

ATIVIDADE ANTITUMORAL DA TERAPIA FOTODINÂMICA COM NANOPARTÍCULAS DE FTALOCIANINA DE ALUMÍNIO-CLORO FRENTE AO CÂNCER CERVICAL

Izabele Marini Couto (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Bruno Valeze, Wilker Caetano, Lucimara Rodrigues Carobeli (Coorientadora), Marcia Edilaine Lopes Consolaro (Orientadora). E-mail: ra129503@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Farmácia - Análise Toxicológica

Palavras-chave: Terapia fotodinâmica; câncer cervical; nanopartículas.

RESUMO

O câncer cervical, o terceiro mais comum entre mulheres no Brasil, é majoritariamente causado pela infecção por HPV. Apesar das vacinas profiláticas e tratamentos tradicionais, novas abordagens são necessárias devido às limitações dos tratamentos convencionais. Sob essa perspectiva, a terapia fotodinâmica (TFD) com ftalocianinas surge como uma alternativa promissora. Neste estudo avaliamos a TFD utilizando a ftalocianina de alumínio-cloro nanoencapsulada em plurônico F-127 (AIPcCl/F-127) em células de carcinoma cervical. Os resultados mostraram redução na viabilidade celular e alterações na morfologia tumoral, indicando o potencial da combinação para o tratamento do câncer cervical e evidenciando a necessidade da continuidade dos estudos.

INTRODUÇÃO

O câncer cervical é o terceiro mais frequente entre as mulheres no Brasil (INCA. 2023). Sua principal causa é a infecção pelos tipos de alto risco oncogênico de *Papillomavirus* humano (HPV) (Okunade. 2020). Embora o HPV seja prevenível com vacinas, outros fatores como imunidade baixa, tabagismo e múltiplos parceiros sexuais contribuem para a ocorrência do câncer cervical, para a qual os tratamentos tradicionais são muitas vezes falhos. Nesse contexto, a terapia fotodinâmica (TFD) surge como uma alternativa promissora, utilizando agentes fotossensibilizadores e a exposição à luz em comprimento de onda adequado para induzir à morte das células tumorais, preservando as células saudáveis. Nessa perspectiva, as ftalocianinas têm demonstrado-se eficazes, mas apresentam desafios de solubilidade pelo seu caráter hidrofóbico, que prejudicam sua eficiência, necessitando de sistemas de entrega para melhorar sua ação terapêutica (Carobeli *et al.* 2021). Diante disso, sistemas de nanopartículas podem encapsular essas moléculas, protegendo-as de agregações, aumentando sua solubilidade e facilitando sua distribuição no organismo. Nesse

trabalho, avaliamos a atividade antitumoral da terapia fotodinâmica utilizando a ftalocianina de alumínio-cloro nanoencapsulada em plurônico F-127 (AIPcCl/F-127) frente a linhagem celular derivada de carcinoma de células escamosas cervicais humanas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Linhagem celular

Utilizamos para este estudo a linhagem celular SiHa, que possui 1 a 2 cópias de HPV 16 integradas ao genoma de cada célula e é originada de um carcinoma de células escamosas cervicais humano. As culturas foram mantidas em Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino e 0,5 U/ml de penicilina/estreptomicina, e incubadas em estufa a 37 °C com 5% de CO₂.

Citotoxicidade e fototoxicidade

As células SiHa ($2,5 \times 10^5$ células/mL) foram semeadas em placas de 96 poços e incubadas com AIPcCl/F-127 ou AIPcCl/DMSO em concentrações de 3,6 e 14 $\mu\text{mol/L}$ por 2 horas no escuro. Para fototoxicidade, após incubação, foram expostas à luz (600-750 nm) por 20 minutos. Células tratadas apenas com DMEM serviram como controle. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) após incubação com MTT (2 mg/mL) por 4 horas e dissolução do formazan em DMSO, medindo a absorbância a 570 nm (Shi *et al.* 2016).

Avaliação da morfologia celular

As células ($1,5 \times 10^5$ células/mL) foram semeadas em placas de 24 poços e tratadas com 3,6 e 14 $\mu\text{mol/L}$ de AIPcCl/F-127 por 2 horas no escuro e irradiadas por 20 minutos. Células tratadas apenas com DMEM serviram como controle. A morfologia celular foi observada em um microscópio de luz invertida (EVOS® FL, Life Technologies, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando o objetivo deste projeto de avaliar a atividade antitumoral *in vitro* da TFD com ftalocianina de alumínio-cloro nanoencapsulada em plurônico F-127 (AIPcCl/F-127), o ensaio de MTT foi usado para avaliar a viabilidade celular após os tratamentos. Os resultados demonstram que na seção da placa não exposta à luz, as células tratadas com AIPcCl/DMSO a 3,6 $\mu\text{mol/L}$ mantiveram uma viabilidade de 98% e na concentração a 14 $\mu\text{mol/L}$ a viabilidade foi de 90%. Já as células tratadas

com AIPcCl/F-127 apresentaram viabilidade de aproximadamente 70% em ambas as concentrações (Figura 1A). Na seção exposta à luz, a viabilidade celular se manteve em 100% para as células tratadas com AIPcCl/DMSO a 3,6 $\mu\text{mol/L}$ e caiu para 50% quando tratadas com AIPcCl/DMSO a 14 $\mu\text{mol/L}$. Para as células tratadas com AIPcCl/F-127 a viabilidade foi de 60% na concentração de 3,6 $\mu\text{mol/L}$ e reduzida a 40% quando tratadas com a maior concentração (Figura 1B).

