



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS**

**ELIZABETE ARAUJO LEITE SILVA**

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE DE DERIVADOS DE AMINOSELENOFENOS  
SOBRE VIAS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM LINHAGEM CELULAR DE  
CÂNCER PULMÃO**

**RECIFE-PE  
2025**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO ACADÊMICO DE RECIFE  
CIENCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO**

**ELIZABETE ARAUJO LEITE SILVA**

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE DE DERIVADOS DE AMINOSELENOFENOS  
SOBRE VIAS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM LINHAGEM CELULAR DE  
CÂNCER PULMÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso de Ciências  
Biológicas bacharelados da Universidade  
Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico  
de Recife, como requisito à obtenção  
do título de Bacharel em ciências biológicas.

**ORIENTADOR: PROF.DRA MICHELLY PEREIRA**

**COORIENTADOR: MES. THIAGO DOUBERIN**

**RECIFE-PE**

**2025**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Elizabete Araujo Leite.

Investigação da atividade de derivados de aminoselenofenos sobre vias de estresse oxidativo em linhagem celular de câncer de pulmão / Elizabete Araujo Leite Silva. - Recife, 2025.

40 p. : il., tab.

Orientador(a): Michelly Cristiny Pereira

Coorientador(a): Thiago Douberin da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2025.

Inclui referências.

1. Câncer de pulmão. 2. Aminoselenofenos. 3. Estresse oxidativo. 4. Expressão gênica. I. Pereira, Michelly Cristiny. (Orientação). II. da Silva, Thiago Douberin. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

**ELIZABETE ARAUJO LEITE SILVA**

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE DE DERIVADOS DE AMINOSELENOFENOS  
SOBRE VIAS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM LINHAGEM DE CÂNCER DE  
PULMÃO**

TCC apresentado ao Curso de Ciências  
Biológicas da Universidade Federal de  
Pernambuco, Centro Acadêmico de  
Recife, como requisito para a obtenção  
do título de bacharel em Ciências  
Biológicas.

Aprovado em: 01/08/2025

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Coorientador: Me. Thiago Douberin da Silva**  
**UFPE/NUPIT**

---

**Me. João Pedro Alves Gomes**  
**UFPE/NUPIT**

---

**Me. Valéria Moura de Carvalho**  
**UFPE/ NUPIT**

Dedico este trabalho aos meus amados pais.  
Lindalva e Edivaldo, que sempre foram  
os maiores incentivadores do estudo, e que  
juntamente a mim aprenderam a amar a ciência  
na expectativa de vivê-la, ganhando sempre  
a oportunidade de um novo amanhã.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, que em seu infinito amor me sustentou até aqui. Ao longo da jornada me abençoou com sabedoria, paciência e persistência, para que eu chegasse até aqui, para sua honra e glória.

A minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Michelly Cristiny Pereira, expresso minha profunda gratidão por sua orientação firme e generosa ao longo desta caminhada. Sua inteligência, paciência e dedicação foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho, assim como sua capacidade de ensinar com clareza e humanidade. Agradeço, especialmente, por ter me dado uma oportunidade quando eu mais pensei em desistir — seu “sim” foi um gesto de confiança que reacendeu minha esperança e força para continuar. Sua bondade e sensibilidade tornaram essa jornada mais leve e significativa. Levo comigo não só o conhecimento, mas também o exemplo de profissional e ser humano que você representa.

Agradeço ao meu coorientador Thiago Douberin, por toda a dedicação, atenção e apoio ao longo deste trabalho. Sua presença durante a realização dos experimentos foi essencial, não apenas pela orientação técnica, mas também pela paciência e disponibilidade em cada etapa prática. Sua contribuição direta no laboratório me proporcionou segurança e aprendizado, tornando possível a concretização deste estudo. Sou grata pela forma gentil e comprometida com que sempre esteve disposto a me ajudar, mesmo nos momentos mais desafiadores.

Ao Laboratório NUPIT e a todos que o compõem, expresso minha gratidão pelo acolhimento, respeito e ambiente colaborativo que encontrei durante o período de desenvolvimento deste trabalho. Cada pessoa que fez parte dessa convivência contribuiu, de forma direta ou indireta, para meu crescimento acadêmico e pessoal. A receptividade, a troca de experiências e o apoio diário foram fundamentais para que eu me sentisse segura e motivada a seguir em frente. Foi uma honra fazer parte deste espaço de aprendizado e companheirismo.

À minha família, agradeço de coração pelo apoio incondicional durante toda a minha trajetória. À minha mãe e às minhas irmãs, por estarem sempre ao meu lado, oferecendo amor, força e palavras de encorajamento mesmo nos momentos mais difíceis. Ao meu pai, que infelizmente faleceu durante a pandemia, deixo minha eterna saudade e gratidão – sua memória me acompanhou em cada passo e foi fonte de força para que eu não desistisse. Também agradeço aos meus companheiros de quatro patas, Dindin e Filó, que foram meu conforto diário e apoio emocional silencioso, mas essencial, durante as fases mais desafiadoras deste processo.

Por fim, agradeço, com carinho, aos amigos e laços construídos ao longo da graduação, que tornaram essa jornada mais leve, humana e significativa. A convivência, as trocas, os risos e até os momentos de desespero compartilhados foram essenciais para que eu chegasse até aqui com coragem e leveza. Um agradecimento especial a Antônio e Crysване, por estarem presentes em tantos momentos, oferecendo apoio, parceria e amizade sincera. Levarei cada lembrança com muito afeto e gratidão.

“Tu verás o fruto do teu penoso trabalho  
e te alegrarás”.

**Isaías 53:11**

## RESUMO

O câncer de pulmão continua sendo o tipo mais comum de câncer em termos de incidência e mortalidade mundial. Em 2022, estimou-se que aproximadamente 2,48 milhões de novos casos de câncer de pulmão foram diagnosticados globalmente. Desses, cerca de 1,57 milhão ocorreram em homens e 909 mil em mulheres. No mundo, ocupa o primeiro lugar em incidência entre os homens e o terceiro entre as mulheres. É o terceiro mais comum em homens (18.020 casos novos) e o quarto em mulheres no Brasil (14.540 casos novos). É classificado em dois grandes grupos: os carcinomas de pequenas células e os carcinomas de não pequenas células. O câncer de pulmão permanece como uma das principais causas de morte por neoplasias no mundo e, apesar dos avanços na área, o tratamento ainda representa um grande desafio. Medicamentos como a cisplatina são frequentemente utilizados na quimioterapia; contudo, muitos pacientes não respondem adequadamente ou desenvolvem resistência ao longo do tempo. Diante desse cenário, torna-se necessário buscar novas alternativas terapêuticas que sejam mais eficazes e menos tóxicas. Neste trabalho, investigou-se o efeito de dois compostos derivados de aminoselenofenos, CNSE-2 e CNSE-3, sobre células A549, uma linhagem de carcinoma pulmonar humano. Esses compostos têm despertado interesse por apresentarem potencial ação citotóxica e propriedades antioxidantes, que podem contribuir para a inibição do crescimento tumoral. A utilização desses derivados possibilita a análise da ocorrência de estresse oxidativo em linhagens celulares, o qual resulta do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a capacidade antioxidante das células. Para tal, foi realizado o cultivo da linhagem celular A549, seguido da exposição aos compostos CNSE-2 e CNSE-3. Após o tratamento, procedeu-se à extração do RNA total, cuja pureza e concentração foram avaliadas por espectrofotometria (*NanoDrop*). A partir dos dados obtidos, foi realizada a síntese de cDNA e, posteriormente, a quantificação da expressão gênica por PCR em tempo real (RT-qPCR), com foco em genes relacionados ao estresse oxidativo. Os resultados obtidos foram que os compostos CNSE-2 e CNSE-3 modularam positivamente a expressão do gene antioxidante SOD1, porém não conseguiram modular o gene GPX2, demonstrou-se potencial para aplicações terapêuticas futuras, oferecendo novas perspectivas para o tratamento do câncer de pulmão.

