

Atividade citotóxica da digoxina em linhagens celulares derivadas de carcinomas espinocelulares bucais humanos

LIMA, P.O.¹; BARBOSA, L.A.O.¹; SANTOS, F.V.¹; PEREIRA, M.C.¹.

RESUMO

A digoxina consiste em um glicosídeo digitálico utilizado no tratamento da insuficiência cardíaca congestiva e arritmia, entretanto sua atividade citotóxica contra células tumorais tem sido amplamente estudada. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito citotóxico da digoxina em linhagem celular derivada de carcinoma espinocelular bucal humano (SCC-25). Para tanto, utilizou-se o ensaio de MTT [3-(4,5 dimetiltiazol-2yl)-2-5-difenil-2H tetrazolato de bromo]. As células foram incubadas com diferentes concentrações de digoxina (0,01µM a 1,5µM) por 24 e 48 horas. A viabilidade da linhagem SCC-25 diminuiu significativamente nas concentrações acima de 1,0µM e de 0,25µM de digoxina, após 24 e 48 horas de incubação, respectivamente. Baseando-se nos resultados obtidos, concluiu-se que a digoxina apresentou atividade citotóxica contra a linhagem celular SCC-25.

Palavras-chave: digoxina, glicosídeo digitálico, carcinoma espinocelular bucal, citotoxicidade, ensaio de MTT.

INTRODUÇÃO

A digoxina consiste em um glicosídeo digitálico, obtido da planta *Digitalis lanata*, utilizado no tratamento da insuficiência cardíaca congestiva e arritmia. O mecanismo pelo qual a digoxina exerce seu efeito é através de sua habilidade em inibir a Na⁺,K⁺ATPase e assim promover a permuta do trocador Na⁺,Ca²⁺, aumentando a concentração de Ca²⁺ intracelular¹. Os níveis elevados de Ca²⁺ nos miocardiócitos resultam no aumento

da contratilidade cardíaca, através de uma melhor interação entre os filamentos de actina e miosina^{2,3}.

Estudos *in vitro* avaliando os efeitos dos digitálicos sobre patologias cardíacas foram os primeiros a sugerir o potencial citotóxico dessas drogas contra células tumorais⁴. Stenkvisst *et al.*⁵ demonstraram que pacientes portadoras de câncer de mama, as quais utilizavam digitálicos, apresentaram tumores menos agressivos⁵. Adicionalmente, verificou-se que pacientes com câncer de mama que utilizavam digoxina obtiveram menor recorrência da doença e maior sobrevida⁶.

O efeito antitumoral dos digitálicos já foi demonstrado para diversas linhagens celulares, como TK-10 (adenocarcinoma renal), MCF-7 (adenocarcinoma de mama), UACC-62 (melanona maligno) e K-562 (células leucêmicas)⁷. Além disso, células de câncer de mama (MDA-MB-435s), negativas para o receptor de estrogênio, quando tratadas com digoxina em concentrações terapêuticas (inferiores à 100nM) tiveram sua proliferação diminuída significativamente⁸.

Baseando-se nos dados apresentados e na necessidade de se buscar novos compostos com ação antitumoral, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a citotoxicidade da digoxina em linhagem celular derivada de carcinoma espinocelular (CEC) bucal humano (SCC-25).

MATERIAL E MÉTODOS

A linhagem celular SCC-25 (CRL-1628) proveniente de CEC bucal humano foi adquirida da “American Type Culture Collection” (ATCC, E.U.A). A mesma foi cultivada em meio de cultura DMEM/F-12 suplementado com 10% de soro fetal bovino, 400ng/mL de hidrocortisona, 100µg de gamicina e 100µg de kanamicina a 37°C em atmosfera contendo 5% de CO₂ e 95% de umidade.

Para avaliar o efeito da digoxina sobre a viabilidade celular, foi realizado o ensaio colorimétrico com [3-(4,5 dimetiltiazol-2yl)-2-5-difenil-2H tetrazolato de bromo], descrito por Gomes et al⁹. Foram cultivadas

¹ Universidade Federal de São João Del Rei – Campus Centro-Oeste Dona Lindu – Laboratório de Biologia Celular e Mutagênese – CEP 35501-296 – Divinópolis – MG
priscilalimaoliveira@yahoo.com.br

2×10^5 células por poço, em placas de 96 poços em meio DMEM/F12 suplementado com 10% de soro fetal de bovino, a 37°C e 5% de CO_2 . As células foram incubadas com as concentrações de $0,01\mu\text{M}$ a $1,5\mu\text{M}$ de digoxina durante 24 e 48 horas, em triplicata. Os poços dos controles negativos receberam PBS e meio de cultura, sem adição da digoxina. As absorbâncias resultantes foram lidas a 570nm e a viabilidade celular foi calculada. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa InStat v. 3.00 (GraphPad Inc., La Jolla, CA, USA). Valores de $p \leq 0,05$ indicaram uma diferença significativa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após 24h de incubação com a digoxina (Figura 1), a viabilidade da linhagem SCC-25 diminuiu significativamente nas concentrações acima de $1,0\mu\text{M}$, enquanto que após 48h de exposição (Figura 2), a viabilidade celular foi reduzida a partir de $0,25\mu\text{M}$ ($p \leq 0,05$).

