PROJETO

NASY THOR

Novos compostos naturais e sintéticos para o tratamento de tumores hormono-resistentes

Autores: Filipa Quintela Vieira[1,2,3], Agostinho Cruz[1,4], Ana Isabel Oliveira[1,4], Cláudia Pinho[1,4], Cristina Prudêncio[1,5,6], Mónica Vieira[1,5,6], Piedade Barros[1,7], Ricardo Ferraz[1,5,8], Rosário Martins[1,7,9], NASYTHOR team, Regina Augusta Silva[1,2]

[1]Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), Escola Superior de Saúde, Politécnico do Porto (ESS | P. PORTO), [2]Área Técnico-Científica de Anatomia Patológica, Citológica e Tanatológica, ESS | P. PORTO, [3]Grupo de Epigenética e Biologia do Cancro do Centro de Investigação do Instituto Português de Oncologia do Porto (CI|IPOP),[4]Área Técnico-Científica de Farmácia, ESS | P. PORTO, [5]Área Técnico-Científica de Ciências Químicas e das Biomoléculas, ESS | P. PORTO, [6]Instituto de Investigação e Inovação em Saúde (i3S), Universidade do Porto (UP), [7] Área Técnico-Científica de Ciências Morfológicas, ESS | P. PORTO, [8]LAQV-REQUIMTE, Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, UP, [9]CIIMAR (Centro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental)

Referência do Financiamento: Programa Operacional Regional do Norte de Portugal (NORTE 2020), no âmbito do Acordo de Parceria PORTUGAL 2020, através do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) e da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT). NORTE-01-0145-FEDER-024156

Resumo

Introdução: Uma equipa multidisciplinar do CISA-ESS | P. PORTO em colaboração com o CI|IPOP dedicou-se ao estudo do potencial anti-tumoral de novos compostos em tumores de grande incidência em Portugal: cancro da mama e da próstata.

Metodologia: O potencial anti-tumoral de extratos de plantas e compostos sintéticos foi avaliado em linhas celulares de cancro da próstata e da mama, sendo a resposta terapêutica prevista através de amostras biológicas.

Resultados: Um líquido iónico provou estar associado à atenuação do fenótipo maligno das linhas celulares testadas, mostrando-se um promissor agente terapêutico anti-tumoral. A expressão de genes que se mostrou alterada após tratamento foi validada em amostras de pacientes com cancro da próstata e da mama.

Conclusão: Os resultados foram divulgados sob a forma de artigo científico e de várias comunicações orais e posters em congressos nacionais e internacionais.

Abstract

Introduction: A multidisciplinary team from CISA-ESS|P.PORTO in collaboration with CI|IPOP was dedicated to the study of the antitumor potential of new compounds in tumors of high incidence in Portugal: breast and prostate cancer.

Methodology: The antitumor potential of plant extracts and synthetic compounds was evaluated in prostate and breast cancer cell lines, and the therapeutic response was predicted through biological samples.

Results: An ionic liquid proved to be associated with the attenuation of the malignant phenotype of the cell lines tested, proving to be a promising antitumor therapeutic agent. The expression of genes that were shown to be altered after treatment was validated in samples from patients with prostate and breast cancer.

Conclusion: The results were published in the form of a scientific article and several oral communications and posters at national and international conferences.

Introdução

O cancro é uma das principais causas de mortalidade no mundo, apesar dos avanços na pesquisa médica. Últimos dados de incidência de cancro revelam o cancro da próstata e da mama como dos mais incidentes quer mundialmente quer em Portugal (Bray et al., 2018). Apesar dos avanços na deteção precoce e tratamento, as taxas de mortalidade elevadas e os efeitos colaterais adversos ou tóxicos da quimioterapia e radioterapia, torna-se imperativa a descoberta de novos agentes anti-tumorais, especialmente útil em casos de tumores de próstata resistentes à castração e tumores de mama independentes de estrogénio.

Nos últimos anos, membros da presente equipa de investigação têm desenvolvido estudos sobre o potencial bioativo de compostos naturais e sintéticos no Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA) da Escola Superior de Saúde, do Politécnico do Porto (ESS | P. PORTO). Este projeto contou ainda com a colaboração com o Instituto Português de Oncologia (IPO-Porto), dada a sua vasta experiência em cancro, nomeadamente no cancro de próstata e mama.

