

EFEITOS DOS POLIFENÓIS HESPERIDINA E HESPERETINA EM LINHAGEM CELULAR TPC-1 DE CARCINOMA PAPILÍFERO DE TIREOIDE

MARIA LUÍZA RAITZ SIQUEIRA^{1,2}, MARIA JÚLIA PIGATTI DEGLI ESPOSTI³,
MARIELLE LANG MAKIYAMA⁴, MARCELO MORENO⁵, SARAH FRANCO
VIEIRA DE OLIVEIRA MACIEL^{2,6}

1 Introdução

O carcinoma de tireoide é uma neoplasia menos frequente que outros tipos de câncer, porém sua detecção tem aumentado. Sua taxa de mortalidade permanece estável, principalmente devido aos tipos celulares diferenciados, o que resulta em um prognóstico favorável. Contudo, em casos raros, essa neoplasia apresenta uma resistência às abordagens tradicionais, o que acarreta na necessidade de outras opções terapêuticas viáveis (SEIB e SOSA, 2018). Nesse sentido, fitoquímicos como a hesperidina e a hesperetina demonstraram propriedades anti-inflamatórias em pesquisas *in vitro* sobre potencial antineoplásico (GONÇALVES; DE FREITAS; FERREIRA, 2017). No entanto, nossos resultados do teste piloto com hesperidina não foram promissores o suficiente para justificar a continuação do estudo. O composto não mostrou um padrão consistente de resposta, alternando entre eliminação ocasional e a sobrevivência da linhagem de carcinoma, sem lógica aparente. Assim, a análise da atividade antitumoral foi feita a partir da cafeína, um alcaloide com benefícios medicinais que pode estar associado a uma redução do risco de certos tipos de cânceres (ABREU, 2014). Na literatura, há estudos em animais que mostraram resultados promissores na investigação da influência da cafeína na glândula tireoide (CLOZEL *et al.*, 1983).

¹Graduação em Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó, contato: siqueirarmalu@gmail.com

²Grupo de Pesquisa em Oncologia da Universidade Federal da Fronteira Sul

³Graduação em Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó.

⁴Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó

⁵Doutor em Ciências da Saúde, Professor da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó

⁶Doutora em Genética, Professora da Universidade Federal da Fronteira Sul, **Orientadora.**

2 Objetivos

O presente estudo teve como objetivo avaliar a ação antitumoral de diferentes concentrações de cafeína na linhagem de carcinoma papilífero de tireoide TPC-1 e em células controle - células mononucleares do sangue periférico (PBMCS).

3 Metodologia

Os ensaios ocorreram nos Laboratórios de Cultivo Celular, Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *Campus* Chapecó, SC. A linhagem celular TPC-1 foi obtida no banco de células do Rio de Janeiro. As PBMCS foram utilizadas para avaliar a citotoxicidade dos compostos em células não tumorais. A cafeína foi adquirida na Sigma-Aldrich e dissolvida em meio de cultura *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) para obter as concentrações de 0,5 mM; 1,0 mM; 2,0 mM; 4,0 mM e 8,0 mM, conforme descrito por Deplanque (2004). As células TPC-1 foram expostas à cafeína por 24 horas para os testes, que avaliaram a viabilidade celular, migração celular, atividade enzimática do sistema purinérgico e perfil de estresse oxidativo.

4 Resultados e Discussão

A cafeína mostrou diferentes efeitos nas células TPC-1. Na avaliação de estresse oxidativo, as células TPC-1 apresentaram aumento na quantidade de óxido nítrico (ON) em relação ao controle de maneira significativa apenas na exposição a 8 mM ($P=0,015$) (Figura 1A). Além disso, observou-se que, a partir da concentração de 2mM, houve aumento estatisticamente significativo no acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Figura 1B).

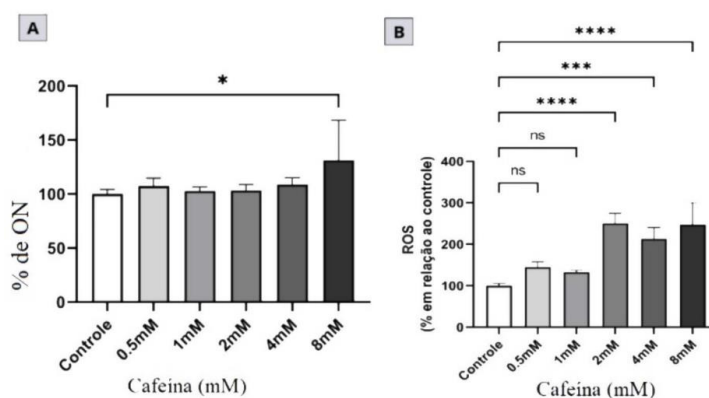


Figura 1 - Quantificação do ON (A) e quantificação de ROS (B) nas células TPC-1 após exposição com cafeína. *($P=0,015$); ***($P=0,0003$); ****($P<0,0001$). *NS - não significativo.

