



Efeito antitumoral dos Sais Imidazólicos no carcinoma espinocelular oral

Luiza Deitos Menti¹, Marcelo Lazzaron Lamers^{1,2}

(1) Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

(2) Departamento de Ciências Morfológicas, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

luizadeitosmenti@hotmail.com; marcelo.lamers@ufrgs.br.

Introdução

O câncer oral é o quinto mais prevalente em homens no Brasil e é responsável por quase cinco mil mortes ao ano. Apesar disso, as terapias disponíveis não apresentam grandes taxas de sucesso e possuem diversos efeitos colaterais, devido à baixa seletividade. Os Sais Imidazólicos são compostos da classe dos líquidos iônicos, que vêm sendo estudados pela possibilidade de modificações na sua molécula, com adição de cátions e ânions, a fim de aprimorar sua aplicabilidade biológica. Os Sais Imidazólicos já foram testados como coadjuvantes na terapia antifúngica e também apresentou efeito em diversos tipos de tumores. Frente a isso, o objetivo desse estudo foi analisar o potencial efeito antitumoral dos Sais Imidazólicos no carcinoma espinocelular oral.

Metodologia

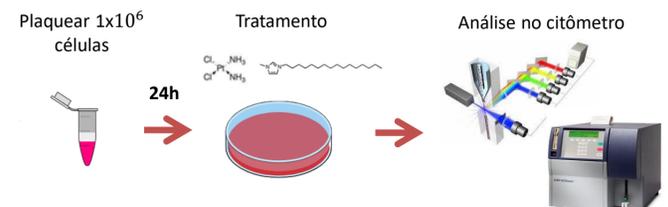
Ensaio de proliferação



Ensaio de esferoides



Citometria de fluxo



Resultados

1. Diferentes formulações dos Sais Imidazólicos alteram o comportamento das células tumorais em culturas 2D e 3D

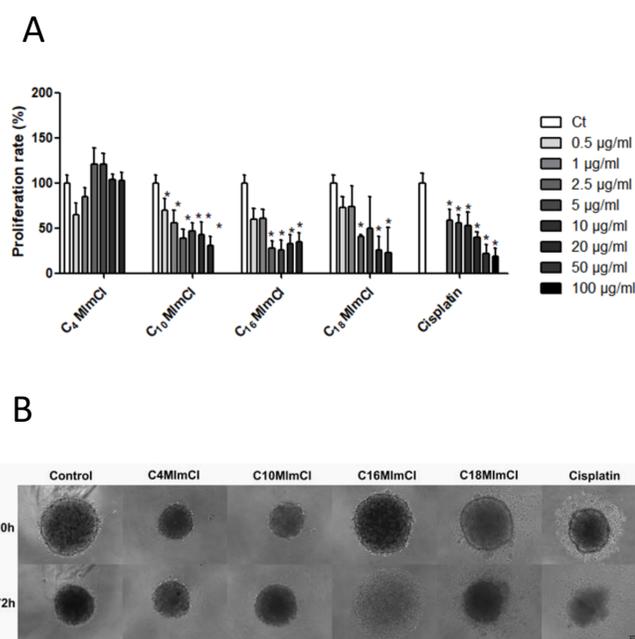


Fig 1. Ensaio de proliferação celular e ensaio de esferoides. A) Comparação do tamanho da cadeia carbônica em linhagem tumoral de boca (CAL27) demonstrou maior efeito do Sal Imidazólico com 16 carbonos em sua molécula, mesmo se comparado à Cisplatina, atual padrão-ouro. B) O ensaio tridimensional de esferoides demonstrou perda de adesão entre as células.

2. C₁₆MImCl modifica o comportamento de diferentes linhagens de carcinoma espinocelular

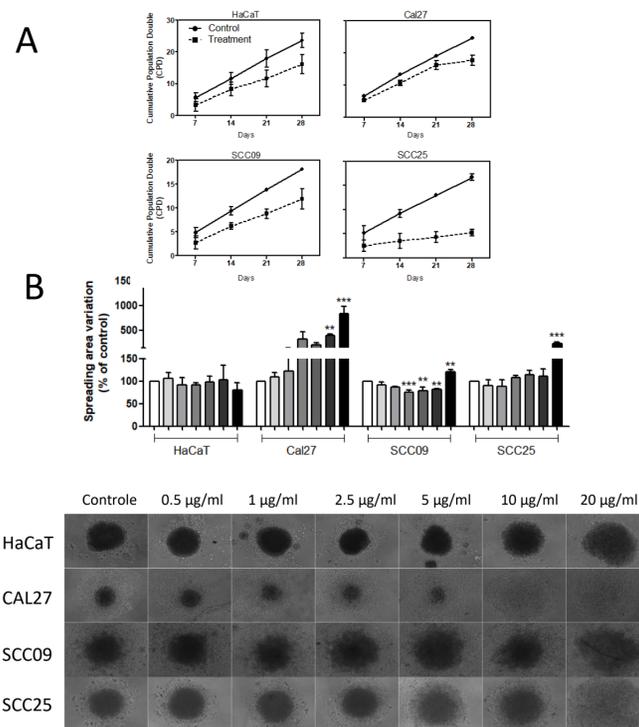


Fig 2. Cumulative population double e ensaio de esferoides em diferentes linhagens tumorais e em HaCaT (queratinócitos normais). A) Diminuição na proliferação das células tumorais, quando realizado tratamento crônico de 28 dias com C₁₆MImCl. B) Ensaio tridimensional demonstra maiores efeitos desse composto nas esferas tumorais após 72h de tratamento e pouco efeito em células normais, indicando sua seletividade.

