

GENISTEINA PROMOVE EFEITO CITOTÓXICO SELETIVO EM CULTURA DE CARCINOMA DE MAMA MCF-7

FELIPE ABREU DA SILVA¹; LEONARDO GARCIA MONTE², PRISCILA TREPTOW RAMOS¹, FERNANDA CARDOSO TEIXEIRA¹, GIOVANA DUZZO GAMARO¹; ELIZANDRA BRAGANHOL¹

¹Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, UFPEL, Pelotas, RS, Brasil

²Centro de Desenvolvimento Tecnológico, UFPEL, Pelotas, RS, Brasil

1. INTRODUÇÃO

O câncer de mama é um dos tumores mais comuns em mulheres, caracterizado por uma distinção do padrão metastático que atinge as regiões dos gânglios linfáticos, medula óssea, pulmão e fígado (LANGLANDS et al, 2013). A terapia atual para o câncer de mama se resume em: cirurgia, radioterapia e quimioterapia (GROVER e MARTIN, 2002). Como as estatísticas mundiais apontam, o câncer de mama, é, em boa parte dos casos, incurável, principalmente devido ao diagnóstico tardio e ao desenvolvimento de quimioresistência (SUI et al, 2011). Assim, se faz necessário o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas com o objetivo de prevenir e/ou aumentar a sobrevida de pacientes diagnosticados com câncer de mama, ampliando as alternativas para os pacientes.

Nesse contexto, os produtos de soja são utilizados como substituintes de hormônios sintéticos, para contornar efeitos indesejáveis da menopausa (GENCEL et al, 2012). O consumo de produtos ricos em soja tem sido relacionados a menos incidência de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e câncer, principalmente pela presença de isoflavonas. As isoflavonas, também são denominadas de fitoestrógenos por apresentarem semelhança estrutural com os hormônios estrogênicos, encontrados em maior concentração nas mulheres. A genisteína (4',5,7-trihidroxisoflavona) é uma isoflavona que está presente em alimentos a base de soja e se mostra benéfica à saúde humana. A genisteína é semelhante à estrutura primária do 17- β -estradiol, receptores estrogênicos (MAKIEWICZ et al, 1993). Além disso, a genisteína pode exercer uma vasta gama de efeitos biológicos independentes de ativação de receptores estrogênicos, incluindo ação antioxidante e inibição da aromatase, enzima relacionada com o metabolismo dos hormônios estrogênicos (KAO et al, 1998). Além disso, a genisteína apresenta propriedades anticancerígenas, inibindo receptores tirosina-quinase e induzindo morte celular via apoptose e parada no ciclo celular (YU et al, 2001). Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antitumoral da genisteína em cultura de células de carcinoma de mama, comparando com células normais, os fibroblastos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Análise da viabilidade celular: A linhagem de carcinoma de mama de humanos (MCF-7) e a linhagem de fibroblastos de humanos (CCD1059sK) foram semeadas em placas de 96 poços (5×10^3 células/poço) e expostas ao estradiol (E2; 10 nM) ou a genisteína (10 e 100 μ M). Após 72 h de tratamento, a viabilidade celular foi determinada pelo ensaio do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2- γ 1)-2,5-difeniltetrazolio) e pela análise da atividade da lactato desidrogenase (LDH) no sobrenadante das culturas. O 17- β -estradiol (E2) foi utilizado como agonista de receptor estrogênico para comparar o efeito da genisteína nas linhagens celulares.

Ensaio de incorporação de iodeto de propídeo (PI): As células MCF-7 foram semeadas em placas de 24 poços (20×10^3 células/poço) e foram tratadas com E2 (10 nM) ou genisteína (10 e 100 μ M) por 72 h. Essas células foram incubadas com PI (7,5 μ M) por 1 h. A fluorescência do PI foi excitada a 515-600 nm utilizando microscópio invertido equipado com um filtro de rodmina padrão. As imagens foram capturadas usando uma câmera digital conectada ao microscópio (Olympus IX71, Japão).