De trabalhos anteriores, extratos isolados de plantas do género *Taraxacum* assim como compostos sintéticos como líquidos iónicos e quinoxalinas, revelaram um potencial bioativo com interesse anti-tumoral (Ferraz et al., 2011; Ferraz et al., 2015; M. Vieira et al., 2014). No seguimento destes resultados, e considerando a experiência de membros da equipa de investigação, na área do cancro, foi objetivo principal deste projeto inferir sobre o potencial destes compostos como drogas anti-tumorais, em tumores hormono-resistentes comuns nomeadamente os tumores de próstata resistentes à castração e tumores de mama independentes de estrogénio.

Metodologia

O projeto envolveu as seguintes atividades: a) produção e caracterização de compostos naturais e sintéticos (Silva, et. Al., 2019; Oliveira, et al., 2019); b) avaliação *in vitro* em linhas celulares de próstata e mama do potencial anti-tumoral dos compostos, a fim de selecionar os mais promissores (Silva, et. Al., 2019; Marques-Magalhães, et al., 2019); c) avaliação *in vivo* do potencial anti-tumoral dos compostos selecionados anteriormente, utilizando como modelo o peixe-zebra (Silva, et. Al., 2019; Barros, et al., 2019); d) identificação da expressão génica por tratamento com os compostos selecionados de forma a inferir sobre o mecanismo de ação molecular subjacente aos efeitos citotóxicos em células tumorais; e) avaliação da utilidade clínica da expressão génica de forma a prever a resposta terapêutica (Silva, et. Al., 2019; F. Q. Vieira, et al., 2019).

Resultados

Foram produzidas quinoxalinas (1,4-dióxido de quinoxalina e 1,4-dióxido de 2-metilquinoxalina) e líquidos iônicos baseados em ampicilina ([C2OHMIM][Amp] e [C16Pyr][Amp]). Adicionalmente, as partes aéreas de Taraxacum hispanicum foram recolhidas e a biomassa seca das plantas (folhas e flores) extraída, tendo-se produzido um extrato etanólico e um aquoso (Pinho, et al., 2018). Os compostos foram testados em 10 linhas celulares: 5 linhas celulares de mama e 5 de próstata. De cada modelo tumoral foi utilizada uma linha celular normal, 2 linhas tumorais hormono-sensíveis e 2 hormono-resistentes. De entre os compostos testados, apenas o composto [C16Pyr] [Amp] e o extrato alcoólico do Taraxacum hispanicum (EAL) levaram a uma diminuição da viabilidade celular, tendo-se observado um elevado índice de seletividade no que diz respeito à comparação dos resultados obtidos nas linhas celulares tumorais quando comparados com a respetiva linha normal (F. Q. Vieira, et al., 2020). Adicionalmente, ambos os compostos mostraram, na maioria das linhas testadas, índices de seletividade superiores aos observados com o tratamento com cisplatina, droga amplamente usada em quimioterapia. Os resultados mais

promissores foram observados aquando do tratamento com o [C16Pyr] [Amp], uma vez que este mostrou ter capacidade de redução da viabilidade em todas as linhas celulares, tornar as células mais sensíveis aos mecanismos de apoptose e diminuição da capacidade de formação de colónias pelas células tumorais (Marques-Magalhães, et al., 2018a, 2018b, 2018c, 2018d; F. Q. Vieira, et al., 2020).

Posteriormente, foram selecionadas 2 linhas celulares de cancro da próstata e 2 de cancro da mama, sendo para cada modelo tumoral uma linha celular hormono-resistente e outra linha celular hormono-independente. As linhas foram tratadas com [C16Pyr][Amp] e a análise do transcriptoma revelou que o referido tratamento levava à diminuição da expressão de genes como LDHA, CPT2, MCM2 e SKP2 (F. Q. Vieira, et al., 2020).

Foi determinada a utilidade clínica da expressão utilizando tecidos humanos extraídos de pacientes com cancro da próstata e da mama. A intensidade de imunocoloração, padrão de imunoexpressão e/ou percentagem de células positivas para CPT2, LDHA, MCM2 e SKP2 foram associados ao tipo histológico e/ou resistência à terapia de privação de androgênio nas amostras de próstata. Por sua vez, a expressão de LDHA foi associada ao subtipo molecular de cancro da mama (F. Q. Vieira, et al., 2021a, 2021b, 2021c).

Conclusão

Como principal conclusão deste estudo, o líquido iônico [C16Pyr][Amp] mostrou-se associado à atenuação do fenótipo maligno das linhagens testadas, revelando-se um promissor agente terapêutico antitumoral (F. Q. Vieira, et al., 2020). A expressão génica alterada após o tratamento foi validada em amostras de pacientes com cancro da próstata e da mama, revelando que estes biomarcadores poderão ser úteis para a gestão clínica e orientação terapêutica.