AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DA CRISINA EM LINHAGEM CELULAR TUMORAL DE MAMA

Anna Carolina Tramarin Rodrigues (PIBIC/UEM), Ana Beatriz Camillo, Ana Beatriz dos Santos, Marcia Edilaine Lopes Consolaro, Lyvia Eloiza de Freitas Meirelles (Co-orientadora), Vânia Ramos Sela da Silva (Orientadora). E-mail: vrssilva@uem.br. Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde / Farmácia

Palavras-chave: Câncer de mama. Crisina. Cultura de células.

RESUMO

O câncer de mama constitui a neoplasia maligna de maior incidência entre as mulheres, excluindo os tumores de pele não melanoma. Também, as estratégias terapêuticas contra este tipo de câncer são limitadas apresentando efeitos adversos e resistência ao tratamento. Nesse contexto, a crisina é um flavonóide natural com propriedades biológicas importantes descritas na literatura, incluindo promissoras propriedades anticâncer em diferentes tipos de células tumorais. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade citotóxica da crisina em linhagem celular tumoral de mama, utilizando o modelo de cultura celular tridimensional (3D) por meio da formação de esferóides. Foram utilizadas células de câncer de mama MDA-MB-231, onde os esferóides foram tratados com crisina nas concentrações entre 100 - 3200 µM, e a atividade citotóxica foi avaliada pelo método da resazurina. Foi observado que a crisina reduziu a viabilidade celular e exibiu efeitos citotóxicos dose-dependentes nos esferóides de células MDA-MB-231 com IC□□ de 310,4 µM. Os resultados obtidos demonstram que a crisina apresenta potencial atividade antitumoral em células de câncer de mama no modelo de cultura celular 3D.

INTRODUÇÃO

O câncer de mama constitui um importante problema de saúde pública mundial, apresentando elevada incidência e mortalidade entre as mulheres. No Brasil, estima-se a ocorrência de 78.610 novos casos por ano no triênio de 2026 e 2028, tornando-o o câncer mais incidente na população feminina quando excluídos os tumores de pele não melanoma (INCA, 2026).

Trata-se de uma doença biologicamente heterogênea, caracterizada por diferentes alterações moleculares que influenciam seu comportamento clínico, prognóstico e resposta ao tratamento. A quimioterapia permanece como uma das principais

modalidades terapêuticas utilizadas, entretanto, pode ocasionar efeitos adversos importantes. Além disso, a resistência aos agentes antineoplásicos constitui um dos principais obstáculos para o sucesso terapêutico, reforçando a necessidade de investigação de novas estratégias capazes de atuar sobre diferentes mecanismos envolvidos na progressão tumoral (LI et al., 2025). Estudos *in vitro* demonstraram que a crisina pode interferir no crescimento de diferentes células tumorais (TALABI et al., 2021). Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade citotóxica da crisina em linhagem celular tumoral de mama, utilizando o modelo de cultura celular tridimensional (3D) por meio da formação de esferóides.

MATERIAIS E MÉTODOS

Linhagem celular
A linhagem celular utilizada foi a MDA-MB-231 (linhagem celular tumoral de mama derivada de adenocarcinoma, negativa para receptores de estrogênio, progesterona e HER-2).

Manutenção e condições da cultura celular
As células MDA-MB-231 foram mantidas em condições controladas de cultivo, em estufa umidificada a 37 °C, com atmosfera contendo 5% de CO□, em meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de anfotericina B.

Obtenção e preparo da Crisina
A crisina (5,7-diidroxiflavona) utilizada nos experimentos foi solubilizada em dimetilsulfóxido (DMSO), obtendo-se uma solução estoque na concentração de 40 mM, que foi armazenada a −20 °C até sua utilização.

Formação dos esferoides celulares
Os esferóides foram formados em placas de fundo em U revestidas com agarose a 1,5%, conforme protocolo padronizado no laboratório. Foram adicionados 150 µL de suspensão celular contendo 7,5 × 10^4 células/mL. Após 24 horas, foi adicionada solução de colágeno a 2%. Após dois dias, realizou-se a troca parcial do meio, com retirada de 100 µL e reposição do mesmo volume de DMEM.

Ensaio de citotoxicidade
A partir de 6 dias de formação dos esferóides, estes foram tratados com crisina nas concentrações de 100, 200, 400, 800, 1600 e 3200 µM por 24 horas. Em seguida, foram adicionados 10 µL de resazurina a 5 mM, com incubação por mais 24 horas,

protegidos da luz. A viabilidade celular foi determinada por leitura espectrofotométrica a 570 e 600 nm. Células tratadas somente com DMEM e DMSO (concentração final de 0,25%) foram utilizadas como controle.

