioterapia, principal linha de tratamento para tumores sólidos em estágios avançados não possui qualquer atividade sobre o CCR, bem como protocolos de hormonioterapia e radioterapia (DRUCKER, 2005; MAKHOV et al., 2018). Além disso, os efeitos secundários são diversos, incluindo neutropenia, leucopenia, alopecia, transtornos

gastrointestinais e alterações cardiovasculares, expondo o paciente à debilitação física e emocional (BELENKOV et al., 2018).

Com isso, existe uma necessidade significativa e não satisfeita de novas estratégias terapêuticas que possam superar as desvantagens dos tratamentos convencionais disponíveis atualmente, com maior seletividade, especificidade e menor toxicidade para o paciente, fazendo com que o tratamento apresente poucos efeitos secundários adversos (ARAVIND; KRISHNAN, 2016).

Assim, a pesquisa por tratamentos com a utilização de drogas derivadas de plantas tem ganhado interesse e vários estudos têm relatado diferentes propriedades terapêuticas dos compostos naturais, que podem atuar em diferentes vias metabólicas afetando as células tumorais (GALI-MUHTASIB et al., 2015; WANG et al., 2015; SHANMUGAM et al., 2017; DUTTA et al., 2019).

Nesse sentido, explorar e descrever os mecanismos pelos quais esses compostos atuam, em relação às vias específicas que levam a inibição da proliferação, migração, invasão e morte celular é de grande relevância para o futuro (GALI-MUHTASIB et al., 2015).

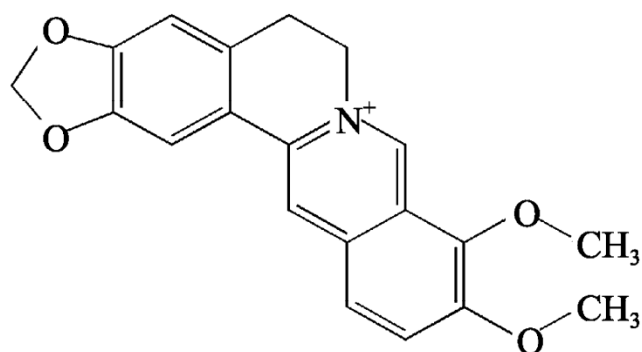
## 1.2 Berberina

A utilização de plantas com finalidade terapêutica remonta os tempos antigos na história da humanidade e, apesar do enorme aperfeiçoamento e desenvolvimento da indústria química, cerca de 60% dos quimioterápicos disponíveis atualmente são produtos naturais ou derivados desses (CRAGG; NEWMAN, 2013). As plantas aparecem como um excelente recurso para o desenvolvimento de potenciais fármacos, principalmente contra o câncer, doença que ainda apresenta altos índices de mortalidade (MONDAL et al., 2012).

Uma ampla gama de produtos naturais, como terpenóides, flavonoides, alcalóides, polifenóis e outros metabólitos mostraram propriedades anticancerígenas promissoras (BHAUMIK et al., 2019).

Nesse contexto, a berberina é um alcaloide isoquinolínico natural, de cor amarela, com uma longa história na medicina chinesa (WANG et al., 2015). Pode ser encontrada e extraída de rizomas, raízes e caules de diversas espécies de plantas incluindo *Berberis vulgaris*, *Berberis aristata*, *Hydrastis canadenses*, *Coptis chinensis*, *Arcangelisia flava*, *Berberis aquifolium* (SUN et al., 2009; WANG et al., 2015).

**Figura 1:** Estrutura química da berberina.



Fonte: (SUN et al., 2009).

Possui um grande espectro de aplicações clínicas, sendo utilizada como antidiarreica, antimicrobiana, anti-inflamatória, anti-hipertensiva, antidiabética, antioxidante e antiproliferativa/antitumoral (ABD EL-WAHAB et al., 2013; PIERPAOLI et al., 2015).

Recentemente, diversos estudos *in vitro* utilizando diversas linhagens celulares tem mostrado que a berberina atua em várias fases do desenvolvimento do câncer, inibindo a proliferação e migração celular, além de induzir o processo de morte celular por autofagia e apoptose (ORTIZ et al., 2014; PARK et al., 2015; PARK et al., 2016; SENGUPTA et al., 2017; DAI et al., 2019). A atividade anticâncer da berberina já foi demonstrada em diversos tipos tumorais, incluindo mama (BARZEGAR et al., 2015), pulmão (BALAKRISHNA; KUMAR, 2015), cólon (LI et al., 2015), próstata (HUANG et al., 2015), melanoma (SONG et al., 2015), hepatocelular (TSANG et al., 2015), bexiga (YAN et al., 2013), entre outros.

A berberina é capaz de interagir diretamente ao DNA induzindo quebras e mudando a conformação molecular, assim consegue suprimir os processos de transcrição genética (ORTIZ et al., 2014). Além disso, atua na inibição da telomerase, no potencial de membrana mitocondrial, regulação de proteínas membro da família Bcl-2 e de ciclinas, além de outras proteínas envolvidas na sinalização celular, dessa forma a parada do ciclo celular constitui um importante mecanismo induzido por este alcaloide (ZOU et al., 2017).

Philogene e colaboradores (1984) relataram sobre a natureza fluorescente da berberina e seu potencial fototóxico, sendo considerado um bom agente fotossensibilizador para uso em processo fotodinâmicos. A ligação eletrostática com o DNA leva a formação de um complexo intermolecular altamente fluorescente (HIRAKAWA; HIRANO, 2008).