O IC_{50} foi encontrado entre as concentrações de $0,75\mu\text{M}$ ($\pm 8,33107$) e $1,0\mu\text{M}$ ($\pm 6,35757$) em 24h de exposição à digoxina (Figura 1) e em 48h, entre $0,1\mu\text{M}$ ($\pm 7,92$) e $0,25\mu\text{M}$ ($\pm 10,93$) (Figura 2).

Figura 1: Efeito citotóxico da digoxina em células SCC-25 após 24 horas de exposição. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos (* $p \leq 0,05$; Ctrl = controle).

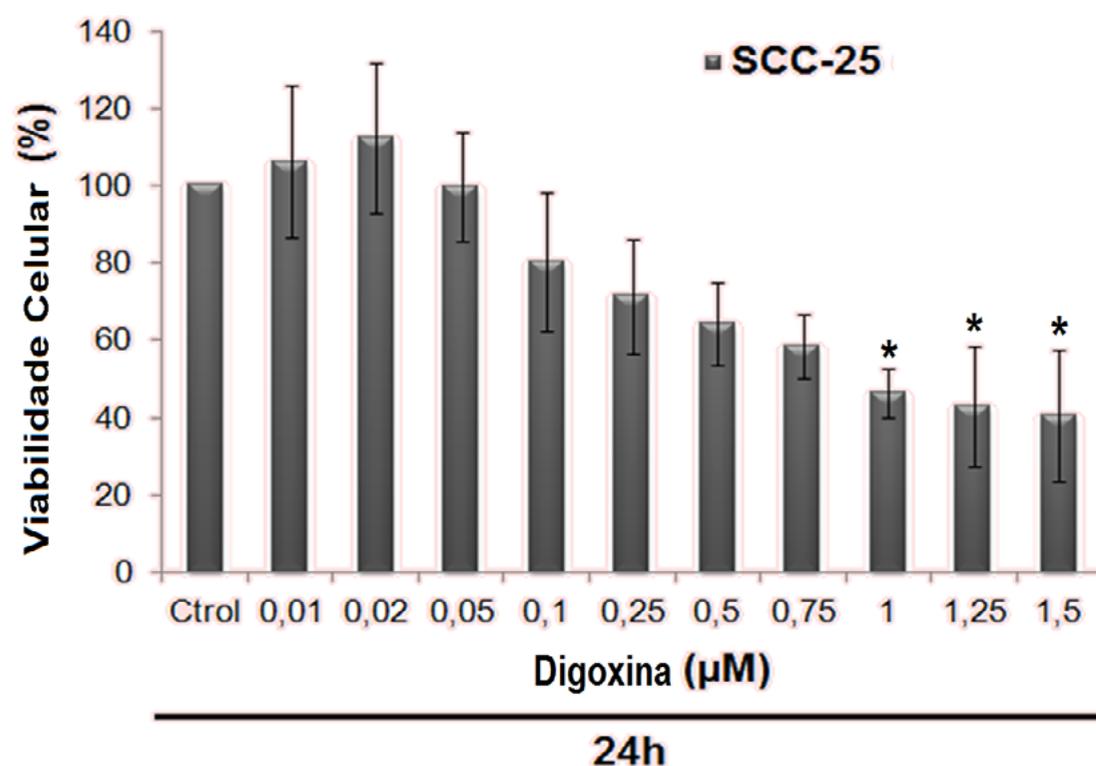
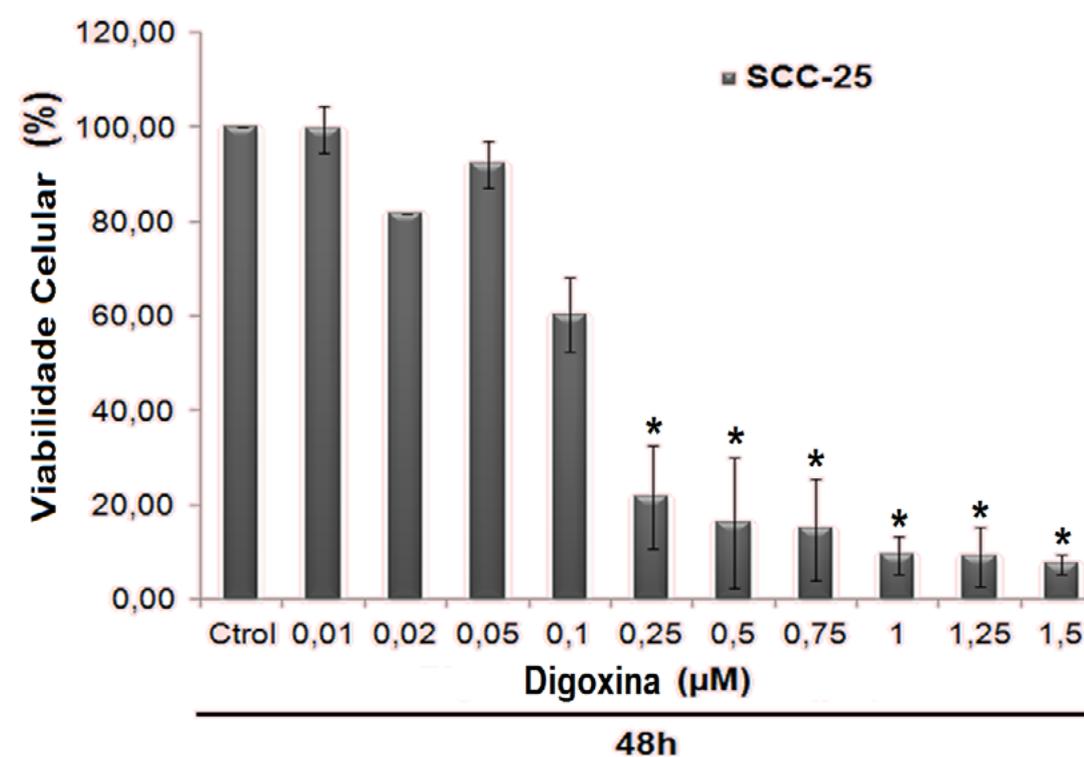


