

POTENCIAL ANTIPROLIFERATIVOS DO MONOFOSFOESTER FOSFOETANOLAMINA EM CÉLULAS TUMORAIS DE CARCINOMA DE LÍNGUA HUMANA

Maria Eduarda Peres¹; Larissa Kim Higashi de Carvalho²; Manuela Garcia Laveli da Silva³; Durvanei Augusto Maria⁴; Lúcio Frigo⁵.

Estudante do Curso de Odontologia; e-mail: odontomariaeduarda@gmail.com¹

Mestre em Medicina; e-mail: larissahigashi@yahoo.com.br²

Doutorando em Ciências Médicas; e-mail: manulaveli@usp.br³

Professor da Universidade de São Paulo; e-mail: durvanei@usp.br⁴

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: luciofrigo@uol.com.br⁵

Área de conhecimento: Bioquímica de Macromoléculas

Palavras-chave: câncer bucal, fosfoetanolamina sintética, fosfolídeos, toxicidade.

INTRODUÇÃO

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (2017) estimou-se que em 2016, houve 15.490 novos casos de câncer oral, sendo 11.140 homens e 4.350 mulheres e em 2013 obteve-se a estimativa de 5.401 números de mortes, sendo 4.223 homens e 1.178 mulheres. Os fatores de risco relacionados para a proliferação do câncer bucal estão inclusos ao meio ambiente em que o indivíduo se encontra o tabagismo, o consumo de álcool e a radiação solar excessiva podem ser considerados. É válido ressaltar que a intensidade e a durabilidade das práticas listadas acima contribuem para o risco de desenvolvimento do câncer bucal (HIROTA et al. 2008; GILLISON, 2007). O câncer bucal desenvolve-se através de inúmeros desequilíbrios celulares que afetam diretamente os genes chaves e suas vias de sinalizações, entretanto os mecanismos moleculares envolvidos tanto na patogenia quanto na progressão não foram totalmente determinados, sendo assim o estágio diagnosticado da doença contribui para o seu tratamento, demonstrando que a taxa de sobrevivência de 5 anos para cânceres no estágio I é de quase 80%, enquanto que para os cânceres em estágio IV essa taxa diminui para quase 20% (RIBEIRO et al., 2016). É sabido da existência de lesões cancerizáveis, como as eritroplasias, leucoplasias, a queilite actínica, o líquen plano (tipo erosivo) e a fibrose submucosa, que podem progredir ou não para um tumor de maligno (MESSADI, 2013). Os tratamentos para o câncer de cabeça e pescoço demonstram enorme desafio, visto que estruturas críticas podem ser danificadas pelo tumor ou pelo próprio tratamento, ressaltando que as sequelas estéticas, funcionais e ainda estruturais podem trazer grande impacto na vida social do paciente quanto na sua reabilitação, dando observância que a decisão para o melhor tratamento deve ser baseada na probabilidade de cura e na qualidade de vida pós-tratamento (RATHOD et al., 2015). Como uma alternativa de possível tratamento, os experimentos realizados com a fosfoetanolamina sintética (Pho-s) em nosso grupo de estudos demonstraram que a Pho-S apresenta seletividade e especificidade inibindo a proliferação e disseminação de células tumorais. As moléculas de fosfolídeos e fosfoetanolamina são produzidas pela esterificação entre o ácido fosfórico e a etanolamina (2-aminoetanol). Apresentam possíveis ações no organismo, a participação de vias de sinalização para macrófagos, o transporte de ácido graxo para as mitocôndrias, a síntese de substratos intermediários do metabolismo, etapas da regulação do metabolismo celular, tal como o metabolismo mitocondrial, a síntese de

acetilcolina e síntese hormonal da divisão celular (DIAS, 2017). Estudos demonstraram as vantagens com o tratamento da Pho-s sendo a taxa de sobrevivência evidenciada nos animais tratados, a regressão do volume tumoral e ainda a especificidade e seletividade apresentada pela Pho-s inibindo a proliferação de células tumorais e sua disseminação, observada pelo aumento do apoptose através da via mitocondrial.

OBJETIVOS

Avaliar os efeitos citotóxicos pela Pho-s em células tumorais de câncer oral (SCC-9 e SCC-25).