Estudos de Andrezza e cols. (2016) e de Bhattacharyya, Saha e cols. (2017), demonstraram resultados promissores sobre a utilização da berberina para aplicação na terapia fotodinâmica, porém os mecanismos dos possíveis danos foto oxidativos ainda não estão completamente esclarecidos (LUIZA ANDREAZZA et al., 2016; BHATTACHARYYA et al., 2017).

### **1.3 Terapia fotodinâmica**

Atualmente, a pesquisa médica básica tem buscado se concentrar e desenvolver alternativas terapêuticas minimamente invasivas, seguras, potentes e com relação custo-eficácia acessíveis (LUCKY; SOO; ZHANG, 2015).

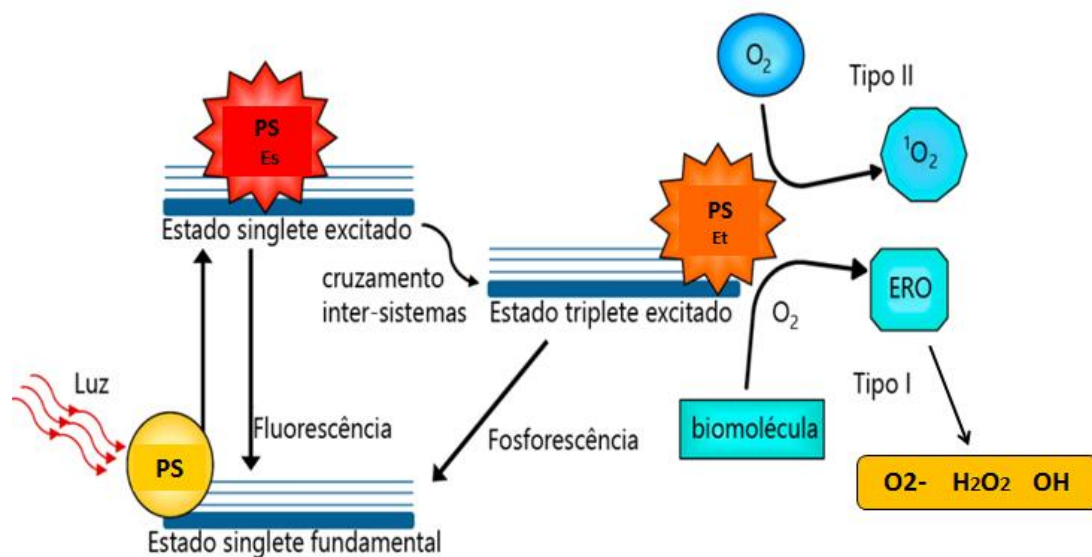
A história da terapia fotodinâmica remonta os anos de 1900 quando Oscar Raab demonstrou que o corante acridina na presença de luz visível gerava toxicidade e destruía microrganismos como o protozoário *Paramecium*, a esse evento denominou ‘Terapia Fotodinâmica’ (DANIELL; HILL, 1991; KATO, 1996; KESSEL, 2006). A partir disso, a terapia fotodinâmica (TFD) tem sido explorada e aplicada na área das ciências médicas para o tratamento de diversas patologias, inclusive o câncer (DOUGHERTY et al., 1978; DOUGHERTY, 1989).

Em 1978, Dougherty e colaboradores, fizeram o primeiro estudo clínico envolvendo diversos tipos de carcinomas e aplicação da TFD em seres humanos. Este trabalho incluiu pacientes com câncer de mama, cólon, próstata, melanoma, condrossarcoma, angiossarcoma, células endometriais, basais e escamosas, todos estes apresentavam resistência a tratamentos convencionais da época. Foi utilizado um fotossensibilizador derivado da hematoporfirina por via endovenosa com posterior irradiação local do tumor, obtendo uma resposta satisfatória em 87% das lesões, mostrando pela primeira vez a possibilidade de tratamento com TFD em tumores resistentes a outras terapias (DOUGHERTY et al., 1978).

A TFD constitui uma modalidade de tratamento alternativa minimamente invasiva, que requer a administração sistêmica ou tópica de um fotossensibilizador (PS), seguido por irradiação do local da doença com uma luz de comprimento de onda específico para ativar e/ou excitar o PS (SHIRASU; NAM; KUROKI, 2013; NAIDOO; KRUGER; ABRAHAMSE, 2018). Os mecanismos de ação da terapia fotodinâmica envolvem três elementos fundamentais, sendo eles: um agente fotossensibilizante ou fotossensibilizador, uma fonte de luz específica e moléculas de oxigênio (CASTILHO-FERNANDES et al., 2017). Nenhum

desses elementos é individualmente tóxico, mas juntos desencadeiam reações fotoquímicas que resultam na geração de moléculas reativas que causam danos oxidativos que podem levar a morte celular por apoptose, necrose ou autofagia (AGOSTINIS et al., 2011). Estas reações fotoquímicas podem ocorrer através de dois mecanismos distintos denominados reação tipo I e II:

**Figura 2:** Terapia fotodinâmica: reações tipo I e tipo II. Após a emissão e absorção da luz, o PS atinge o estado singlete excitado. Após o cruzamento intersistemas, o PS pode reagir em duas vias: reagir com biomoléculas através da transferência de um átomo de hidrogênio (elétron) para formar radicais, que reagem com o oxigênio molecular para gerar ERO (reação do tipo I); ou o PS no estado triplete pode reagir diretamente com o oxigênio através de transferência de energia, gerando o oxigênio singlete (Reação do tipo II). PS: fotossensibilizador; PS Es: fotossensibilizador no estado singlete excitado; PS Et: fotossensibilizador no estado triplete excitado; ERO: espécie reativa de oxigênio;  $^1\text{O}_2$ : oxigênio singlete;  $\text{O}_2^-$ : radical superóxido;  $\text{H}_2\text{O}_2$ : peróxido de hidrogênio; OH: radical hidroxila.