**Palavras-chaves:** câncer de pulmão; aminoselenofenos; estresse oxidativo; expressão gênica.

## ABSTRACT

Lung cancer, according to global estimates, is the third most common cancer in men (18,020 new cases) and the fourth in women in Brazil (14,540 new cases). Worldwide, it ranks first in incidence among men and third among women. It is classified into two major groups: small cell carcinomas and non-small cell carcinomas. Lung cancer remains one of the leading causes of cancer-related deaths worldwide, and despite advances in the field, treatment still represents a major challenge. Drugs such as cisplatin are frequently used in chemotherapy; however, many patients do not respond adequately or develop resistance over time. In this context, it is necessary to seek new therapeutic alternatives that are more effective and less toxic. In this study, the effects of two aminoselenophene-derived compounds, CNSE-2 and CNSE-3, were investigated on A549 cells, a human lung carcinoma cell line. These compounds have drawn interest due to their potential cytotoxic activity and antioxidant properties, which may contribute to the inhibition of tumor growth. The use of these derivatives allows for the analysis of oxidative stress occurrence in cell lines, resulting from an imbalance between reactive oxygen species (ROS) production and the antioxidant capacity of the cells. For this purpose, A549 cells were cultured and subsequently exposed to the CNSE-2 and CNSE-3 compounds. After treatment, total RNA was extracted, and its purity and concentration were assessed by spectrophotometry (NanoDrop). Based on the obtained data, cDNA synthesis was performed, followed by gene expression quantification using real-time PCR (RT-qPCR), focusing on genes related to oxidative stress. The results obtained were that the compounds CNSE-2 and CNSE-3 positively modulated the expression of the antioxidant gene SOD1, but were unable to modulate the GPX2 gene, demonstrating potential for future therapeutic applications, offering new perspectives for the treatment of lung cancer.

**Keywords:** lung cancer; aminoselenophenes; oxidative stress; gene expression.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Gráfico 1</b> – Dados de incidência dos principais cânceres no Brasil .....	16
<b>Figura 1</b> – Estádios de câncer e seu tratamento .....	19
<b>Figura 2</b> – Diagrama em formato de ilustração digital científica mostrando o estresse oxidativo e as vias de sinalização redox .....	22
<b>Figura 3</b> – Novos derivados de 2-amino-selenofenos obtidos a partir da molécula 6CNSE .....	25
<b>Quadro 1</b> - Estruturas químicas, rendimentos e características físico-químicas dos 2-aminoselenofenos obtidos.....	29
<b>Gráfico 2</b> – Expressão relativa dos genes SOD1 e GPX2 em células A549 tratadas com diferentes compostos .....	30

## **LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA 1-</b> TABELA DE ANÁLISE ESTATÍSTICA DA EXPRESSÃO RELATIVA DOS GENES SOD1 E GPX2 EM COMPARAÇÃO.....	30
--	----

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	16
2.1 Epidemiologia do câncer de pulmão .....	16
2.2 Tipos de câncer de pulmão .....	17
2.3 Manifestações clínicas e diagnósticos .....	19
2.4 Tratamento .....	20
2.5 Estresse oxidativo .....	21
2.6 Vias de sinalização relacionadas ao estresse oxidativo .....	22
2.7 Compostos aminoselenofenicos .....	25
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	27
3.1 Objetivo geral .....	27
3.2 Objetivo específico .....	27
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	28
4.1 Tipo e local do estudo .....	28
4.2 Obtenção dos compostos .....	28
4.3 Cultura de células .....	29
4.4 Extração de RNA e Síntese de cDNA .....	30
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	32
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	36
<b>7. REFERÊNCIA</b> .....	37

## 1. INTRODUÇÃO

De acordo com as estimativas do Instituto Nacional de Câncer (INCA) para o triênio 2023–2025, o Brasil deverá registrar, em média, aproximadamente 704 mil novos casos de câncer por ano, excluindo os tumores de pele não melanoma. Desses casos, cerca de 32.560 anuais correspondem ao câncer de traqueia, brônquios e pulmão, sendo aproximadamente 18.020 casos em homens e 14.540 em mulheres (INCA, 2023). Esses números evidenciam a relevância do câncer de pulmão no contexto nacional, reforçando seu impacto significativo na saúde pública. A alta incidência e mortalidade associadas a essa neoplasia destacam a necessidade urgente de avanços em medidas preventivas e no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.

A etiologia do câncer de pulmão envolve a interação complexa entre fatores ambientais, genéticos e comportamentais. Entre os fatores ambientais, destaca-se a exposição a poluentes provenientes da queima de biomassas, como a cana-de-açúcar, que libera partículas finas e compostos químicos potencialmente carcinogênicos (FAPESP, 2019; SANTANA et al., 2019). Do ponto de vista genético, variantes hereditárias podem aumentar a suscetibilidade ao desenvolvimento da neoplasia, modulando mecanismos de reparo do DNA e resposta inflamatória (LAM et al., 2012). O tabagismo ativo e a exposição passiva à fumaça do tabaco são considerados os principais fatores de risco para o desenvolvimento do câncer de pulmão, associado a aproximadamente 85% dos casos (INCA, 2023). Por fim, o estilo de vida, incluindo hábitos como tabagismo, dieta inadequada, sedentarismo e consumo excessivo de álcool, atua de forma sinérgica com os fatores ambientais e genéticos, elevando significativamente o risco de carcinogênese pulmonar (KUNZLI et al., 2000; INCA, 2023).

O câncer de pulmão é dividido em dois principais grandes grupos: Câncer de Pulmão de Pequenas Células (CPPC) e Câncer de Pulmão de Não Pequenas Células (CPNPC). O CPNPC abrange o adenocarcinoma, o carcinoma de células escamosas, o carcinoma de grandes células e os carcinomas neuroendócrinos. Nos últimos anos, o diagnóstico vem sendo cada vez mais fundamentado em análises moleculares, as

quais identificam famílias gênicas distintas e eventos mutacionais específicos, caracterizando cada subtipo histológico com alterações moleculares próprias (INCA, 2023).

O CPCNP corresponde a cerca de 85% dos casos de câncer pulmonar, sendo o tipo mais prevalente entre os tumores pulmonares malignos (INCA, 2023). Em estágios avançados, o tratamento mais utilizado envolve a quimioterapia baseada em platinas, especialmente com cisplatina, que atua causando danos ao DNA das células tumorais, levando à apoptose. Embora eficaz, a cisplatina pode gerar efeitos adversos significativos e resistência tumoral (Costa et al., 2021; Schulz et al., 2021).

A carcinogênese é um processo multifásico associado à ocorrência de mutações genéticas e à desregulação da proliferação celular. Um dos fatores centrais nesse processo é o estresse oxidativo, caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e os mecanismos antioxidantes celulares (Sies et al., 2021). Fatores como toxinas, inflamação crônica e radiações aumentam a produção de ROS, como o radical superóxido e o peróxido de hidrogênio, que danificam DNA, lipídios e proteínas, favorecendo a instabilidade genômica e a progressão tumoral (Reuter et al., 2010). O estresse oxidativo também estimula mecanismos pró-tumorais, como a angiogênese e a evasão da apoptose. Apesar de seu papel na carcinogênese, as ROS também participam de funções fisiológicas, como sinalização celular e resposta imune. Por isso, o estudo da extensão de reações de oxi-redução (redox) é fundamental, e terapias antioxidantes vêm sendo estudadas como adjuvantes nos tratamentos oncológicos (Sies et al., 2021). Além das ROS, as espécies reativas de nitrogênio (RNS), como o óxido nítrico, também contribuem para a carcinogênese por meio de danos mitocondriais e alterações celulares, exigindo abordagens terapêuticas mais amplas (Klaunig, 2018).

A carcinogênese do câncer de pulmão envolve múltiplos mecanismos moleculares, incluindo o dano ao DNA causado ROS, que promovem mutações e contribuem para a progressão tumoral. O acúmulo de ROS pode levar à ativação de vias celulares que favorecem a sobrevivência e a proliferação das células cancerígenas.