3. RESULTADOS

Os experimentos apontaram a genisteína promoveu uma diminuição na viabilidade celular das células MCF-7 nas concentrações de 10 e 100 μ M após tratamento de 72 h, enquanto que não foi observado toxicidade em cultura de fibroblastos. Esse resultado indica toxicidade seletiva da genisteína contra células tumorais, não afetando a viabilidade das células normais. Para melhor investigar o efeito antiproliferativo da genisteína em células de câncer de mama MCF-7 foi realizada a análise da atividade da LDH e o ensaio de incorporação de PI. A genisteína não promoveu alteração nesses parâmetros (dados não mostrados), indicando que a morte celular induzida por genisteína é independente de necrose.

TABELA 1. Efeito do 17- β -estradiol e da genisteína sobre a viabilidade celular de linhagem de fibroblasto e de carcinoma de mama.

Grupos	Fibroblasto (CCD1059sK)	Carcinoma de mama (MCF-7)
Controle	100%	100%
17- β -estradiol (E2)	98%	83%
Genisteína (10 μ M)	93%	61%*
Genisteína (100 μ M)	95%	59%*

A viabilidade celular foi avaliada pelo teste do MTT. Experimentos realizados em triplicata. Dados expressos em percentual com relação ao controle (100%).
 *Diferença significativa quando comparado ao controle (ANOVA; $P \leq 0,05$).

4. CONCLUSÃO

Os resultados mostram que a genisteína apresenta toxicidade seletiva para células tumorais, característica altamente desejável para um candidato a quimioterápico, uma vez que um dos grandes problemas da quimioterapia é a incidência de efeitos colaterais, devido à toxicidade inespecífica. Apesar da necessidade de aprofundamento desse estudo, esses dados somados aos da

literatura indicam a genisteína como uma molécula promissora na terapia antitumoral.

5. REFERÊNCIAS

- BANERJEE S, LI Y, WANG Z, and SARKAR FH (2008) Multi-targeted therapy of cancer by genistein. **Cancer Lett** 269(2):226-242.
- GENCEL VB, BENJAMIN MM, BAHOU SN, KHALIL RA (2012) Vascular effects of phytoestrogens and alternative menopausal hormone therapy in cardiovascular disease. **Mini Rev Med Chem** 12(2):149-174.
- GOSSNER G, CHOI M, TAN L, FOGOROS S, GRIFFITH KA, KUENKER M, et al. (2007) Genistein-induced apoptosis and autophagocytosis in ovarian cancer cells. **Gynecol Oncol** 105(1):23-30.
- GROVER PL, MARTIN FL (2002) The initiation of breast and prostate cancer. **Carcinogenesis** 23(7):1095-1102.
- LANGLANDS FE, HORGAN K, DODWELL DD, SMITH L (2013) Breast cancer subtypes: response to radiotherapy and potential radiosensitisation. **Br J Radiol** 86(1023):20120601.
- KAO Y, ZHOU C, SHERMAN M, LAUGHTON CA, CHEN S (1998) Molecular basis of the inhibition of human aromatase (estrogen synthetase) by flavone and isoflavone phytoestrogens: a site-directed mutagenesis study. **Environ health perspect** 106:85-92.
- MAKIEWICZ L, GAREY J, ADLERCREUTZ H, GURPIDE E (1993) In vitro bioassays of non-steroidal phytoestrogens. **J Steroid Biochem Mol Biol** 45:399-405.
- SUI M, ZHANG H, FAN W (2011) The role of estrogen and estrogen receptors in chemoresistance. **Curr Med Chem** 18(30):4674-4683.
- YU Z, LI W, LIU F (2004) Inhibition of proliferation and induction of apoptosis by genistein in colon cancer HT-29 cells. **Cancer Lett** 215:159-66.