METODOLOGIA

A viabilidade celular foi avaliada pelo teste colorimétrico do MTT. As células foram plaqueadas em quadruplicata na densidade de 10^4 células, em placas de 96 poços e cultivadas por 24 horas em estufa contendo 5% de CO_2 a 37°C . Após o período de incubação as células foram tratadas durante 24 e 48 horas com Pho-s nas concentrações de 10 a 100 mM e tratadas por 72 horas com Pho-s nas concentrações de 2 a 100 mM. Nas placas tratadas foram adicionadas solução de MTT (5mg/ml) e em seguida incubadas por 3 horas à 37°C . Após este período, o meio foi removido e acrescentado 150 μL de metanol para dissolver os cristais de formazan. A quantificação da absorbância foi realizada em leitor de ELISA com comprimento de onda de 540nm, para a determinação da concentração inibitória ($\text{IC}_{50\%}$). Os dados foram normalizados em relação ao grupo controle e calculada a equação da reta considerando-se o valor da concentração molar na função logarítmica ($\log[x]$ mM).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que após 24 horas de tratamento a Pho-s, induz citotoxicidade significativa nas células tumorais SCC-9 a partir de 30 mM, tendo a $\text{IC}_{50\%}$ calculada de 82,7mM (R^2 0,8567), já a viabilidade das células tumorais SCC-25 é reduzida significativamente a partir de 60 mM e a $\text{IC}_{50\%}$ calculada de 79,2 mM (R^2 0,9168). A $\text{IC}_{50\%}$ de ambas as linhagens celulares diminuíram conforme o tempo de tratamento aumentou para 48 e 72 horas. Após 48 horas a $\text{IC}_{50\%}$ foi de 34,7 mM (R^2 0,9423) nas células tumorais SCC-9 e 35,7 mM (R^2 0,9792) nas células tumorais SCC-25. O tratamento de 72 horas obteve $\text{IC}_{50\%}$ de 3,8 mM (R^2 0,5874) (Figura 3 A) e 8,3 mM (R^2 0,7964) (Figura 3 B) nas células SCC-9 e SCC-25, respectivamente. Demonstrando o seu potencial citotóxico em função do tempo de tratamento. A Pho-s, um fosfomonoéster estruturalmente representa somente a região da cabeça dos fosfolípidios antineoplásicos, em induzir morte por apoptose em diferentes células tumorais, melanoma B16F10 e adenocarcinoma de mama MCF-7 (FERREIRA et al., 2012). Na literatura não há nenhum estudo utilizando a Pho-s nas linhagens celulares SCC-9 e SCC-25. Os resultados indicam que a PHO-S promove efeitos antitumorais nos diferentes períodos de tratamento, entretanto, o nível de sensibilidade foi diferente em função do tempo de tratamento com Pho-s, as células tumorais SCC-9 se mostrou mais resistente ao tratamento após 24 horas em relação à linhagem SCC-25, no entanto, nos demais períodos de tempo avaliados, as células SCC-25 passaram a ter comportamento de maior resistência. É importante ressaltar que a Pho-s demonstrou eficácia em induzir efeitos antiproliferativos nas células SCC-9 e SCC-25 em concentrações molares significativamente menores que as concentrações utilizadas para o tratamento de outras linhagens de células tumorais humanas, o que torna um possível fármaco para o tratamento para os tumores de cavidade oral associado às terapias convencionais.

CONCLUSÕES

Nas linhagens celulares de carcinoma espinocelular de língua SCC-9 e SCC-25 a fosfoetanolamina sintética - Pho-s apresentou efeito citotóxico em função do tempo de tratamento nos períodos de 24, 48 e 72 horas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DIAS, D.L. **Propriedades da fosfoetanolamina.** Disponível em: <http://mundoeducacao.bol.uol.com.br/química/propriedades-fosfoetanolamina.htm>
Acesso em: 12/06/2017.

FERREIRA, A.K., MENEGUELO, R., PEREIRA, A., FILHO, O.M.R., CHIÉRICE, G.O., MARIA, D.A. **Anticancer effects of synthetic phosphoethanolamine on ehrlich ascites tumor: an experimental study.** *Anticancer research.* 32(1): 95-104, 2012.

GILLISON M.L. **Current Topics in the Epidemiology of Oral Cavity and Oropharyngeal Cancers.** *Epidemiology of Oral and Oropharyngeal Cancers* 779-792, 2007.

HIROTA S.K. et al. **Risk factors for oral squamous cell carcinoma in young and older Brazilian patients: A comparative analysis.** *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 13(4):E227-31, 2008.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Estimativas 2016: Incidência de Câncer no Brasil.** Rio de Janeiro: INCA, 2017. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322. Acesso em 10/06/2017.

JU AHNA M. et al. **Clinical recommendations for defining platinum unsuitable head and neck cancer patient populations on chemoradiotherapy: A literature review.** *Oral Oncology* 53:10–16, 2016.

MESSADI D.V. **Diagnostic aids for detection of oral precancerous conditions.** *International Journal of Oral Science.* 5, 59–65, 2013.

RATHOD S. et al. **A systematic review of quality of life in head and neck cancer treated with surgery with or without adjuvant treatment.** *Oral Oncology* 51 888–900, 2015.

RIBEIRO I.P. et al. **Early detection and personalized treatment in oral cancer: the impact of omics approaches.** *Molecular Cytogenetics* 9:85, 2016.

Agradecimentos: FAPESP- 2014/02344-1 e 2015/00547-5 e CNPq 306124/2015-7