O câncer de pulmão é uma das principais causas de mortalidade por neoplasias em todo o mundo. Apesar dos avanços nos tratamentos, como a quimioterapia com cisplatina, a eficácia terapêutica ainda é limitada devido à ocorrência frequente de resistência e aos efeitos colaterais significativos, como nefrotoxicidade, neurotoxicidade e ototoxicidade (DONG et al., 2021). Por isso, a busca por novas opções terapêuticas mais eficazes e com menor toxicidade é urgente. Nesse contexto, compostos com propriedades antioxidantes e citotóxicas, como os derivados de aminoselenofenos CNSE-2 e CNSE-3, têm despertado grande interesse. O selênio, micronutriente essencial para diversas funções metabólicas e enzimáticas, está relacionado à proteção celular contra danos oxidativos, e sua deficiência tem sido associada ao aumento do risco de desenvolvimento de câncer (Narod et al., 2019).

Estudos anteriores demonstraram que os selenofenos possuem atividade citotóxica em células tumorais de diferentes origens, incluindo câncer de mama (Luo, 2017) e próstata (Yildirim, 2021), o que justifica a investigação de seus efeitos no câncer de pulmão. A avaliação da influência desses derivados nas vias de estresse oxidativo é fundamental, uma vez que o desequilíbrio redox celular está intimamente ligado à carcinogênese e à resistência a tratamentos. Para isso, focou-se na análise da expressão dos genes SOD1 e GPX2, que codificam enzimas antioxidantes cruciais na neutralização das EROS. Embora existam outras proteínas envolvidas nessa via, SOD1 e GPX2 são marcadores amplamente utilizados para indicar alterações no sistema antioxidante celular, permitindo avaliar o potencial modulador dos compostos testados no estresse oxidativo associado ao câncer de pulmão (Yildirim, 2021).

Adicionalmente, estudos sobre os selenofenos demonstraram atividade citotóxica em células neoplásicas (Shiah, 2007; Csuk, 2013), incluindo o câncer de mama (Luo, 2017) e o de próstata (Yildirim, 2021), se tornando interesse deste estudo para o câncer de pulmão. Assim, sua inclusão no presente estudo visa investigar os efeitos biológicos de derivados de aminoselenofenos sobre as vias de estresse oxidativo em uma linhagem celular de câncer de pulmão humano. Para tanto, serão avaliados aspectos fundamentais: o efeito dos derivados na expressão dos genes SOD e GPX2 da via do estresse oxidativo.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

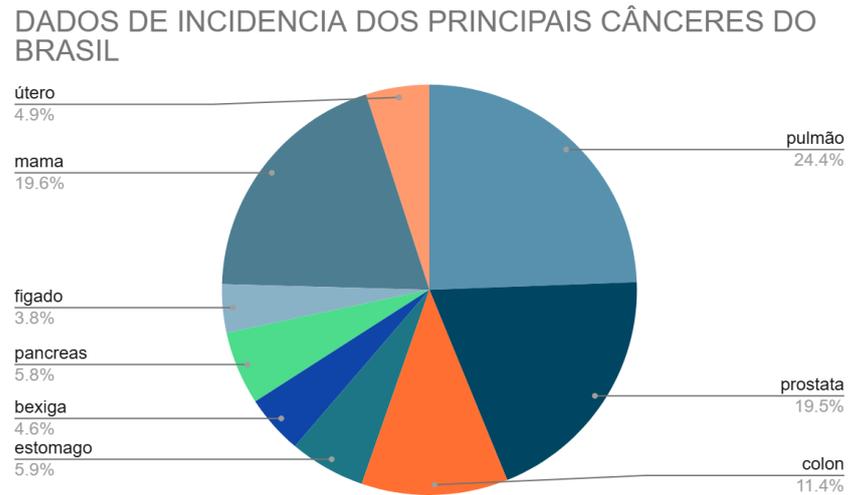
### 2.1 Epidemiologia do câncer de pulmão

O câncer de pulmão destaca-se como uma das principais neoplasias no Brasil, com estimativas de 44.213 novos casos em homens e 38.292 em mulheres em 2020, apresentando taxas padronizadas por idade (ASR) de 20,5 e 12,5 por 100 mil habitantes, respectivamente (Iarc, 2020). Embora o câncer de próstata seja o mais incidente entre os homens, com 65.840 casos, e o câncer de mama liderando entre as mulheres, com 66.280 casos, o câncer de pulmão permanece como uma das neoplasias com maior mortalidade, refletindo a sua gravidade clínica. Outros tipos comuns incluem o câncer de cólon e reto, com incidência significativa em ambos os sexos, e o câncer de estômago e fígado, que também apresentam relevância epidemiológica. Essas diferenças na incidência e distribuição entre os gêneros evidenciam a necessidade de estratégias específicas de prevenção, diagnóstico precoce e tratamento para cada tipo de câncer (Inca, 2023).

Ainda que o câncer de pulmão continue entre os de maior mortalidade, as taxas de sobrevivência são bastante baixas: globalmente cerca de 19 % dos pacientes sobrevivem cinco anos após o diagnóstico. No Brasil, esse percentual é levemente menor (em torno de 18 %), sendo 15 % nos homens e 21 % nas mulheres. Essa diferenciação reflete maior detecção precoce no público feminino. No entanto, quando o câncer é identificado ainda em fase localizada, as chances melhoram significativamente — chegando a 56 % de sobrevivência em cinco anos (Observatório de oncologia, 2021).

Embora o câncer de próstata seja o mais incidente entre os homens, com 65.840 casos, e o câncer de mama liderando entre as mulheres, com 66.280 casos, o câncer de pulmão permanece como uma das neoplasias com maior mortalidade, refletindo a sua gravidade clínica. Outros tipos comuns incluem o câncer de cólon e reto, com incidência significativa em ambos os sexos, e o câncer de estômago e fígado, que também apresentam relevância epidemiológica. Essas diferenças na incidência e distribuição entre os gêneros evidenciam a necessidade de estratégias específicas de prevenção, diagnóstico precoce e tratamento para cada tipo de câncer (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Dados de incidências principais de cânceres no Brasil.



Fonte: Globocan 2020.

Embora o tabagismo esteja comumente associado ao risco principal de desenvolvimento da neoplasia pulmonar, apenas 15% dos fumantes desenvolvem a doença, pois a proporcionalidade entre os casos pode estar relacionada à intensidade do fumo. Outros fatores de riscos incluem dieta inadequada, consumo de álcool, histórico familiar com outras neoplasias, doença pulmonar obstrutiva crônica, tuberculose, exposição ao amianto e radônio, mutações e exposição ambiental que podem estar associados às taxas mais altas dessa neoplasia (Nasim et al., 2019).

## 2.2 Tipos de câncer de pulmão

De forma geral, o câncer de pulmão é dividido em dois grandes grupos: os carcinomas de pequenas células (*oat cell carcinomas*) e os carcinomas de não pequenas células (*non-oat cell carcinomas*). Os principais subtipos histológicos do câncer de pulmão incluem adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas, carcinoma de grandes células e tumores neuroendócrinos. A classificação moderna desses subtipos tem se beneficiado dos avanços em biologia molecular, que possibilitam a detecção de mutações específicas e perfis genéticos distintos, auxiliando no diagnóstico preciso e na escolha de tratamentos direcionados para cada categoria tumoral (Inca, 2023).