Determinação da concentração inibitória de 50% (IC□□)

A IC□□ foi definida como a concentração capaz de reduzir em 50% a resposta celular em relação ao controle não tratado. Os dados foram analisados por regressão não linear para obtenção das curvas concentração–resposta e determinação da IC□□, utilizando o GraphPad Prism® 8.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tratamento com crisina reduziu a viabilidade celular e exibiu efeitos citotóxicos dose-dependentes nos esferóides de células MDA-MB-231. O grupo controle, foi considerado como referência, apresentando viabilidade celular de aproximadamente 100%. A partir de 200 µM de crisina, observou-se uma redução da viabilidade celular quando comparado ao controle. Na concentração de 400µM essa redução foi mais acentuada, atingindo média de 49,56%. Em 800 µM, a viabilidade foi reduzida para 36,02%, enquanto nas concentrações de 1600 e 3200 µM foram observados os menores valores, correspondentes a 29,04% e 19,12%, respectivamente. A análise de regressão não linear indicou uma concentração inibitória de 50% (IC□□) de 310,4 µM.

Assim, os resultados obtidos demonstram que a crisina exerceu efeito citotóxico relevante sobre os esferoides de células MDA-MB-231, com intensificação do efeito à medida que houve aumento da concentração do composto. Esse achado corrobora evidências descritas na literatura acerca do potencial antitumoral da crisina, cuja atividade antiproliferativa já foi observada em diferentes linhagens de células tumorais (TALEBI et al., 2021). De forma semelhante, (MARI et al., 2025) demonstraram atividade antitumoral da crisina em células de câncer do colo do útero empregando um modelo de cultura celular tridimensional, reforçando o potencial desse composto como candidato para investigação no contexto da oncologia.

A utilização de modelos tridimensionais de cultura celular apresenta grande relevância para a avaliação de compostos com potencial antitumoral, uma vez que a formação de esferoides possibilita uma organização celular mais próxima daquela observada no microambiente tumoral. Nesse modelo, as células se distribuem em diferentes regiões do esferoide, favorecendo as interações célula-célula e promovendo diferenças na disponibilidade de nutrientes e oxigênio entre as regiões mais externas e internas. Essas características podem influenciar diretamente o comportamento celular e a resposta aos tratamentos, tornando os modelos tridimensionais uma ferramenta relevante para estudos de citotoxicidade e avaliação de novos agentes antitumorais (COSTA et al., 2018).

A linhagem MDA-MB-231 utilizada neste estudo é derivada de adenocarcinoma mamário e apresenta ausência de expressão dos receptores de estrogênio (ER), progesterona (PR) e HER2. Dessa forma, representa o subtipo de câncer de mama

triplo-negativo. Esse subtipo está associado a características clínicas mais agressivas, incluindo maior capacidade metastática, pior prognóstico e menor disponibilidade de opções terapêuticas direcionadas (INCA,2026). Nesse contexto, a investigação de novos compostos com potencial antitumoral, para este tipo da doença, apresenta grande relevância, especialmente para o desenvolvimento de estratégias que possam contribuir para o seu tratamento.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram que a crisina apresentou efeito citotóxico e reduziu a viabilidade celular de esferóides de células de câncer de mama MDA-MB-231, que representa o subtipo de câncer de mama triplo negativo, mostrando potencial atividade antitumoral em modelo de cultura celular 3D.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Universidade Estadual de Maringá (UEM) pelo financiamento e apoio à realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). Estimativa 2026: incidência de câncer no Brasil. 2. ed. rev. atual. Rio de Janeiro: INCA, 2026. 168 p.

LI, J.; HU, J.; YANG, Y.; et al. Drug resistance in cancer: molecular mechanisms and emerging treatment strategies. Molecular Biomedicine, v. 6, n. 1, p. 111, 2025. DOI: 10.1186/s43556-025-00352-w.

TALEBI, Marjan et al. Emerging cellular and molecular mechanisms underlying anticancer indications of chrysin. Cancer Cell International, v. 21, p. 1-20, 2021.

MARI, N. L. et al. Chrysin induces cell death and inhibits migration and invasion in squamous cervical carcinoma using a three-dimensional cell culture model. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 58, e14692, 2025

COSTA, M. C. D.; BARROS, A. P. D. N. D.; LOUBACK, R. A.; ROSSI, M. I. D. Modelos tridimensionais de cultura de células: aproximando o in vitro do in vivo. Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia, Rio de Janeiro, v. 6, n. 1, p. 72-83, 2018.