

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA

KATIUSKA TUTTIS RODRIGUES

**Avaliação dos efeitos da associação entre sulforafano e vitamina D
sobre a citotoxicidade, genotoxicidade, migração celular e modulação
da expressão gênica em células humanas tumorais de próstata
(DU145 e PC-3)**

Ribeirão Preto

2022

KATIUSKA TUTTIS RODRIGUES

**Avaliação dos efeitos da associação entre sulforafano e vitamina D
sobre a citotoxicidade, genotoxicidade, migração celular e modulação
da expressão gênica em células humanas tumorais de próstata
(DU145 e PC-3)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Doutora em Ciências.
Area de concentração: Genética.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lusânia Maria Greggi Antunes

Ribeirão Preto

2022

RODRIGUES, K. T. **Avaliação dos efeitos da associação entre sulforafano e vitamina D sobre a citotoxicidade, genotoxicidade, migração celular e modulação da expressão gênica em células humanas tumorais de próstata (DU145 e PC-3)**. 2022. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

Resumo

Atualmente, o câncer de próstata é o segundo mais incidente em homens no Brasil. Apesar das terapias disponíveis, não existe um tratamento que seja eficiente para os casos de câncer em estágio avançado ou metastático. Sulforafano e vitamina D têm apresentado atividade anticâncer promissora em estudos *in vitro* e *in vivo*, no entanto, quando utilizados em testes clínicos seus efeitos têm sido limitados devido à baixa biodisponibilidade. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da associação de sulforafano e vitamina D sobre a viabilidade celular, citotoxicidade, indução de apoptose e danos no DNA, estresse oxidativo e autofagia, atividade clonogênica e migratória, modulação do ciclo celular, expressão de genes e proteínas em células humanas tumorais de próstata (DU145 e PC-3), a fim de verificar um possível efeito sinérgico entre eles. Em células DU145 após 72 horas de tratamento, vitamina D diminuiu a viabilidade celular em ensaio de vermelho neutro e sulforafano diminuiu a viabilidade celular em ensaio de MTT e vermelho neutro. Em células PC-3, vitamina D e sulforafano diminuíram a viabilidade celular em ensaio de MTT e vermelho neutro. O tratamento associado (sulforafano + vitamina D) diminuiu a viabilidade celular quando comparado aos tratamentos isolados após 24 horas, mas não houve alteração após 72 horas. Sulforafano induziu citotoxicidade e sua associação com vitamina D potencializou o efeito citotóxico do sulforafano em ambas as linhagens. Sulforafano induziu morte por apoptose e parada do ciclo celular em DU145 (fase S e G2) e PC-3 (fase G2). Vitamina D e sulforafano inibiram a atividade clonogênica em PC-3, mas somente sulforafano diminuiu a capacidade de formar colônias em células DU145. Após o tratamento associado, não foi observada qualquer diferença na indução de apoptose, modulação do ciclo celular ou capacidade clonogênica quando comparadas aos tratamentos isolados. Não houve alteração na migração celular em nenhuma das concentrações testadas, tanto em tratamento isolado como associado nas duas linhagens. Após o tratamento isolado, vitamina D e sulforafano não induziram aumento de espécies reativas e danos no DNA. Entretanto, o tratamento associado foi genotóxico em DU145 e induziu estresse oxidativo em DU145 (3 e 24 horas) e PC-3 (3 horas). Sulforafano induziu aumento de autofagia e a associação do sulforafano com a vitamina D potencializou seu efeito autofágico em ambas as linhagens. Após o tratamento associado em células DU145, a expressão dos genes *MAPK1*, *CCNB1*, *CDK1* e *CTNNB1* aumentou. As proteínas BAX, CASP8, CASP3, NRF2 e JNK foram mais expressas, e BCL2 menos expressa em relação ao controle. Em células PC-3 foi observado aumento da expressão dos genes *MAPK1* e *CCNB1* e das proteínas BAX e NRF2, e diminuição da expressão do gene *TNF* e das proteínas BCL2, CASP8 e JNK. Após a predição das interações entre alvos, sulforafano e vitamina D, foi apresentada a via MAPK como possível via de sinalização responsável pelos efeitos encontrados com o tratamento associado. Esses resultados demonstram que a associação de sulforafano e vitamina D tem potencial para uso na terapia do câncer de próstata.

Palavras-chave: Calcitriol. Nutrigenômica. Potencialização. Quimioprevenção