O CPPC apresenta crescimento acelerado, elevada capacidade de disseminação e alta incidência de metástase cerebral. Embora responda de forma intensa aos tratamentos disponíveis, a taxa de cura permanece baixa (Inca, 2023). É um tipo agressivo e de crescimento rápido, representando cerca de 10 a 15% dos casos de câncer de pulmão. Ele é fortemente associado ao tabagismo e caracteriza-se por células pequenas e pouco diferenciadas que se espalham rapidamente para os linfonodos e outros órgãos. Devido à sua agressividade, o CPPC geralmente é diagnosticado em estágios avançados, o que dificulta o tratamento. O manejo clínico inclui quimioterapia e radioterapia, sendo que a cirurgia raramente é indicada. A sobrevida média é baixa, reforçando a importância da detecção precoce e do controle do tabagismo (Pubmed,2023)

O CPNPC representa aproximadamente 85% de todos os casos dessa neoplasia. Embora tenha um crescimento mais lento em comparação ao câncer de pulmão de pequenas células, estima-se que, em cerca de 40% dos casos diagnosticados, a doença já tenha se disseminado para regiões extratorácicas. O diagnóstico precoce é fundamental para melhores prognósticos, e o tratamento pode envolver cirurgia, quimioterapia, radioterapia e terapias-alvo, dependendo do estágio e das características moleculares do tumor. Avanços em medicina personalizada têm possibilitado abordagens terapêuticas mais eficazes, melhorando a sobrevida e a qualidade de vida dos pacientes (Instituto vencer o câncer, 2024)

O estadiamento é um processo que descreve aspectos fundamentais do câncer, como a localização primária do tumor, seu grau de disseminação e os efeitos sobre a função de outros órgãos. A determinação do estágio da doença é essencial tanto para a escolha do tratamento mais apropriado quanto para a estimativa do prognóstico do paciente. Estadiar significa, portanto, avaliar a extensão da doença no organismo (Inca, 2023). O sistema TNM é uma classificação amplamente utilizada para descrever a extensão anatômica dos tumores malignos, sendo essencial para o estadiamento, planejamento terapêutico e prognóstico do câncer. Ele avalia três parâmetros principais: o tamanho e a extensão local do tumor primário (T), a presença e o grau de envolvimento dos linfonodos regionais (N) e a existência de metástases à distância (M). O parâmetro T é graduado conforme o volume tumoral e a invasão a estruturas vizinhas, enquanto o N indica a extensão da disseminação para os

linfonodos próximos. Já o M refere-se à presença ou ausência de metástases em órgãos distantes, como fígado, ossos ou cérebro. A combinação desses elementos resulta no estadiamento clínico ou patológico, que orienta as decisões terapêuticas e auxilia na previsão do prognóstico do paciente (Ajcc, 2017).

### 2.3 Manifestações clínicas e diagnóstico

Os sinais e sintomas do câncer de pulmão variam conforme a extensão local do tumor, a ocorrência de metástases e as síndromes paraneoplásicas associadas. Clinicamente, os tumores centrais tendem a se manifestar por tosse persistente, hemoptise e pneumonias de repetição. Também são comuns dispneia, sibilância localizada e febre (Kumar; Abbas; Aster, 2021).

Nos tumores de localização periférica, geralmente não há sintomas respiratórios significativos nas fases iniciais, devido à origem em vias aéreas de pequeno calibre. No entanto, quando há invasão da parede torácica ou do mediastino, surgem manifestações como dor torácica, disfonia, paralisia frênica e síndrome da veia cava superior (Mason et al., 2016). Os sintomas decorrentes de metástases dependem do(s) órgão(s) acometido(s), podendo incluir dor óssea, sintomas neurológicos, alterações hepáticas e outros, a depender do sítio secundário envolvido (Devita; Lawrence; Rosenberg, 2019).

O diagnóstico do câncer de pulmão envolve uma abordagem multidisciplinar que integra dados clínicos, exames de imagem e procedimentos invasivos para confirmação histológica. Inicialmente, a suspeita clínica é levantada a partir de sintomas respiratórios persistentes, como tosse crônica, hemoptise e dor torácica, associados a fatores de risco, principalmente o tabagismo (Schulz et al., 2021). A tomografia computadorizada (TC) de tórax com contraste é o método de escolha para avaliação inicial, possibilitando a detecção precoce de lesões e a definição do estadiamento (Goldstraw et al., 2021).

Para confirmação diagnóstica, a biópsia por broncoscopia ou guiada por TC é fundamental, permitindo análise histopatológica e imunohistoquímica, essenciais para a classificação do tipo celular e definição do tratamento (Peterson; Burns, 2022). Além

disso, exames complementares como Tomografia por Emissão de Pósitrons associada à Tomografia Computadorizada (PET-CT) auxiliam na avaliação de metástases e planejamento terapêutico (Schulz et al., 2021). O uso de biomarcadores moleculares tem ganhado destaque recentemente, auxiliando na seleção de terapias-alvo personalizadas, principalmente em CPCNP (Goldstraw et al., 2021).

## 2.4 Tratamento

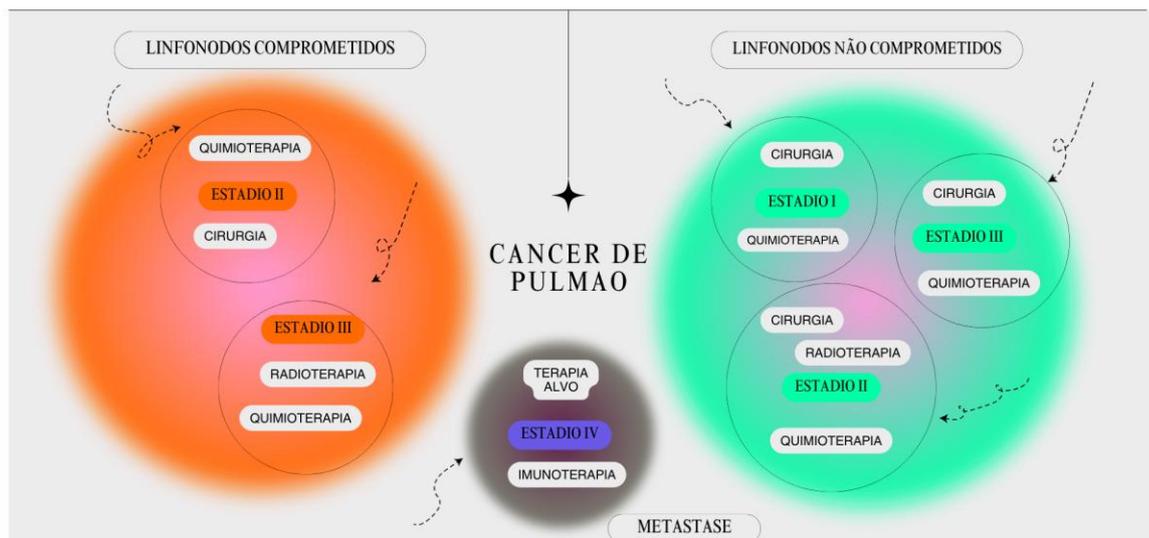
O tratamento do câncer de pulmão depende do tipo histológico, estágio da doença, estado geral do paciente e extensão do tumor. Para o CPCNP, que representa cerca de 85% dos casos, as opções terapêuticas incluem cirurgia, radioterapia, quimioterapia, terapias alvo-dirigidas e imunoterapia (Devita; Lawrence; Rosenberg, 2019).

Pacientes nos estágios I e II devem ser submetidos a ressecção cirúrgica completa, sempre que possível. Os pacientes no estágio II devem receber quimioterapia adjuvante, ou seja, pós-operatória, uma vez que esse tratamento aumenta a sobrevida desses pacientes (Mason et al., 2016).

Em pacientes com CPCNP em estágio IV, o tratamento sistêmico é guiado principalmente por terapias-alvo voltadas a mutações específicas, como EGFR, ALK, ROS1, RET e MET. Inibidores moleculares, como o osimertinibe (EGFR), ensartinibe (ALK) e repotrectinibe (ROS1), vêm sendo incorporados como primeira linha de tratamento, com aprovações recentes entre 2023 e 2024 (Gadgeel et al., 2023; LIU et al., 2024).

No CPPC, caracterizado por rápida progressão e alta agressividade, o tratamento padrão consiste em quimioterapia combinada com radioterapia, aproveitando a elevada sensibilidade da doença a essas modalidades. Em casos muito precoces, a cirurgia pode ser considerada (Devita; Lawrence; Rosenberg, 2019).

Figura 1-Estadiamento do câncer de pulmão e seu tratamento.



Fonte: Adaptado do instituto vencer o câncer.