Fonte: Adaptado de (CALIXTO et al., 2016)

Na reação do tipo I, o PS no estado triplete excitado pela luz reage com biomoléculas (lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos) transferindo elétrons, e gerando radicais livres ou íons radicais e, ao reagir com o oxigênio intra-molecular, esses radicais levam a formação de espécies reativas de oxigênio, como superóxidos, radicais de hidroxilas e peróxido de hidrogênio, que por sua vez causam danos biológicos irreparáveis (TAKASAKI et al., 2009; AGOSTINIS et al., 2011; DAI et al., 2012; NAIDOO; KRUGER; ABRAHAMSE, 2018; SHI

et al., 2018). Quanto à reação tipo II, ocorre transferência direta de energia para o oxigênio molecular, que se encontra em seu estado triplete levando a formação de oxigênio singlete excitado ( $^1O_2$ ), molécula altamente reativa e citotóxica (TAKASAKI et al., 2009). Ambas as reações, podem ocorrer simultaneamente, e a proporção entre estes processos, depende do tipo de fotossensibilizador, assim como, das concentrações de oxigênio molecular e do substrato local (LUCKY; SOO; ZHANG, 2015; SHI et al., 2018). Os fármacos fotossensíveis utilizados em TFD são compostos que absorvem a energia luminosa em comprimentos de ondas específicos induzindo a produção de espécies reativas de oxigênio e outras espécies ativas no processo fotodinâmico (NUNES; SGUILLA; TEDESCO, 2004; SOBOLEV; ROZENKRANTS; GILIAZOVA, 2004).

Os mecanismos que promovem a destruição irreversível do tecido tumoral incluem a produção de espécies reativas de oxigênio; efeitos antivasculares levando à morte das células neoplásicas por privação de oxigênio e nutrientes, além da ativação da resposta imune contra as células tumorais por meio do processo de inflamação aguda e liberação de citocinas no tumor, resultando num influxo de macrófagos e leucócitos que podem contribuir para a destruição tumoral (KESSEL, 2006; KESSEL; OLEINICK, 2018).

A TFD tem auxiliado no tratamento de diversos tipos de tumores sólidos, como cabeça e pescoço, carcinoma basocelular, câncer cervical, esôfago, bexiga e gástrico (LUO et al., 2017). Primeiramente foi utilizada no tratamento superficial de lesões de pele, no entanto, desde o seu desenvolvimento original, houve avanços tecnológicos que permitem o uso de TFD no tratamento de uma gama mais ampla de tumores sólidos, incluindo mama (CUENCA et al., 2004), cérebro (MULLER; WILSON, 2006), pulmão (SIMONE; CENGEL, 2014), pâncreas (PEREIRA, 2012) e próstata (PERERA et al., 2016). Para o carcinoma de células renais, por enquanto, esse método é considerado uma alternativa para pequenas lesões e uma opção eficaz preservadora de néfrons (KROEZE et al., 2012).

O elevado potencial de destruição do tecido tumoral, preservando o tecido saudável circundante é uma das características principais da TFD, sendo reconhecida como uma das suas maiores vantagens comparando a outras opções de tratamento. Para este elevado nível de seletividade contribuem dois fatores críticos, a capacidade intrínseca de muitos fotossensibilizadores se acumularem preferencialmente no tecido tumoral, e a aplicação da luz exclusivamente na área de tratamento (LUO et al., 2017).

A utilização da TFD como alternativa paliativa tem sido explorada como forma de melhoria da qualidade de vida e prolongamento da sobrevida do paciente (PARK; PARK, 2016).

A possibilidade de a berberina ser um agente fotossensível foi relatada, pois quando combinada à radiação UVA provocou danos ao DNA de linhagem de queratinócitos (CHIGNELL et al., 2007). Efeitos similares foram observados em células de câncer de pulmão, onde o tratamento com radiação ionizante potencializou o efeito da berberina levando a morte celular das células tumorais (PENG et al., 2008).

Embora avaliada em vários tipos de câncer, os mecanismos moleculares de ação da berberina não estão completamente elucidados, pois há evidências de interação com várias vias de morte celular em diferentes tipos tumorais, além disso, os seus efeitos como agente fotossensibilizador na TFD ainda é pouco explorado. Desse modo, os trabalhos relacionados com a berberina tem contribuído para um maior entendimento da ação deste alcaloide no processo tumorigênico e estudos são necessários para estabelecer o efeito desse alcaloide na terapia fotodinâmica em células de carcinoma renal.

## CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu as seguintes conclusões:

1. A berberina apresentou citotoxicidade dose e tempo dependente;
2. Foi observada eficiente internalização para todas as linhagens estudadas;
3. O efeito anticâncer da berberina foi potencializado quando associado à terapia fotodinâmica, diminuindo consideravelmente a viabilidade celular;
4. A geração de espécies reativas de oxigênio pela berberina associada à terapia fotodinâmica induziu morte celular por autofagia e apoptose;
5. O tratamento proposto foi capaz de diminuir a expressão do gene *FIGF* que está relacionado aos processos de angiogênese, assim como o gene *TERT* responsável pela regulação da atividade da telomerase;
6. O gene *PLK3*, considerado um supressor tumoral, teve sua expressão aumentada após o tratamento com berberina associada à terapia fotodinâmica.
7. O tratamento proposto foi capaz de alterar metabólitos que estão relacionados à proliferação e migração celular, além de processos angiogênicos.

Diante do exposto, podemos inferir o potencial promissor da berberina como agente fotossensibilizante em um sistema de terapia fotodinâmica, pois gerou uma resposta antitumoral no carcinoma de células renais.