Figura 2: Efeito citotóxico da digoxina em células SCC-25 após 48 horas de exposição. Os dados estão expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos (* $p \leq 0,05$; Ctrl = controle).



Os dados obtidos mostraram que a digoxina exerceu uma atividade citotóxica contra a linhagem SCC-25, corroborando com outros estudos que demonstraram a atividade antitumoral dos glicosídeos digitálicos^{7;10}. Foi observada em outras linhagens celulares como células de glioblastoma humano U118MG, U373MG e U87MG a ocorrência de efeitos pró-apoptóticos². Contudo, os efeitos antitumorais dos digitálicos não estão completamente compreendidos.

CONCLUSÕES

Digoxina reduziu a viabilidade da linhagem de células de carcinoma espinocelular bucal humano (SCC-25) *in vitro*, reforçando o efeito antitumoral deste glicosídeo cardíaco.

REFERÊNCIAS

- (1) EICHHORN, E. J.; GHEORGHIADE, M. Digoxin. **Prog Cardiovasc Dis**, v. 44, n. 4, p. 251-66, 2002.
- (2) HAUX, J. Digitoxin is a potential anticancer agent for several types of cancer. **Med Hypotheses**, v. 53, n. 6, p. 543-8, 1999.
- (3) BAGROV, A. Y.; SHAPIRO, J. I.; FEDOROVA, O. V. Endogenous cardiotonic steroids: physiology, pharmacology, and novel therapeutic targets. **Pharmacol Rev**, v. 61, n. 1, p. 9-38, 2009.
- (4) SHIRATORI, O. Growth inhibitory effect of cardiac glycosides and aglycones on neoplastic cells: in vitro and in vivo studies. **Gann**, v. 58, n. 6, p. 521-8, 1967.
- (5) STENKVIST, B.; WESTMAN-NAESER, S.; HOLMQUIST, J.; NORDIN, B.; BENGTSSON, E.; VEGELIUS, J.; ERIKSSON, O.; FOX, C. Cardiac glycosides and breast cancer. **Lancet**. 1979 Mar 10;1(8115):563.
- (6) MIJATOVIC, T. et al. Cardiotonic steroids on the road to anti-cancer therapy. **Biochim Biophys Acta**, v. 1, p. 32-57, 2007.
- (7) LOPEZ-LAZARO, M.; PASTOR N.; AZRAK S.S.; AYUSO M.J.; AUSTIN C.A.; CORTÉS F. Digitoxin inhibits the growth of cancer cell lines at concentrations commonly found in cardiac patients. **J Nat Prod**, v. 68, n. 11, p. 1642-5, 2005.
- (8) KOMETIANI, P.; LIU, L.; ASKARI, A. Digitalis-induced signaling by Na⁺/K⁺-ATPase in human breast cancer cells. **Mol Pharmacol**, v. 67, n. 3, p. 929-36, 2005.
- (9) GOMES, C. C.; MOREIRA L.M.; SANTOS V.J.; RAMOS A.S.; LYON J.P.; SOARES C.P.; SANTOS F.V. Assessment of the genetic risks of a metallic alloy used in medical implants. **Genet Mol Biol**, v. 34, n. 1, p. 116-21, 2011.
- (10) MENGER, L.; VACCHELLI E.; KEPP O.; EGGERMONT A.; TARTOUR E.; ZITVOGEL L.; KROEMER G.; GALLUZZI L. Trial watch: Cardiac glycosides and cancer therapy. **Oncoimmunology**, v. 2, n. 2013.