## 2.5 Estresse oxidativo

O estresse oxidativo é definido como um desequilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade antioxidante das células de neutralizá-las, resultando em danos aos componentes celulares essenciais (Sies; Berndt; Jones, 2021). As EROs são moléculas altamente reativas, incluindo radicais livres como o ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o radical hidroxila ( $\bullet OH$ ) e moléculas não radicais como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), geradas principalmente nas mitocôndrias durante o metabolismo energético celular, além de outras fontes como enzimas oxidativas, radiação e agentes ambientais (Klaunig, 2018; Sies; Berndt; Jones, 2021).

Embora as EROs desempenhem funções fisiológicas importantes na sinalização celular e no sistema imunológico, seu excesso provoca danos oxidativos a lipídios, proteínas e DNA. A oxidação lipídica compromete a integridade das membranas celulares, enquanto a modificação de proteínas pode alterar sua estrutura e função, afetando processos vitais da célula (Reuter et al., 2010). Já os danos ao

DNA induzidos pelas EROs incluem quebras de fita simples e dupla, alterações em bases nitrogenadas e mutações pontuais, que contribuem para a instabilidade genômica – uma característica chave da carcinogênese (Klaunig, 2018).

No câncer, o estresse oxidativo exerce papel duplo. Por um lado, induz mutações e alterações genéticas que ativam oncogenes e inativam genes supressores tumorais, promovendo a transformação maligna das células (Reuter et al., 2010). Por outro lado, o microambiente tumoral geralmente apresenta níveis elevados de estresse oxidativo crônico, que favorecem a ativação de vias de sinalização que estimulam a proliferação celular, resistência à apoptose, angiogênese e invasão metastática (Sies; Berndt; Jones, 2021). Fatores de transcrição como NF- $\kappa$ B e HIF-1 $\alpha$  são ativados por ROS, modulando a expressão gênica relacionada à inflamação, sobrevivência celular e adaptação ao estresse (Klaunig, 2018).

O organismo contrabalança a ação das EROs por meio de sistemas antioxidantes, incluindo enzimas como a superóxido dismutase, catalase e glutationala peroxidase, e antioxidantes não enzimáticos, como vitaminas C e E e selênio. Entretanto, quando esse sistema de defesa falha ou é sobrecarregado, o estresse oxidativo se estabelece e contribui para a carcinogênese (Sies; Berndt; Jones, 2021). Devido ao papel fundamental do estresse oxidativo no câncer, pesquisas têm focado no desenvolvimento de terapias que modulam o estado redox celular. O uso de agentes antioxidantes, inibidores das fontes de ROS e drogas que modulam vias de sinalização ativadas pelo estresse oxidativo são estratégias promissoras, embora ainda necessitem de maior validação clínica (Reuter et al., 2010)

## 2.6 vias de sinalização relacionadas ao estresse oxidativo

O estresse oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade antioxidante da célula. Uma das vias mais estudadas nesse contexto é a Nrf2/Keap1, responsável por coordenar a resposta antioxidante. Em condições fisiológicas, o fator de transcrição Nrf2 permanece inibido no citoplasma pela proteína Keap1, que promove sua ubiquitinação e degradação via proteossoma. Em presença de EROs, essa interação é desfeita, permitindo que o Nrf2 transloque-se ao núcleo e ative genes como NQO1, HO-1, SOD, CAT e GPx, essenciais para neutralizar o estresse oxidativo (Ma, 2013). No entanto,

em tumores como o câncer de pulmão, a ativação crônica da via Nrf2 pode conferir resistência a quimioterápicos, dificultando a eficácia terapêutica (Ma, 2013).

A via MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases) também é amplamente modulada por EROs. Essa família de proteínas inclui as sub-vias ERK, JNK e p38, que respondem a estímulos ambientais, inflamatórios e oxidativos. Por exemplo, o acúmulo de espécies reativas ativa JNK e p38, favorecendo a apoptose, enquanto a ativação da ERK promove sobrevivência celular e proliferação, principalmente em células tumorais (Kim et al., 2020). No câncer de pulmão, o papel da via MAPK é ambíguo: enquanto pode induzir morte celular sob forte estresse oxidativo, também pode sustentar o crescimento tumoral em condições adaptativas (Kim et al., 2020). Assim, compostos que modulam seletivamente essas vias têm sido considerados promissores como terapias antitumorais.

Outra via essencial no controle do estresse oxidativo é a PI3K/Akt, que regula processos como metabolismo, crescimento, sobrevivência e resposta ao dano. Essa via é ativada por receptores tirosina-quinase e responde ao ambiente redox por meio da fosforilação da proteína Akt. Sob altos níveis de EROs, essa fosforilação pode ser bloqueada, inibindo a via e induzindo apoptose (Manning; Cantley, 2007). Entretanto, em muitos tumores, incluindo o câncer de pulmão, essa via está constitutivamente ativada, promovendo expressão de enzimas antioxidantes como thioredoxina e aumentando a resistência celular a fármacos (Manning; Cantley, 2007). Isso faz da via PI3K/Akt um alvo central em pesquisas com compostos redoxativos.

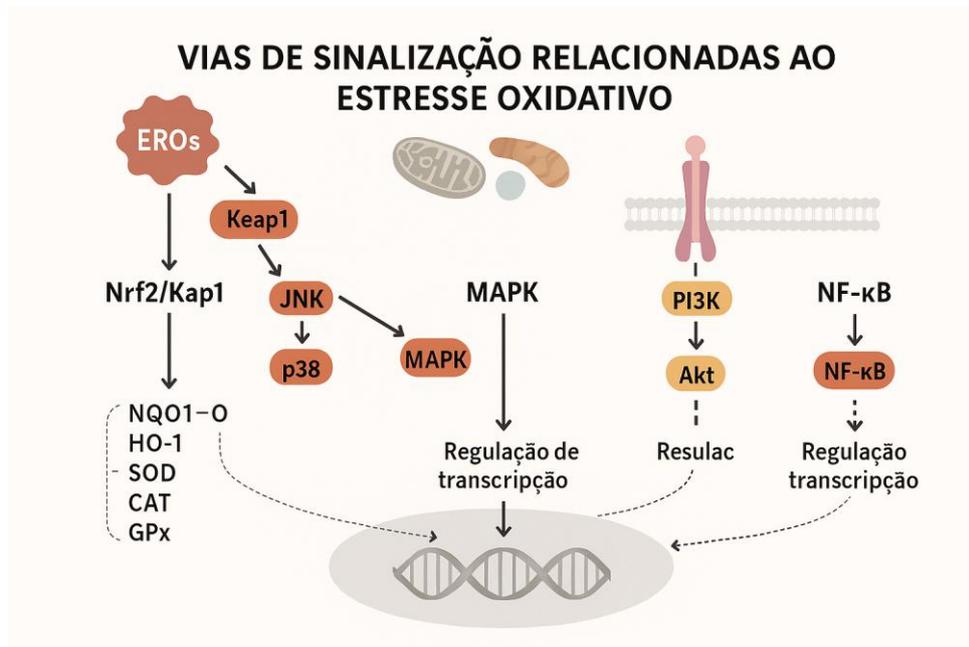
Por fim, a via NF- $\kappa$ B tem papel central na resposta inflamatória e na adaptação celular ao estresse oxidativo. Normalmente inativa no citoplasma pela interação com a proteína inibitória I $\kappa$ B, essa via é ativada por estímulos como EROs e citocinas. Uma vez ativado, o NF- $\kappa$ B transloca-se ao núcleo e regula a transcrição de genes relacionados à inflamação, proliferação e inibição da apoptose (Li; Sharma, 2016). Em muitos tipos de câncer, incluindo o de pulmão, a ativação persistente do NF- $\kappa$ B contribui para a progressão tumoral e evasão da resposta imune. No entanto, o acúmulo excessivo de EROs pode inibir a via por oxidação de componentes críticos, promovendo efeitos antitumorais (Li; Sharma, 2016).