## REFERÊNCIAS

ABD EL-WAHAB, A. E. et al. In vitro biological assessment of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine: antioxidants, anti-acetylcholinesterase, anti-diabetic and anticancer effects. **BMC Complement Altern Med**, v. 13, p. 218, Sep 5 2013. ISSN 1472-6882 (Electronic)1472-6882 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24007270>>.

ACS. American Cancer Society. Disponível em [www.cancer.org](http://www.cancer.org). Acesso em: 11 mar. 2019.

AGOSTINIS, P. et al. Photodynamic therapy of cancer: an update. **CA Cancer J Clin**, v. 61, n. 4, p. 250-281, Jul-Aug 2011. ISSN 1542-4863 (Electronic)0007-9235 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21617154>>.

ALANEE, S. et al. Trichloroethylene Is Associated with Kidney Cancer Mortality: A Population-based Analysis. **Anticancer Res**, v. 35, n. 7, p. 4009-4013, Jul 2015. ISSN 1791-7530 (Electronic)0250-7005 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26124349>>.

ALBERTS, B. *et al.* Biologia molecular da célula, 6. ed. Ed. Artmed, Porto Alegre, 2017.

ARAVIND, S. R.; KRISHNAN, L. K. Curcumin-albumin conjugates as an effective anti-cancer agent with immunomodulatory properties. **Int Immunopharmacol**, v. 34, p. 78-85, May 2016. ISSN 1878-1705 (Electronic)1567-5769 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26927614>>.

BALAKRISHNA, A.; KUMAR, M. H. Evaluation of Synergetic Anticancer Activity of Berberine and Curcumin on Different Models of A549, Hep-G2, MCF-7, Jurkat, and K562 Cell Lines. **Biomed Res Int**, v. 2015, p. 354614, 2015. ISSN 2314-6141 (Electronic). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26247019>>.

BARZEGAR, E. et al. Effects of berberine on proliferation, cell cycle distribution and apoptosis of human breast cancer T47D and MCF7 cell lines. **Iran J Basic Med Sci**, v. 18, n. 4, p. 334-342, Apr 2015. ISSN 2008-3866 (Print)2008-3866 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26019795>>.

BELENKOV, Y. N. et al. [Vascular Complications Of Cancer Chemotherapy]. **Kardiologiya**, v. 58, n. Suppl 9, p. 4-9, Sep 2018. ISSN 0022-9040 (Print)0022-9040 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30312566>>.

BENNETT, R. L.; LICHT, J. D. Targeting Epigenetics in Cancer. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v. 58, p. 187-207, Jan 6 2018. ISSN 1545-4304 (Electronic)0362-1642 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28992434>>.

BHATTACHARYYA, R. et al. Differential modes of photosensitisation in cancer cells by berberine and coralyne. **Free Radic Res**, v. 51, n. 7-8, p. 723-738, Jul-Aug 2017. ISSN 1029-2470 (Electronic)1029-2470 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28870132>>.

BHAUMIK, I. et al. Natural product inspired allicin analogs as novel anti-cancer agents. **Bioorg Chem**, v. 86, p. 259-272, Jan 29 2019. ISSN 1090-2120 (Electronic)0045-2068 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30731359>>.

CALIXTO, G. M. et al. Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems for Photodynamic Therapy of Cancer: A Review. **Molecules**, v. 21, n. 3, p. 342, Mar 11 2016. ISSN 1420-3049 (Electronic)1420-3049 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26978341>>.

CANCER GENOME ATLAS RESEARCH, N. et al. Comprehensive Molecular Characterization of Papillary Renal-Cell Carcinoma. **N Engl J Med**, v. 374, n. 2, p. 135-145, Jan 14 2016. ISSN 1533-4406 (Electronic)0028-4793 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26536169>>.

CASTILHO-FERNANDES, A. et al. Photodynamic process induced by chloro-aluminum phthalocyanine nanoemulsion in glioblastoma. **Photodiagnosis Photodyn Ther**, v. 19, p. 221-228, Sep 2017. ISSN 1873-1597 (Electronic)1572-1000 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28599959>>.

CHENG, G.; XIE, L. Alcohol intake and risk of renal cell carcinoma: a meta-analysis of published case-control studies. **Arch Med Sci**, v. 7, n. 4, p. 648-657, Aug 2011. ISSN 1896-9151 (Electronic)1734-1922 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22291801>>.

CHIGNELL, C. F. et al. Photochemistry and photocytotoxicity of alkaloids from Goldenseal (*Hydrastis canadensis* L.) 3: effect on human lens and retinal pigment epithelial cells. **Photochem Photobiol**, v. 83, n. 4, p. 938-943, Jul-Aug 2007. ISSN 0031-8655 (Print)0031-8655 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17645667>>.

CHONG, J. et al. MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. **Nucleic Acids Res**, v. 46, n. W1, p. W486-W494, Jul 2 2018. ISSN 1362-4962 (Electronic)0305-1048 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29762782>>.

CHOW, W. H.; DEVESA, S. S. Contemporary epidemiology of renal cell cancer. **Cancer J**, v. 14, n. 5, p. 288-301, Sep-Oct 2008. ISSN 1528-9117 (Print)1528-9117 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18836333>>.

CHOW, W. H.; DONG, L. M.; DEVESA, S. S. Epidemiology and risk factors for kidney cancer. **Nat Rev Urol**, v. 7, n. 5, p. 245-257, May 2010. ISSN 1759-4820 (Electronic)1759-4812 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20448658>>.

COLT, J. S. et al. Hypertension and risk of renal cell carcinoma among white and black Americans. **Epidemiology**, v. 22, n. 6, p. 797-804, Nov 2011. ISSN 1531-5487 (Electronic)1044-3983 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21881515>>.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochim Biophys Acta**, v. 1830, n. 6, p. 3670-3695, Jun 2013. ISSN 0006-3002 (Print)0006-3002 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23428572>>.

