

Efeitos antiproliferativo do flavonóide CS1640 em associação ao monofosfoester 2-AEH2F em células de melanoma.

Silva MHC^{1, 2}; Chammas SM²; Giovannini LA²; Rabelo DC²; Maria DA².
¹ Universidade Nove de Julho, Departamento da Saúde III. Curso de Medicina, Capus Osasco, Brasil.
² Laboratório de Desenvolvimento e Inovação Industrial. Instituto Butantan, São Paulo, Brasil.

Órgãos de fomento : Conselho Nacional de Desenvolvimento científico e tecnológico (CNPQ) ; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

CNPq: 437845/2016-8 / 150190/2017-4

CAPES: 88887.357208/2019-00

Introdução

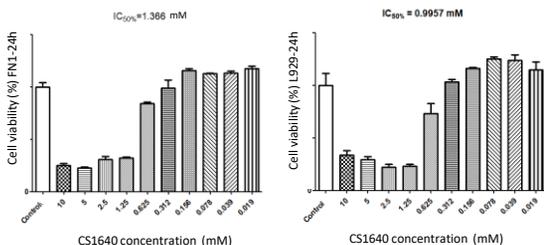
O quimioterápico dacarbazina normalmente utilizado para o tratamento do melanoma metastático produz baixa resposta terapêutica, nesse sentido, novos estudos e novas formulações são necessárias para melhorar a qualidade de vida desses pacientes e aumentar a expectativa de cura. O composto flavonóide CS1640 tem apresentado efeitos importantes in vitro no controle da proliferação de células de melanoma.

Casuística e Métodos

O desenvolvimento do presente trabalho foi elaborado com células tumorais e normais mantidas em cultura para avaliação da atividade antiproliferativa e de citotoxicidade in vitro. Foram utilizadas as linhagens tumorais melanoma humano SKMEL -28, murino B16F10, células de linhagem de fibroblastos normais humanos FN-1 e murino L929, cultivadas em meio de cultura RPMI-1640 suplementada com 10% de soro fetal bovino e antibióticos, à 37C e 5% de CO₂. O composto flavonóide CS1640 foi obtido por extração super crítica e o monofosfoester 2-AEH2F por esterificação, analisados por HPLC MS/MS, diluídos em solução salina. Os experimentos de verificação da viabilidade celular, obtenção dos valores de IC₅₀% foi utilizado o teste colorimétrico do MTT e as modificações da distribuição da população celular nas fases do ciclo celular, potencial elétrico mitocondrial por citometria de fluxo. Análises das alterações morfológicas foram realizadas por microscopia de campo claro.

Resultados

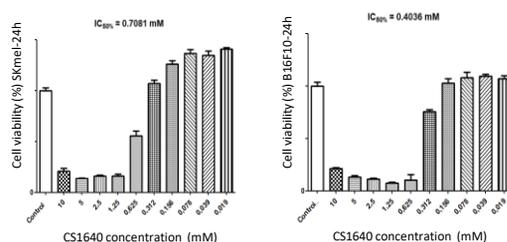
Ensaio de viabilidade celular em fibroblastos normais



Determinação da citotoxicidade em células fibroblastos normais, sendo em **A**: FN1, fibroblastos de origem humana e em **B**: L929, fibroblastos murino. Foram tratadas com Artepelin C em placas de 96 poços no método de diluição seriada variando de 10 a 0,019 mM. Após 24 horas do tratamento, procedeu-se o método colorimétrico MTT. Os gráficos mostram os efeitos citotóxicos expressos em média = DP , gerando o valor de IC 50%.

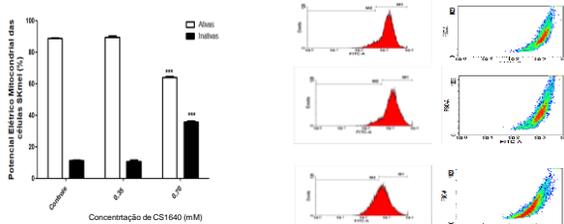
Resultados

Ensaio de viabilidade celular em linhagens tumorais de melanoma.

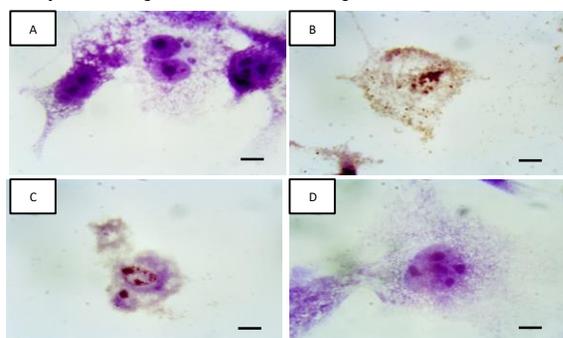


Determinação da citotoxicidade em células de melanoma, sendo em **A**: SKmel, melanoma de origem humana e em **B**: B16F10, melanoma murino. Foram tratadas com CS1640 em placas de 96 poços no método de diluição seriada variando de 10 a 0,019 mM. Após 24 horas do tratamento, procedeu-se o método colorimétrico MTT. Os gráficos mostram os efeitos citotóxicos expressos em média = DP , gerando o valor de IC 50%.

Avaliação do potencial elétrico mitocondrial ($\Delta\psi_m$) em linhagem de melanoma humano SKmel.



Avaliação morfológica em células de linhagem tumoral murino B16F10



Células B16F10 tratadas com CS1640, coloração: Giemsa. **A**- Controle; **B**-1,25mM; **C**-0,65mM; **D**-0,31mM; Barra: 10µm. Fotomicrografia 1200x em imersão, microscópio Zeiss Universal. Nessa linhagem celular o IC₅₀% foi de 0,40 mM. Observar em **B** degradação do citoplasma e alteração na basofilia do processo de coloração; em **C** Observa-se uma modificação no conteúdo citoplasmático e basofilia nuclear; **D** célula em processo de regeneração.

Conclusões

As células fibroblastos normais tratadas com CS1640 apresentaram um valor de IC₅₀% significativo e seletivo em relação às células tumorais, isso significa que se tratarmos as células tumorais da linhagem murino B16F10 com 0,40 mM, as células fibroblastos normais murina, L929, teriam menores efeitos colaterais, por terem apresentado um valor de IC₅₀% de 0,99 mM, quando comparadas com as células tumorais. O mesmo pode ser considerado para as células de melanoma humano, que apresentaram valor de IC₅₀% de 0,71 mM , um valor de concentração menor que a linhagem de fibroblastos humanos normais FN1, demonstrando serem mais resistentes ao tratamento com o composto CFS1640, gerando valor de IC₅₀% de 1,36mM. Essas achados podem reservar um potencial para a elaboração de estudos futuros, na possibilidade de avaliar os efeitos antitumorais do composto CS1640, bem como a avaliação da associação do CS1640 com o composto monofosfoester 2AEH₂F, e encontrar a concentração ideal para uma possível terapêutica em associação, pois, apesar do mecanismo de ação do CS1640 ainda não estar inteiramente desvendado, nossos estudos preliminares demonstraram efeitos antiproliferativos seletivos em células de melanoma.

Contato

Durvaney Augusto Maria : durvaney@usp.br

Murilo Henrique Correa da Silva : murilohsc@uni9.edu.br / murilohsc@uni9.edu.br

Sergio Mestieri Chammas : sm.chammas@usp.br