A via de sinalização abordada no trabalho foi a via antioxidante desempenha um papel crucial na manutenção do equilíbrio redox celular, protegendo as células contra os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (ROS). Quando ocorre um aumento na produção de ROS, são ativados mecanismos celulares que induzem a expressão de genes codificadores de enzimas antioxidantes, responsáveis pela neutralização desses radicais livres e pela restauração da homeostase (SIES, 2017). Entre essas enzimas, destacam-se a superóxido dismutase 1 (SOD1) e a glutathiona peroxidase 2 (GPX2).

O gene SOD1 codifica uma enzima que catalisa a conversão do radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), uma molécula menos reativa, que pode ser posteriormente degradada por outras enzimas antioxidantes. Por sua vez, o gene GPX2 codifica uma glutathiona peroxidase que reduz o peróxido de hidrogênio e outros peróxidos lipídicos, utilizando glutathiona como doadora de elétrons, contribuindo para a proteção contra o estresse oxidativo (Fink; Stamler, 2020).

Essas enzimas são essenciais para a defesa celular contra danos oxidativos que podem levar à mutagenicidade, disfunção celular e morte, processos relacionados à carcinogênese. Portanto, a regulação da expressão de SOD1 e GPX2 é um indicativo importante da capacidade antioxidante da célula e do seu estado frente ao estresse oxidativo (Sies, 2017; Fink; Stamler, 2020).

Figura 2- Vias de sinalização do estresse oxidativo.



Fonte: Figura reproduzida de SHAH et al. (2021).

## 2.7 Compostos aminoselenofenicos

Os compostos aminoselenofênicos pertencem à classe dos organosselênio, contendo em sua estrutura um anel selenofênico (um heterociclo aromático com selênio no lugar de um dos carbonos do anel) funcionalizado com grupos amina (-NH<sub>2</sub>) em posições específicas da cadeia. Essa combinação confere a esses compostos uma elevada reatividade redox e permite a interação com diversos alvos moleculares celulares. Segundo Csuk (2013), a presença do selênio nesses compostos favorece reações de oxidorredução que influenciam a geração EROs, tornando-os relevantes como agentes anticancerígenos. Além disso, modificações estruturais com grupos ciano, nitro ou alquilamina nas posições do anel podem melhorar a estabilidade química e atividade biológica, aumentando a seletividade contra células tumorais.

O interesse farmacológico nos aminoselenofenos aumentou devido à sua capacidade de modular vias de sinalização celular envolvidas na sobrevivência tumoral, como PI3K/Akt e Nrf2/Keap1. Estudos demonstram que esses compostos podem inibir a proliferação celular e induzir apoptose por meio da desregulação da homeostase redox e estresse oxidativo seletivo em células (Adimulam et al., 2019; Shiah, 2004). Essa ação está associada à elevação controlada dos níveis de EROs

intracelulares, o que leva à ativação de mecanismos pró-apoptóticos. Além disso, a modulação da expressão de genes relacionados ao sistema antioxidante, como GPx (glutathiona peroxidase), SOD (superóxido dismutase) e CAT (catalase), contribui para o desequilíbrio oxidativo em células cancerígenas, sem afetar significativamente células saudáveis.

Além da citotoxicidade seletiva, compostos aminoselenofênicos também exibem propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e neuroprotetoras, sendo estudados como agentes terapêuticos multifuncionais (Jukic; Spengeler; Siewiesiuk, 2022). A estrutura do anel selenofênico permite a interação com resíduos nucleofílicos em proteínas e enzimas celulares, atuando como inibidores de tiol-redutases e moduladores da via redox mitocondrial. Outro ponto relevante é que, devido à sua lipofilicidade moderada, esses compostos podem atravessar membranas celulares com maior facilidade, favorecendo sua distribuição intracelular e permitindo o alcance de compartimentos subcelulares como mitocôndrias e núcleo (Lim et al., 2018; Wang et al., 2023; Silva; Pereira, 2022).

Por fim, a pesquisa com derivados aminoselenofênicos está em expansão, e novas estratégias sintéticas vêm sendo utilizadas para aumentar sua biodisponibilidade, reduzir efeitos adversos e aumentar a especificidade tumoral. Em modelos *in vitro* de câncer de pulmão (como A549), alguns desses compostos demonstraram eficácia significativa, com redução da viabilidade celular acima de 50% com IC<sub>50</sub> de 19,14 e 8,47 micromolar para os compostos 6CNSE2 e 6CNSE 3 respectivamente, além de alterações significativas em ROS nas células tratadas com os compostos testados, em comparação com o controle. Esse aumento indica que os compostos induziram um estado de estresse oxidativo, sugerindo que sua ação pode estar relacionada à modulação do equilíbrio redox celular. A elevação das ROS pode desencadear danos celulares e ativar vias de sinalização associadas à apoptose ou outros mecanismos de morte celular, o que pode ser um dos efeitos terapêuticos dos compostos analisados. (Csuk, 2013; Adimulam et al., 2019). A perspectiva futura é que os aminoselenofenos possam integrar terapias combinadas com quimioterápicos convencionais, oferecendo uma abordagem mais eficaz e menos tóxica para o tratamento de diversos tipos de câncer.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar o efeito de dois derivados aminoselenofenos sobre a modulação dos genes da via do estresse oxidativo no câncer de pulmão.

#### **3.2 Objetivo específico**

- Verificar se os derivados modulam a expressão dos genes antioxidantes SOD1,GPX2.
- Identificar os derivados promissores para possíveis aplicações terapêuticas

## 4. METODOLOGIA

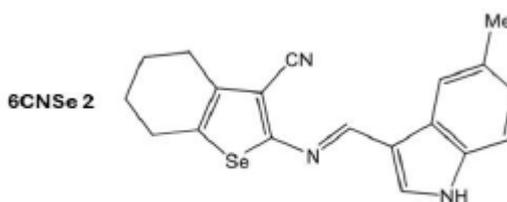
### 4.1 Tipo e local do estudo

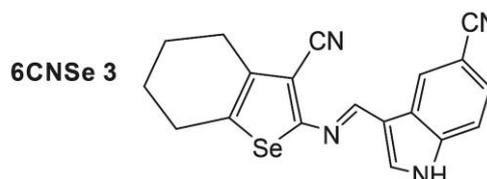
Esse é um estudo do tipo experimental e analítico. A linhagem tumoral A549 (adenocarcinoma de pulmão) foi utilizada, do Laboratório de Imunomodulação e Novas Abordagens Terapêutica (LINAT) da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE e estas foram obtidas do banco de célula BCRJ. E o experimento foi realizado no laboratório do NUPIT.

### 4.2 Obtenção dos compostos

A molécula 6CNSe (Figura 3) foi sintetizada por meio da Reação de Gewald, que consiste em um método sintético utilizado para a preparação de tiopiridinas e seus derivados, que são compostos heterocíclicos contendo enxofre. Essa reação envolve a condensação de uma cetona ou aldeído com cianeto de alfa-cetoéster e enxofre elementar na presença de uma base, formando anéis heterocíclicos contendo enxofre em uma única etapa. Esta reação é amplamente empregada na síntese de compostos bioativos, incluindo agentes farmacêuticos e intermediários químicos. Posteriormente, foi submetida a reações de condensação com aldeídos para a obtenção dos derivados híbridos: 6CNSe 2 e 6CNSe 3. Os procedimentos de síntese das moléculas foram realizados no Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), que contou com a supervisão do Prof<sup>o</sup>. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior, e em colaboração com o NUPIT-SG, disponibilizou-as para os ensaios propostos neste projeto de pesquisa.

Figura 3: Novos derivados de 2-amino-selenofenos obtidos a partir da molécula 6CNSe.





As estruturas químicas, características físico-químicas e rendimento estão descritas no quadro abaixo:

Quadro 1 – Estruturas químicas, rendimentos e características físico-químicas dos 2-aminoselenofenos obtidos.