No teste de viabilidade celular do 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT), houve uma redução estatisticamente significativa na viabilidade das células TPC-1 (Figura 2A). As células PMBCS sob o mesmo tratamento não mostraram diferenças na viabilidade celular em relação ao controle (Figura 2B). Isso indica que, em todas as concentrações estudadas, a cafeína reduziu a viabilidade celular nas células TPC-1, sem afetar a viabilidade celular de células não tumorais.

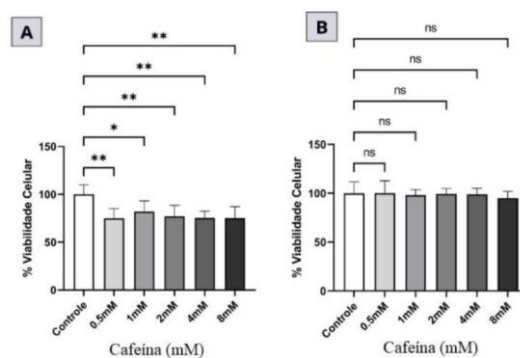


Figura 2 - MTT - Células TPC-1 (A) e PMBCS (B) expostas à cafeína. *($P=0,0271$); **($P=0,0016/0,0046/0,0018/0,0023$); *NS - Não significativo.

No teste de migração celular, as células TPC-1 não proliferaram de maneira estatisticamente significativa após exposição à cafeína, em todas as concentrações estudadas ($P<0,0001$). A Figura 3A mostra a análise microscópica do teste, com a 1ª linha representando o tempo inicial e a 2ª linha a reavaliação após 24h de tratamento. A Figura 3B apresenta a comparação numérica entre a migração celular no controle e nas células expostas.

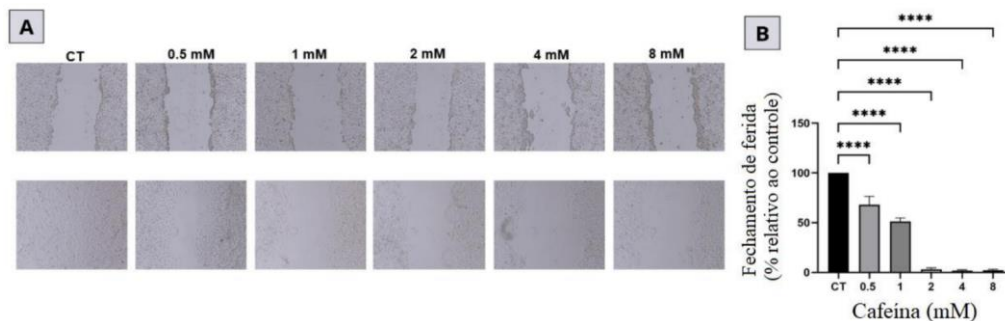


Figura 3 - Avaliação microscópica do teste de migração celular (A) e comparação de fechamento de ferida em micrômetros entre controle e células TPC-1 expostas à cafeína (B). ****($P<0,0001$).

No sistema purinérgico, a atividade da enzima ecto-5'-nucleotidase (E-5'-NT) foi

avaliada através da mensuração da hidrólise de AMP. Todas as concentrações estudadas mostraram redução estatisticamente significativa na atividade enzimática ($P=0,0005$ para 0,5 mM). A atividade da enzima E-NTPDase foi avaliada através da hidrólise da ATP e da ADP (Figura 4B/C). As células TPC-1 expostas às concentrações de 0,5 ($P=0,015$) e 2mM ($P=0,016$) apresentaram redução significativa de hidrólise de ATP (Figura 4B). Por fim, a atividade da ADA foi medida pela quantificação da desaminação da adenosina, e não foram observadas diferenças estatisticamente significativas em nenhuma das concentrações avaliadas.