CUENCA, R. E. et al. Breast cancer with chest wall progression: treatment with photodynamic therapy. **Ann Surg Oncol**, v. 11, n. 3, p. 322-327, Mar 2004. ISSN 1068-9265 (Print)1068-9265 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14993029>>.

DAGHER, J. et al. Clear cell renal cell carcinoma: a comparative study of histological and chromosomal characteristics between primary tumors and their corresponding metastases. **Virchows Arch**, v. 471, n. 1, p. 107-115, Jul 2017. ISSN 1432-2307 (Electronic)0945-6317 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28488172>>.

DAI, T. et al. Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform. **Front Microbiol**, v. 3, p. 120, 2012. ISSN 1664-302X (Electronic)1664-302X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22514547>>.

DAI, W. et al. Berberine Promotes Apoptosis of Colorectal Cancer via Regulation of the Long Non-Coding RNA (lncRNA) Cancer Susceptibility Candidate 2 (CASC2)/AU-Binding Factor 1 (AUF1)/B-Cell CLL/Lymphoma 2 (Bcl-2) Axis. **Med Sci Monit**, v. 25, p. 730-738, Jan 25 2019. ISSN 1643-3750 (Electronic)1234-1010 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30681073>>.

DANIELL, M. D.; HILL, J. S. A history of photodynamic therapy. **Aust N Z J Surg**, v. 61, n. 5, p. 340-348, May 1991. ISSN 0004-8682 (Print)0004-8682 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2025186>>.

DOUGHERTY, T. J. Photodynamic therapy--new approaches. **Semin Surg Oncol**, v. 5, n. 1, p. 6-16, 1989. ISSN 8756-0437 (Print)1098-2388 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2652248>>.

DOUGHERTY, T. J. et al. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. **Cancer Res**, v. 38, n. 8, p. 2628-2635, Aug 1978. ISSN 0008-5472 (Print)0008-5472 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/667856>>.

DRUCKER, B. J. Renal cell carcinoma: current status and future prospects. **Cancer Treat Rev**, v. 31, n. 7, p. 536-545, Nov 2005. ISSN 0305-7372 (Print)0305-7372 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16236454>>.

DUNNICK, N. R. Renal cell carcinoma: staging and surveillance. **Abdom Radiol (NY)**, v. 41, n. 6, p. 1079-1085, Jun 2016. ISSN 2366-0058 (Electronic). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26971340>>.

DUTTA, S. et al. Natural products: An upcoming therapeutic approach to cancer. **Food Chem Toxicol**, Apr 13 2019. ISSN 1873-6351 (Electronic)0278-6915 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30991130>>.

EDGE, S. B.; COMPTON, C. C. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. **Ann Surg Oncol**, v. 17, n. 6, p. 1471-1474, Jun 2010. ISSN 1534-4681 (Electronic)1068-9265 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20180029>>.

ESCUDIER, B. et al. Renal cell carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **Ann Oncol**, Feb 21 2019. ISSN 1569-8041 (Electronic)0923-7534 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30788497>>.

FAJKOVIC, H. et al. Impact of smoking status on survival after cytoreductive nephrectomy for metastatic renal cell carcinoma. **World J Urol**, v. 34, n. 10, p. 1411-1419, Oct 2016. ISSN 1433-8726 (Electronic)0724-4983 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26879416>>.

FENG, Z. et al. CT texture analysis: a potential tool for predicting the Fuhrman grade of clear-cell renal carcinoma. **Cancer Imaging**, v. 19, n. 1, p. 6, Feb 6 2019. ISSN 1470-7330 (Electronic)1470-7330 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30728073>>.

FERLAY, J. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **Int J Cancer**, v. 136, n. 5, p. E359-386, Mar 1 2015. ISSN 1097-0215 (Electronic)0020-7136 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25220842>>.

GALI-MUHTASIB, H. et al. Cell death mechanisms of plant-derived anticancer drugs: beyond apoptosis. **Apoptosis**, v. 20, n. 12, p. 1531-1562, Dec 2015. ISSN 1573-675X (Electronic)1360-8185 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26362468>>.

HIRAKAWA, K.; HIRANO, T. The microenvironment of DNA switches the activity of singlet oxygen generation photosensitized by berberine and palmatine. **Photochem Photobiol**, v. 84, n. 1, p. 202-208, Jan-Feb 2008. ISSN 0031-8655 (Print)0031-8655 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18173721>>.

HSIEH, J. J. et al. Renal cell carcinoma. **Nat Rev Dis Primers**, v. 3, p. 17009, Mar 9 2017. ISSN 2056-676X (Electronic)2056-676X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28276433>>.

HUANG, Z. H. et al. Berberine targets epidermal growth factor receptor signaling to suppress prostate cancer proliferation in vitro. **Mol Med Rep**, v. 11, n. 3, p. 2125-2128, Mar 2015. ISSN 1791-3004 (Electronic)1791-2997 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25394789>>.

HUTSON, T. E. Renal cell carcinoma: diagnosis and treatment, 1994-2003. **Proc (Bayl Univ Med Cent)**, v. 18, n. 4, p. 337-340, Oct 2005. ISSN 0899-8280 (Print)0899-8280 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16252025>>.

Instituto Nacional do Câncer (INCA). Ministério da saúde. Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil/ Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. Rio de Janeiro, INCA, 2017.

JONASCH, E. et al. State of the science: an update on renal cell carcinoma. **Mol Cancer Res**, v. 10, n. 7, p. 859-880, Jul 2012. ISSN 1557-3125 (Electronic)1541-7786 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22638109>>.