CÓDIGO	R <sup>1</sup>	X	Fórmula molecular	MM (g/mol)	Aparência Cristal	Faixa Fusão (°C)	R <sub>f</sub> #	Rend. (%)	
<b>6CNSe2</b>	4- NO <sub>2</sub>	CH	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> Se	397	Laranja-avermelhado	<b>280°C</b>	0,74	45%	
<b>6CNSe3</b>	7- Me	CH	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> Se	366	Amarelo-esverdeado	<b>250°C</b>	0,80	37%	

### 4.3 Cultura de células

Foi utilizada a linhagem A549 (carcinoma de pulmão de não pequenas células) que estava disponível no banco de células BCRJ. O cultivo da célula foi realizado em meio DMEM HIGH Glucose (Dulbecco's Modified Eagle Medium com alto teor de glicose). O meio de cultura foi suplementado com 10% de Soro Bovino Fetal e a

linhagem mantida em estufa úmida a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. A manutenção foi realizada sempre que atingida a confluência necessária das células, de acordo com as recomendações da ATCC (American Type Culture Collection).

A viabilidade celular foi avaliada por ensaio de MTT, baseado na conversão do sal em formazan por mitocôndrias ativas. Células A549 ( $7 \times 10^3/100 \mu\text{L}$ ) foram cultivadas em placas de 96 poços e após 24 horas foram tratadas com derivados 2-amino selenofenos (1, 10, 50 e 100  $\mu\text{M}$ ) por 72 horas. Após incubação com MTT por 3 horas e solubilização com SDS a 20%, a absorbância foi lida a 570 nm em um espectrofotômetro. O IC<sub>50</sub> foi calculado utilizando o DMSO a partir de três experimentos independentes no software GraphPad (*Estudo não publicado*)

A linhagem tumoral também foi cultivada em placa de 24 poços, na densidade de  $3 \times 10^4$  células/poço, mantidas na estufa de CO<sub>2</sub> e após 24 horas de adesão, foram tratadas com os respectivos valores de IC<sub>50</sub> dos compostos 6CNSe2 e 6CNSe3 por 24 e 48 horas. Ao final do tratamento, apenas as células aderidas foram utilizadas para avaliação da produção de ERO, por marcação com dihidroetídio (DHE – 4  $\mu\text{M}$ ). As células foram incubadas por 25 minutos a 37°C, seguidas da adição de 400  $\mu\text{L}$  de PBS 1x e centrifugação a 2000 rpm por 2 minutos. Os pellets celulares foram ressuspensos em 200  $\mu\text{L}$  de PBS 1x e imediatamente acondicionados no gelo para análise em citômetro de fluxo Attune (Thermo Fisher Scientific). A análise dos dados foi conduzida utilizando o software FlowJo versão 10 (*estudo não publicado*).

As linhagens tumorais foram cultivadas em placas de 12 poços ( $7 \times 10^4$ /poço) e, após 24h, foram tratadas com DMSO(4,5), CISPLATINA (18,906) e os respectivos valores de IC<sub>50</sub> dos compostos 6CNSe 2 e 6CNSe 3 por um período de 24 e 48h. Em seguida, Trizol® (Invitrogen, UK) foi adicionado às células pós-tratamento e logo em seguida, armazenadas em freezer a -80°C até a realização da extração do RNA.

#### 4.4 Extração de RNA e Síntese de cDNA

Para iniciar a etapa de extração, as amostras foram expostas à temperatura ambiente durante 5 minutos para promover a completa dissociação do complexo de proteínas do núcleo. Após o degelo, foi adicionado às amostras 150  $\mu\text{L}$  de clorofórmio e em seguida foram homogeneizadas e submetidas a uma centrifugação de 12000 rpm por 15 minutos a 4°C. Após a primeira centrifugação, a solução aquosa localizada

no sobrenadante (onde encontra-se o RNA) foi transferida para um novo eppendorf no qual foi adicionado 375 uL de isopropanol a 100%. As amostras foram incubadas em overnight.

Em seguida, as amostras foram descongeladas por 10 min a temperatura ambiente e depois centrifugadas a 12000 rpm por 10 min a 4°C para a precipitação do pellet. Depois o sobrenadante foi descartado, e o pellet foi lavado com 750 uL de etanol a 75%, e centrifugado a 7500 rpm durante 5 min a 4°C. Em seguida, o sobrenadante foi descartado, e os tubos colocados para secar durante pelo menos 3 horas. Depois as amostras foram ressuspensas com 15 uL de água RNase free e incubadas em banho seco por 10-15 min a 55°C. O material obtido foi quantificado no Nanodrop® (ThermoFisher) e armazenado a -80°C.

Para a síntese do cDNA, foi utilizado 500ng de RNA utilizando o kit de transcrição reversa cDNA High Capacity (Applied Biosystems) seguindo as recomendações do fabricante.

#### 4.5 Avaliação da expressão gênica por RT-QPCR

A expressão gênica foi realizada pela reação em cadeia de polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR), utilizando o método TaqMan (Applied Biosystems) em um termociclador QuantStudio™ 5 (Applied Biosystems). As condições de ciclagem foram de 95°C por 10 min, seguidos de 40 ciclos de 95°C a 15 seg e 63°C por 1 min. O gene GAPDH (Hs02786624\_g1) foi usado como controle endógeno. Os genes SOD1 (Hs00533490\_m1) e GPX2 (Hs01591589\_m1) foram avaliados.

#### 4.6 Análise estatística

A expressão dos resultados das variáveis contínuas foi realizada por média e desvio-padrão. Para verificar possíveis diferenças entre os meios, foi utilizado o teste "t" do Student para amostras independentes, quando a distribuição foi gaussiana. Nos casos em que o conjunto amostral não passou no teste de normalidade, foi utilizado o teste t não paramétrico de Mann-Whitney. O software utilizado para essas análises foi o GraphPad Prism 5 utilizando o valor de p como significância.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gráfico 2 e a Tabela 2 apresentam, respectivamente, a quantificação da expressão gênica relativa dos genes antioxidantes SOD1 e GPX2, normalizada por GAPDH, e a análise estatística comparando o grupo controle de células não tratadas (NT) com os grupos experimentais de células A549 tratadas com DMSO, cisplatina (CIS), CNSe2 e CNSe3.

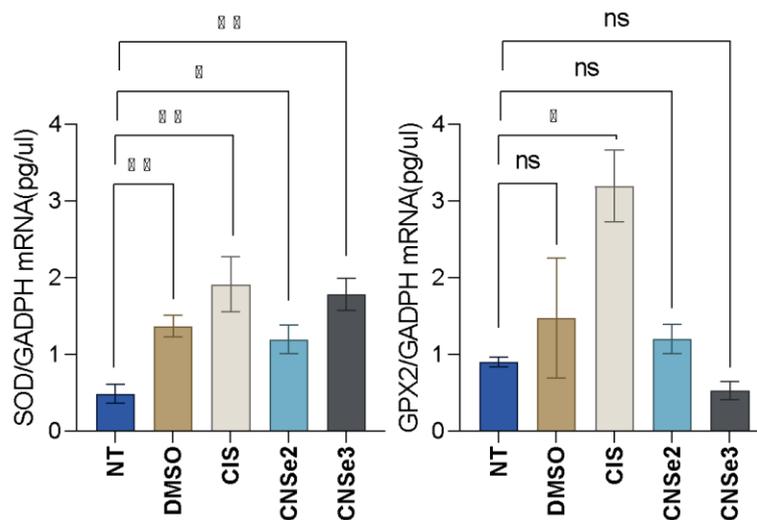
No gráfico referente à expressão de SOD1 (painel esquerdo do gráfico 2), observa-se um aumento significativo da expressão gênica em todos os grupos tratados quando comparados ao grupo NT. Essa elevação é confirmada pela análise estatística apresentada na Tabela Y, com p-valores menores que 0,05 para todos os tratamentos: DMSO ( $p = 0,0027$ ), CIS ( $p = 0,0095$ ), CNSe2 ( $p = 0,0228$ ) e CNSe3 ( $p = 0,0017$ ). Esses resultados indicam que a exposição aos compostos testados, bem como ao veículo DMSO, foi capaz de induzir a expressão de SOD1, possivelmente como resposta ao estresse oxidativo gerado. A enzima SOD1 atua na conversão do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio, sendo essencial na primeira linha de defesa antioxidante da célula.