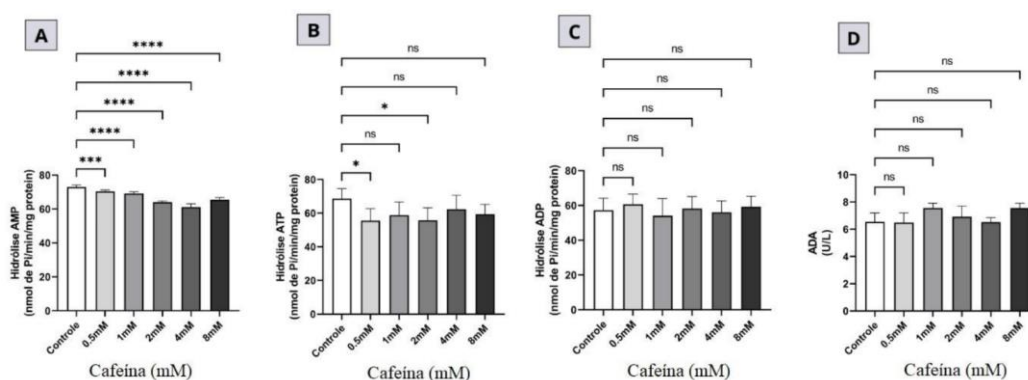


Figura 4 - Avaliação da atividade das enzimas E-5'-Nucleotidase(A), E-NTPDase (B/C) e ADA (D). *($P=0,015/0,016$); ***($P=0,0005$); ****($P<0,0001$). *NS - não significativo.

Após analisar a cafeína na linhagem celular TPC-1, surge a possibilidade de considerar seu papel como complemento no tratamento do carcinoma de tireoide resistente a tratamentos convencionais. No entanto, para se ter resultados significativos na prática clínica, seria preciso uma ingestão considerável de cafeína: 65 xícaras de 25 mL de café expresso ou 110 xícaras de 25 mL de café filtrado. Apesar de segura, esse consumo pode resultar em efeitos estimulantes no Sistema Nervoso Central (SNC). Além disso, é importante considerar que parte da substância pode não atingir a tireoide em uma concentração eficaz, devido à absorção pelo trato gastrointestinal e o processo de metabolização hepática. Estudos com liberação localizada de cafeína em doses maiores, usando nanopartículas, mostraram resultados encorajadores para sua aplicação terapêutica (ISMAIL *et al.*, 2021; QIU *et al.*, 2019; LICZBINSKI; BUKOWSKA, 2022; GROSSO *et al.*, 2017; HAN; KIM, 2017).

5 Conclusão

A análise dos resultados obtidos e da literatura atual indica que a cafeína, ao ser usada

no tratamento em células TPC-1, reduziu a viabilidade e migração celular, preservando células não neoplásicas em uma das análises realizadas. A cafeína aumentou a produção de ROS e ON, com redução da capacidade de defesas antioxidantes neoplásicas. Por fim, houve redução na atividade da enzima E-5'-NT, diminuindo a disponibilidade extracelular de adenosina. Portanto, há indícios de que a cafeína pode complementar tratamentos convencionais para o carcinoma de tireoide diferenciado. No entanto, são necessários estudos *in vivo* para maior elucidação dessa hipótese.

Referências Bibliográficas

ABREU, B. R. R. **Papel dos receptores P1 e da cafeína na proliferação de carcinoma de células escamosas de esôfago**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

CLOZEL, M. et al. Effect of caffeine on thyroid and pituitary function in newborn rats. **Pediatric Res.** 1983;17(7):592-5

GONÇALVES, C. F. L.; DE FREITAS, M. L.; FERREIRA, A. C. F. Flavonoids, Thyroid Iodide Uptake and Thyroid Cancer—A Review. **International Journal of Molecular Sciences.** 2017; 18(6): 1247.

GROSSO, G. et al. Coffee, Caffeine, and Health Outcomes: An Umbrella Review. **Annu Rev Nutr.** 2017;37: 131-156.

HAN, M.A., KIM, J.H. Coffee Consumption and the Risk of Thyroid Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Int J Environ Res Public Health.** 2017; 14(2): 129.

ISMAIL, T. et al. Coffee in cancer chemoprevention: an updated review. **Expert Opin Drug Metab Toxicol.** 2021;17(1): 69-85.

LICZBINSKI, P; BUKOWSKA, B. Tea and coffee polyphenols and their biological properties based on the latest in vitro investigations. **Ind Crops Prod.** 2022; 175:114265.

QIU, M. H. et al. The Sources and Mechanisms of Bioactive Ingredients in Coffee. **Food & Function.** 2019; 10(6).

SEIB, C. D.; SOSA, J. A. Evolving Understanding of the Epidemiology of Thyroid Cancer. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 48, n. 1, p. 23-35, 2019.

Palavras-chave: carcinoma diferenciado de tireoide, cafeína, sistema purinérgico, estresse oxidativo.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2022 - 0133

Financiamento: UFFS.