3. C₁₆MImCl apresenta seletividade à células de carcinoma espinocelular oral

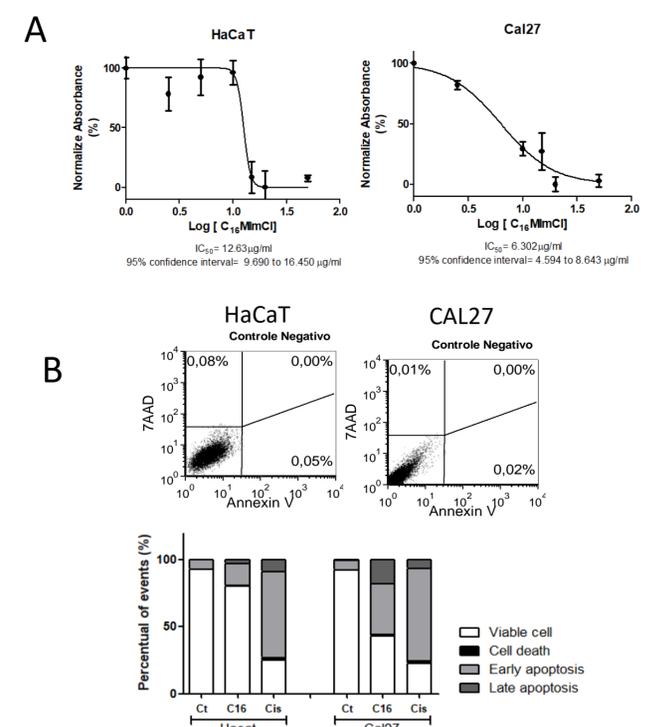


Fig. 3. IC50 e citometria de fluxo para análise de apoptose em células tratadas com C₁₆MImCl. A) Determinação do IC50 do Sal Imidazólico para linhagem tumoral e normal, CAL27 e HaCaT, 5 e 10 µg/ml, respectivamente. B) C₁₆MImCl induz apoptose nas células tumorais e demonstra maior viabilidade celular em queratinócitos, se comparado à Cisplatina.

Resumo

Os líquidos iônicos possuem propriedades que podem ser ajustadas pelas combinações entre cátions e ânions e dessa forma melhorar a atividade biológica deles. Os sais imidazólicos, parte da classe de compostos denominados líquidos iônicos, possuem um anel imidazólico em sua molécula. Já foi demonstrado na literatura o potencial antifúngico e antitumoral dessa classe de compostos. Em vista disso, o objetivo desse trabalho é analisar o potencial efeito antitumoral dos sais imidazólicos no câncer de boca. Para isso, uma linhagem de queratinócitos normais (HaCaT) e uma linhagem de carcinoma espinocelular oral (CAL27) foram tratadas com doses crescentes (0,5, 1, 2, 5, 10 e 20 µg/ml) de diferentes formulações desses compostos e submetidas a ensaios de proliferação (bidimensional) e formação de esferas (tridimensional). Observou-se que uma cadeia molecular curta não afeta proliferação celular e a adesão nessas linhagens, enquanto que uma cadeia C lateral mais longa demonstra diminuição da proliferação celular e redução na coesão do esferoide, inclusive quando comparada à Cisplatina – que é o quimioterápico padrão ouro para tratamento do câncer de cabeça e pescoço. Como foram observadas alterações nas células tumorais com o composto C16 (cadeia molecular mais longa), foram testadas outras alterações desse composto, podendo observar que C16MImCl demonstrou melhor efeito em ensaios 2D e 3D quando comparado com outras variações de C16. Após isso, foram analisados os efeitos do Sal Imidazólico C16MImCl sobre a área dos esferoides e, nas células tumorais, foi observado um aumento na sua área, indicando perda de adesão entre essas células, enquanto nas células normais, esse efeito foi pequeno. Por fim, foi avaliado pelo ensaio de citometria de fluxo, o efeito de C16MImCl e de Cisplatin na apoptose e necrose celular. Observou-se um aumento no número de células apoptóticas e necróticas na linhagem celular tumoral e um pequeno aumento nas células normais, demonstrando a seletividade desse Sal Imidazólico pelas células tumorais quando comparado com Cisplatin. Esses dados indicam o efeito promissor do Sal Imidazólico C16MImCl no tratamento do carcinoma espinocelular oral com a característica seletiva para as células cancerígenas e baixa toxicidade para células normais.

Conclusões

- Compostos sintetizados com maior comprimento da cadeia, 16 carbonos, demonstraram redução na proliferação celular de CAL27.
- C₁₆MImCl exibiu efeitos em ensaio tridimensional de esferoides, reduzindo a adesão célula-célula, principalmente nas linhagens mais agressivas de carcinoma espinocelular oral (OSCC). E ainda demonstrou efeito menos pronunciado na linhagem de queratinócitos normais (HaCaT).
- O Sal Imidazólico, C₁₆MImCl, induziu apoptose em OSCC e demonstrou superior taxa de células normais viáveis quando comparado a Cisplatin, sugerindo seletividade para células tumorais.

Referências

1. DEBORD, M. A. et al. Synthesis, characterization, in vitro SAR and in vivo evaluation of N,N'-bisnaphthylmethyl 2-alkyl substituted imidazolium salts against NSCLC. *Bioorg Med Chem Lett*, v. 27, n. 4, p. 764-775, Feb 15 2017. ISSN 0960-894x.
2. FRIEDRICH, J. et al. Spheroid-based drug screen: considerations and practical approach. *Nat Protoc*, v. 4, n. 3, p. 309-24, 2009. ISSN 1750-2799.
3. GRAVEL, J.; SCHMITZER, A. R. Imidazolium and benzimidazolium-containing compounds: from simple toxic salts to highly bioactive drugs. *Org Biomol Chem*, v. 15, n. 5, p. 1051-1071, Feb 1 2017. ISSN 1477-0520.

Agências de fomento