KABARIA, R.; KLAASSEN, Z.; TERRIS, M. K. Renal cell carcinoma: links and risks. **Int J Nephrol Renovasc Dis**, v. 9, p. 45-52, 2016. ISSN 1178-7058 (Print)1178-7058 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27022296>>.

KARAMI, S.; DAUGHERTY, S. E.; PURDUE, M. P. A prospective study of alcohol consumption and renal cell carcinoma risk. **Int J Cancer**, v. 137, n. 1, p. 238-242, Jul 1 2015. ISSN 1097-0215 (Electronic)0020-7136 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25431248>>.

KATO, H. [History of photodynamic therapy--past, present and future]. **Gan To Kagaku Ryoho**, v. 23, n. 1, p. 8-15, Jan 1996. ISSN 0385-0684 (Print)0385-0684 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8546474>>.

KESSEL, D. Death pathways associated with photodynamic therapy. **Med Laser Appl**, v. 21, n. 4, p. 219-224, Nov 15 2006. ISSN 1615-1615 (Print)1615-1615 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19890442>>.

KESSEL, D.; OLEINICK, N. L. Cell Death Pathways Associated with Photodynamic Therapy: An Update. **Photochem Photobiol**, v. 94, n. 2, p. 213-218, Mar 2018. ISSN 1751-1097 (Electronic)0031-8655 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29143339>>.

KIM, B. J. et al. Prognostic and predictive value of VHL gene alteration in renal cell carcinoma: a meta-analysis and review. **Oncotarget**, v. 8, n. 8, p. 13979-13985, Feb 21 2017. ISSN 1949-2553 (Electronic)1949-2553 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28103578>>.

KIM, I. et al. The Relationship between the Occupational Exposure of Trichloroethylene and Kidney Cancer. **Ann Occup Environ Med**, v. 26, p. 12, 2014. ISSN 2052-4374 (Print)2052-4374 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24955246>>.

KROEZE, S. G. et al. Photodynamic therapy as novel nephron sparing treatment option for small renal masses. **J Urol**, v. 187, n. 1, p. 289-295, Jan 2012. ISSN 1527-3792 (Electronic) 0022-5347 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22099991>>.

LEW, J. Q. et al. Alcohol consumption and risk of renal cell cancer: the NIH-AARP diet and health study. **Br J Cancer**, v. 104, n. 3, p. 537-541, Feb 1 2011. ISSN 1532-1827 (Electronic) 0007-0920 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21245859>>.

LI, D. X. et al. Inhibitory effect of berberine on human skin squamous cell carcinoma A431 cells. **Genet Mol Res**, v. 14, n. 3, p. 10553-10568, Sep 8 2015. ISSN 1676-5680 (Electronic) 1676-5680 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26400287>>.

LI, Z. et al. Genetic mutations associated with metastatic clear cell renal cell carcinoma. **Oncotarget**, v. 7, n. 13, p. 16172-16179, Mar 29 2016. ISSN 1949-2553 (Electronic)1949-2553 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26908440>>.

LJUNGBERG, B. et al. EAU guidelines on renal cell carcinoma: 2014 update. **Eur Urol**, v. 67, n. 5, p. 913-924, May 2015. ISSN 1873-7560 (Electronic)0302-2838 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25616710>>.

LODISH, H. *et al.* Molecular Cell Biology, 4, ed. Ed. W. H. Freeman, Nova Iorque, 2000.

LOPEZ-BELTRAN, A. *et al.* 2009 update on the classification of renal epithelial tumors in adults. **Int J Urol**, v. 16, n. 5, p. 432-443, May 2009. ISSN 1442-2042 (Electronic)0919-8172 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19453547>>.

LUCKY, S. S.; SOO, K. C.; ZHANG, Y. Nanoparticles in photodynamic therapy. **Chem Rev**, v. 115, n. 4, p. 1990-2042, Feb 25 2015. ISSN 1520-6890 (Electronic)0009-2665 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25602130>>.

LUIZA ANDREAZZA, N. *et al.* Berberine as a photosensitizing agent for antitumoral photodynamic therapy: Insights into its association to low density lipoproteins. **Int J Pharm**, v. 510, n. 1, p. 240-249, Aug 20 2016. ISSN 1873-3476 (Electronic)0378-5173 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27282536>>.

LUO, D. *et al.* Chemophototherapy: An Emerging Treatment Option for Solid Tumors. **Adv Sci (Weinh)**, v. 4, n. 1, p. 1600106, Jan 2017. ISSN 2198-3844 (Print)2198-3844 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28105389>>.

MAKHOV, P. *et al.* Resistance to Systemic Therapies in Clear Cell Renal Cell Carcinoma: Mechanisms and Management Strategies. **Mol Cancer Ther**, v. 17, n. 7, p. 1355-1364, Jul 2018. ISSN 1538-8514 (Electronic)1535-7163 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29967214>>.

MCGUIRE, B. B.; FITZPATRICK, J. M. BMI and the risk of renal cell carcinoma. **Curr Opin Urol**, v. 21, n. 5, p. 356-361, Sep 2011. ISSN 1473-6586 (Electronic)0963-0643 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21730854>>.

MONDAL, S. *et al.* Natural products: promising resources for cancer drug discovery. **Anticancer Agents Med Chem**, v. 12, n. 1, p. 49-75, Jan 2012. ISSN 1875-5992 (Electronic)1871-5206 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21707502>>.

MUGLIA, V. F.; PRANDO, A. Renal cell carcinoma: histological classification and correlation with imaging findings. **Radiol Bras**, v. 48, n. 3, p. 166-174, May-Jun 2015. ISSN 0100-3984 (Print)0100-3984 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26185343>>.