Os dados indicam que AIPcCl/F-127 na concentração de 14 $\mu\text{mol/L}$, seguida da exposição a luz por 20 minutos, apresentou o melhor resultado frente à linhagem celular SiHa, representando uma vantagem significativa em comparação a AIPcCl sem o nanossistema.

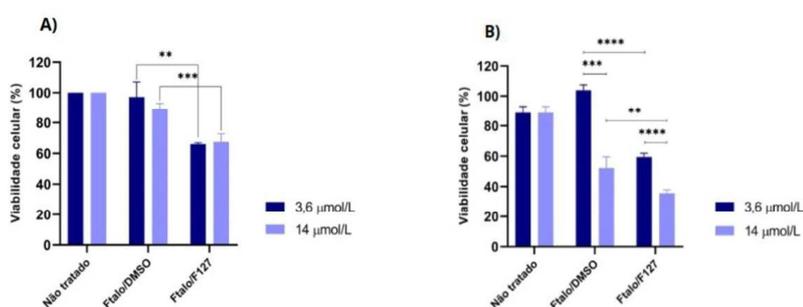


Figura 1 - Viabilidade de células SiHa tratadas com AIPcCl e AIPcCl/F-127 em concentrações de 3,6 $\mu\text{mol/L}$ e 14 $\mu\text{mol/L}$, sem (A) e com iluminação (B). Resultados expressos em média \pm desvio padrão. Diferenças estatisticamente significativas são representadas por: (****) $p < 0.0001$, (**) $p < 0.001$, (*) $p < 0.01$.

A análise da morfologia celular após os tratamentos das células SiHa também em concentrações de AIPcCl/F-127 em 3,6 $\mu\text{mol/L}$ e 14 $\mu\text{mol/L}$, com e sem exposição à luz indica que a seção da placa não exposta à luz exibiu algumas alterações sutis na morfologia celular (Figura 2). No entanto, após tratamento com TFD, observou-se o descolamento das células da superfície da placa, o que indica morte celular, além do aumento expressivo no dimorfismo celular indicativo de apoptose (Figura 3). Essas alterações foram mais notáveis na concentração de 14 $\mu\text{mol/L}$ (Figura 3B), mas já podem ser evidenciadas na concentração de 3,6 $\mu\text{mol/L}$ (Figura 3A). Esses resultados evidenciam a atividade antitumoral da AIPcCl/F-127 quando associada à TFD.

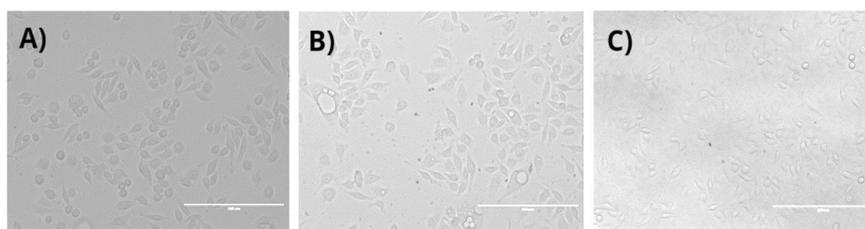


Figura 3 - Morfologia de células SiHa não tratadas (A), tratadas com AIPcCl/F-127 em 3,6 $\mu\text{mol/L}$ (B), tratadas com AIPcCl/F-127 em 14 $\mu\text{mol/L}$ (C), sem iluminação. Imagens obtidas em objetiva de 20x.

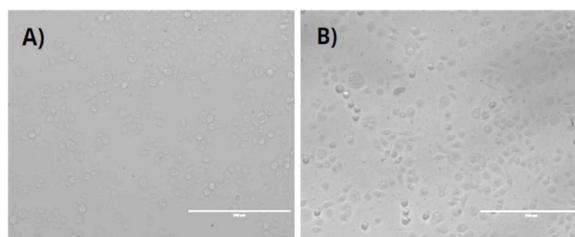


Figura 4 - Morfologia de células SiHa tratadas com AIPcCl/F-127 em 3,6 µmol/L (A), tratadas com AIPcCl/F-127 em 14 µmol/L (B), com iluminação. Imagens obtidas em objetivas de 20x.

CONCLUSÕES

A ftalocianina de alumínio-cloro nanoencapsulada em plurônico F-127, associada à TFD, mostrou atividade antitumoral significativa na linhagem celular SiHa, reduzindo a viabilidade e alterando a morfologia celular. Os resultados reforçam o potencial da terapia e a necessidade de estudos adicionais para elucidar seu mecanismo de ação.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Estadual de Maringá e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio por meio da bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Estatísticas de câncer: atualizado em 2023. **INCA**, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros>. Acesso em: 19 ago. 2024.

OKUNADE, K. S. Human papillomavirus and cervical cancer. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 40, n. 5, p. 602–608, 10 set. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31500479/>. DOI: 10.1080/01443615.2019.1634030. Acesso em: 19 ago. 2024.

CAROBELI, L.R. et al. Phthalocyanine and Its Formulations: A Promising Photosensitizer for Cervical Cancer Phototherapy. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 12, p. 2057–2057, 2 dez. 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8705941/>. DOI:10.3390/pharmaceutics13122057. Acesso em: 19 ago. 2024.

SHI, X. et al. Extraction and purification of total flavonoids from pine needles of Cedrus deodara contribute to anti-tumor in vitro. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 16, n. 1, 26 jul. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27461104/#full-view-affiliation-2>. DOI:10.1186/s12906-016-1249-z. Acesso em 28 ago. 2024.