MULLER, P. J.; WILSON, B. C. Photodynamic therapy of brain tumors--a work in progress. **Lasers Surg Med**, v. 38, n. 5, p. 384-389, Jun 2006. ISSN 0196-8092 (Print)0196-8092 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16788926>>.

NAIDOO, C.; KRUGER, C. A.; ABRAHAMSE, H. Photodynamic Therapy for Metastatic Melanoma Treatment: A Review. **Technol Cancer Res Treat**, v. 17, p. 1533033818791795, Jan 1 2018. ISSN 1533-0338 (Electronic)1533-0338 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30099929>>.

NG, C. S. *et al.* Renal cell carcinoma: diagnosis, staging, and surveillance. **AJR Am J Roentgenol**, v. 191, n. 4, p. 1220-1232, Oct 2008. ISSN 1546-3141 (Electronic)0361-803X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18806169>>.

NUNES, S. M.; SGUILLA, F. S.; TEDESCO, A. C. Photophysical studies of zinc phthalocyanine and chloroaluminum phthalocyanine incorporated into liposomes in the presence of additives. **Braz J Med Biol Res**, v. 37, n. 2, p. 273-284, Feb 2004. ISSN 0100-879X (Print)0100-879X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14762584>>.

ONCOGUIA. Instituto Oncoguia. Estatística para câncer de rim. Disponível em <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/estatistica-para-cancer-de-rim/6844/239/>. Acesso em 09 jan. 2019.

ORTIZ, L. M. et al. Berberine, an epiphany against cancer. **Molecules**, v. 19, n. 8, p. 12349-12367, Aug 15 2014. ISSN 1420-3049 (Electronic)1420-3049 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25153862>>.

PARK, G. B. et al. Berberine induces mitochondrial apoptosis of EBV-transformed B cells through p53-mediated regulation of XAF1 and GADD45alpha. **Int J Oncol**, v. 49, n. 1, p. 411-421, Jul 2016. ISSN 1791-2423 (Electronic)1019-6439 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27121748>>.

PARK, S. H. et al. Berberine induces apoptosis via ROS generation in PANC-1 and MIA-PaCa2 pancreatic cell lines. **Braz J Med Biol Res**, v. 48, n. 2, p. 111-119, Feb 2015. ISSN 1414-431X (Electronic)0100-879X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25517919>>.

PARK, Y. K.; PARK, C. H. Clinical efficacy of photodynamic therapy. **Obstet Gynecol Sci**, v. 59, n. 6, p. 479-488, Nov 2016. ISSN 2287-8572 (Print)2287-8572 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27896250>>.

PENG, P. L. et al. Synergistic tumor-killing effect of radiation and berberine combined treatment in lung cancer: the contribution of autophagic cell death. **Int J Radiat Oncol Biol Phys**, v. 70, n. 2, p. 529-542, Feb 1 2008. ISSN 0360-3016 (Print)0360-3016 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18207031>>.

PENTICUFF, J. C.; KYPRIANOU, N. Therapeutic challenges in renal cell carcinoma. **Am J Clin Exp Urol**, v. 3, n. 2, p. 77-90, 2015. ISSN 2330-1910 (Print)2330-1910 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26309897>>.

PEREIRA, S. Photodynamic therapy for pancreatic and biliary tract cancer: the United Kingdom experience. **J Natl Compr Canc Netw**, v. 10 Suppl 2, p. S48-51, Oct 1 2012. ISSN 1540-1413 (Electronic)1540-1405 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23055216>>.

PERERA, M. et al. An update on focal therapy for prostate cancer. **Nat Rev Urol**, v. 13, n. 11, p. 641-653, Nov 2016. ISSN 1759-4820 (Electronic)1759-4812 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27670618>>.

PHILOGENE, B. J. et al. Berberine: A naturally occurring phototoxic alkaloid. **J Chem Ecol**, v. 10, n. 1, p. 115-123, Jan 1984. ISSN 0098-0331 (Print)0098-0331 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24318233>>.

PIERPAOLI, E. et al. Antiangiogenic and antitumor activities of berberine derivative NAX014 compound in a transgenic murine model of HER2/neu-positive mammary carcinoma. **Carcinogenesis**, v. 36, n. 10, p. 1169-1179, Oct 2015. ISSN 1460-2180 (Electronic)0143-3334 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26168818>>.

RINI, B. I.; CAMPBELL, S. C.; ESCUDIER, B. Renal cell carcinoma. **Lancet**, v. 373, n. 9669, p. 1119-1132, Mar 28 2009. ISSN 1474-547X (Electronic)0140-6736 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19269025>>.

SENGUPTA, P. et al. Evaluation of Apoptosis and Autophagy Inducing Potential of Berberis aristata, Azadirachta indica, and Their Synergistic Combinations in Parental and Resistant Human Osteosarcoma Cells. **Front Oncol**, v. 7, p. 296, 2017. ISSN 2234-943X (Print)2234-943X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29312880>>.

SHANMUGAM, M. K. et al. Potential Role of Natural Compounds as Anti-Angiogenic Agents in Cancer. **Curr Vasc Pharmacol**, v. 15, n. 6, p. 503-519, 2017. ISSN 1875-6212 (Electronic)1570-1611 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28707601>>.

SHI, S. et al. Reactive Oxygen Species-Responsive Nanoparticles Based on PEGlated Prodrug for Targeted Treatment of Oral Tongue Squamous Cell Carcinoma by Combining Photodynamic Therapy and Chemotherapy. **ACS Appl Mater Interfaces**, v. 10, n. 35, p. 29260-29272, Sep 5 2018. ISSN 1944-8252 (Electronic)1944-8244 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30106279>>.

SHIRASU, N.; NAM, S. O.; KUROKI, M. Tumor-targeted photodynamic therapy. **Anticancer Res**, v. 33, n. 7, p. 2823-2831, Jul 2013. ISSN 1791-7530 (Electronic)0250-7005 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23780966>>.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2016. **CA Cancer J Clin**, v. 66, n. 1, p. 7-30, Jan-Feb 2016. ISSN 1542-4863 (Electronic)0007-9235 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26742998>>.

SIMONE, C. B., 2ND; CENGEL, K. A. Photodynamic therapy for lung cancer and malignant pleural mesothelioma. **Semin Oncol**, v. 41, n. 6, p. 820-830, Dec 2014. ISSN 1532-8708 (Electronic)0093-7754 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25499640>>.

SOBOLEV, A. S.; ROZENKRANTS, A. A.; GILIAZOVA, D. G. [Approaches to the targeted intracellular delivery of photosensitizers in order to enhance their efficacy and cell specificity]. **Biofizika**, v. 49, n. 2, p. 351-379, Mar-Apr 2004. ISSN 0006-3029 (Print)0006-3029 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15129633>>.

SONG, D. Y. et al. Alcohol intake and renal cell cancer risk: a meta-analysis. **Br J Cancer**, v. 106, n. 11, p. 1881-1890, May 22 2012. ISSN 1532-1827 (Electronic)0007-0920 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22516951>>.

SONG, Y. C. et al. Berberine regulates melanin synthesis by activating PI3K/AKT, ERK and GSK3beta in B16F10 melanoma cells. **Int J Mol Med**, v. 35, n. 4, p. 1011-1016, Apr 2015.



ISSN 1791-244X (Electronic)1107-3756 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25716948>>.

STOJANOVIC, M.; GOLDNER, B.; IVKOVIC, D. Renal cell carcinoma and arterial hypertension. **Clin Exp Nephrol**, v. 13, n. 4, p. 295-299, Aug 2009. ISSN 1437-7799 (Electronic)1342-1751 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19184271>>.

SUN, Y. et al. A systematic review of the anticancer properties of berberine, a natural product from Chinese herbs. **Anticancer Drugs**, v. 20, n. 9, p. 757-769, Oct 2009. ISSN 1473-5741 (Electronic)0959-4973 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19704371>>.

TAKASAKI, A. A. et al. Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases. **Periodontol 2000**, v. 51, p. 109-140, 2009. ISSN 1600-0757 (Electronic)0906-6713 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19878472>>.

TANEJA, K.; WILLIAMSON, S. R. Updates in Pathologic Staging and Histologic Grading of Renal Cell Carcinoma. **Surg Pathol Clin**, v. 11, n. 4, p. 797-812, Dec 2018. ISSN 1875-9157 (Electronic)1875-9157 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30447842>>.

THOMPSON & THOMPSON. Genética e câncer. *In*: Genética Médica. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2002.

TSANG, C. M. et al. Berberine suppresses Id-1 expression and inhibits the growth and development of lung metastases in hepatocellular carcinoma. **Biochim Biophys Acta**, v. 1852, n. 3, p. 541-551, Mar 2015. ISSN 0006-3002 (Print)0006-3002 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25496992>>.

TSIVIAN, M. et al. Cigarette smoking is associated with advanced renal cell carcinoma. **J Clin Oncol**, v. 29, n. 15, p. 2027-2031, May 20 2011. ISSN 1527-7755 (Electronic)0732-183X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21502558>>.

VERA-BADILLO, F. E.; CONDE, E.; DURAN, I. Chromophobe renal cell carcinoma: a review of an uncommon entity. **Int J Urol**, v. 19, n. 10, p. 894-900, Oct 2012. ISSN 1442-2042 (Electronic)0919-8172 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22715810>>.

WANG, N. et al. Berberine and Coptidis Rhizoma as potential anticancer agents: Recent updates and future perspectives. **J Ethnopharmacol**, v. 176, p. 35-48, Dec 24 2015. ISSN 1872-7573 (Electronic)0378-8741 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26494507>>.

WCRFI. World Cancer Research Fund International. Disponível em [www.wcrf.org](http://www.wcrf.org). Acesso em: 09 jan. 2018.

WHO. World Health Organization. Disponível em [www.who.int/cancer/en/](http://www.who.int/cancer/en/). Acesso em: 04 jan. 2018.

WILSON, K. M.; CHO, E. Obesity and Kidney Cancer. **Recent Results Cancer Res**, v. 208, p. 81-93, 2016. ISSN 0080-0015 (Print)0080-0015 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27909903>>.

WISHART, D. S. et al. HMDB 3.0--The Human Metabolome Database in 2013. **Nucleic Acids Res**, v. 41, n. Database issue, p. D801-807, Jan 2013. ISSN 1362-4962 (Electronic)0305-1048 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23161693>>.

YAN, L. et al. Berberine inhibits the migration and invasion of T24 bladder cancer cells via reducing the expression of heparanase. **Tumour Biol**, v. 34, n. 1, p. 215-221, Feb 2013. ISSN 1423-0380 (Electronic)1010-4283 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23065570>>.

ZHAO, A. et al. Serum miR-210 as a novel biomarker for molecular diagnosis of clear cell renal cell carcinoma. **Exp Mol Pathol**, v. 94, n. 1, p. 115-120, Feb 2013. ISSN 1096-0945 (Electronic)0014-4800 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23064048>>.

ZOU, K. et al. Advances in the study of berberine and its derivatives: a focus on anti-inflammatory and anti-tumor effects in the digestive system. **Acta Pharmacol Sin**, v. 38, n. 2, p. 157-167, Feb 2017. ISSN 1745-7254 (Electronic)1671-4083 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27917872>>.