Por outro lado, a expressão do gene GPX2 (painel direito da figura) apresentou comportamento distinto. A análise gráfica mostra uma elevação aparente da expressão no grupo tratado com cisplatina; no entanto, os grupos CNSe2 e CNSe3 apresentaram níveis de expressão mais baixos, próximos ao controle. A Tabela Y confirma essas observações com os resultados estatísticos: apenas o grupo CIS apresentou aumento significativo da expressão de GPX2 em relação ao NT ( $p = 0,0125$ ), enquanto os demais grupos — DMSO ( $p = 0,5476$ ), CNSe2 ( $p = 0,3200$ ) e CNSe3 ( $p = 0,0729$ ) — não demonstraram significância estatística.

Esses dados demonstram que os compostos derivados de aminoselenofeno (CNSe2 e CNSe3) modulam de forma diferenciada a expressão dos genes antioxidantes avaliados. Enquanto ambos promovem a indução significativa de SOD1, eles não afetam significativamente a expressão de GPX2, sugerindo que essas moléculas podem ativar seletivamente vias antioxidantes específicas. Esse padrão também destaca a importância de avaliar múltiplos alvos antioxidantes, pois a

resposta celular ao estresse oxidativo pode envolver diferentes mecanismos de proteção conforme o estímulo químico.

Gráfico 2- Expressão relativa dos genes SOD1 e GPX2 em células A549 tratadas com diferentes compostos.



Fonte: A autora.

Tabela 2- Análise estatística da expressão relativa dos genes SOD1 e GPX2 em comparação ao grupo controle (NT).

SOD	Simbologia	<i>p-value</i>	GPX2	Simbologia	<i>p-value</i>
NTxDMSO	**	0,0027	NTxDMSO	ns	0,5476
NTxCIS	**	0,0095	NTxCIS	*	0,0125
NTxCNSe2	*	0,0228	NTxCNSe2	ns	0,3200
NTxCNSe3	**	0,0017	NTxCNSe3	ns	0,0729

Os resultados obtidos neste estudo indicam que os compostos derivados de aminoselenofenos CNSE-2 e CNSE-3 modulam a expressão dos genes antioxidantes SOD1 e GPX2 de forma diferenciada, com aumento significativo da expressão de SOD1 e ausência de alteração relevante em GPX2. A elevação da expressão de SOD1 sugere que as células A549 respondem ao estresse oxidativo provocado pelos compostos por meio da ativação de mecanismos de defesa antioxidante, o que é

fundamental para a dismutação do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio, um passo crucial para a manutenção do equilíbrio redox celular.

Este fenômeno está em consonância com os achados de Wang et al. (2008), que investigaram a atividade anticâncer de compostos organosselênicos relacionados e observaram que esses compostos promovem a modulação das enzimas antioxidantes, especialmente a SOD1, em linhagens celulares de câncer de pulmão. Tal modulação parece fazer parte de uma resposta adaptativa das células ao estresse oxidativo induzido, que pode tanto favorecer a sobrevivência, quanto contribuir para a morte celular, dependendo da intensidade e duração do estímulo oxidativo.

Por outro lado, a ausência de efeito significativo sobre a expressão do gene GPX2, particularmente nos tratamentos com os derivados CNSE, pode refletir uma especificidade dos compostos em atuar preferencialmente sobre a via da SOD1 ou indicar que os parâmetros experimentais, como tempo e concentração, não foram suficientes para modular a expressão deste gene. A GPX2 desempenha papel essencial na detoxificação do peróxido de hidrogênio gerado pela ação da SOD1, convertendo-o em água e, assim, prevenindo danos celulares. A falta de indução de GPX2 pode, portanto, contribuir para o acúmulo de espécies reativas de oxigênio, amplificando o estresse oxidativo e favorecendo a apoptose em células tumorais. Wang et al. (2008) também observaram variações na resposta da GPX2 dependendo do composto utilizado, corroborando que a modulação dessa enzima pode ser mais complexa e dependente das condições específicas do tratamento.

Além disso, o desempenho do CNSE-3, que se mostrou similar à cisplatina na indução da expressão de SOD1, reforça a hipótese de que esse composto possui um potencial promissor na modulação das vias antioxidantes em células tumorais, o que pode ser explorado para estratégias terapêuticas baseadas na indução seletiva do estresse oxidativo. O CNSE-2, por sua vez, apresentou efeito mais modesto, indicando menor potencial modulador do sistema antioxidante nesta linhagem celular. A correlação dos nossos achados com o estudo de Wang et al. (2008) destaca a relevância dos compostos organosselênicos no desencadeamento de respostas oxidativas em células de câncer de pulmão, podendo contribuir para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas que explorem a vulnerabilidade redox dos tumores.

Assim, a comparação com os dados de Wang et al. (2008) permite compreender melhor os mecanismos moleculares pelos quais os derivados de aminoselenofenos influenciam a expressão gênica das enzimas antioxidantes e reforça o papel desses compostos na indução do desequilíbrio redox, que pode culminar na morte celular programada em células de câncer de pulmão.

O estudo de Dong et al. (2025) aborda de forma abrangente o papel do estresse oxidativo no desenvolvimento e tratamento do câncer de mama, destacando a importância da regulação das vias antioxidantes para o controle da progressão tumoral. De maneira semelhante, o presente trabalho investiga os efeitos dos derivados de aminoselenofenos na modulação da expressão dos genes SOD1 e GPX2 em células de câncer de pulmão, reforçando a relevância do equilíbrio redox como um ponto estratégico para intervenções terapêuticas. Embora Dong et al. (2025) não explore diretamente os compostos estudados aqui, a ênfase na manipulação das vias antioxidantes corrobora a hipótese de que agentes capazes de alterar a expressão dessas enzimas podem influenciar positivamente o tratamento do câncer, ampliando a aplicabilidade dos achados para diferentes tipos tumorais.

Por sua vez, o trabalho de Yildirim et al. (2021) investiga a atividade citotóxica dos derivados de aminoselenofenos em células de câncer de próstata, incluindo a análise da expressão de genes relacionados ao estresse oxidativo, como SOD1 e GPX2. De forma alinhada, nosso estudo foca na resposta desses mesmos genes em células de câncer de pulmão tratadas com compostos similares, o que permite estabelecer uma comparação direta entre os efeitos desses derivados em diferentes contextos tumorais. As semelhanças nos resultados reforçam o potencial dos aminoselenofenos como moduladores da via antioxidante e como candidatos promissores para o desenvolvimento de terapias antitumorais, enquanto as diferenças observadas podem indicar especificidades relacionadas ao microambiente e características moleculares dos distintos tipos de câncer.

## 6. CONCLUSÃO

Os dados demonstram que os dois compostos modularam expressivamente o gene SOD1, porém o CNSe-3 induz de forma comparável à cisplatina, evidenciando seu potencial como agente modulador do estresse oxidativo. A expressão de GPX2, por outro lado, permaneceu inalterada frente aos compostos testados, sugerindo um papel mais específico ou regulado por outras vias. Esses resultados reforçam a hipótese de que os derivados de aminoselenofenos, especialmente o CNSe 3 podem ser candidatos promissores para futuras aplicações terapêuticas no combate ao câncer de pulmão, atuando via modulação redox.

## 7. REFERÊNCIA

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – INCA. *Câncer de pulmão*. Rio de Janeiro: INCA, 2023. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pulmao>. Acesso em: 13 jul. 2025.

COSTA, Raquel de Oliveira et al. Atualizações terapêuticas no câncer de pulmão: papel da quimioterapia com cisplatina e novas abordagens. *Revista Brasileira de Cancerologia*, Rio de Janeiro, v. 67, n. 4, p. 1–8, 2021. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br>. Acesso em: 13 jul. 2025.

CSUK, R. et al. Selenium compounds in cancer therapy. *Molecules*, v. 18, n. 8, p. 9993–10022, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules18089993>. Acesso em: 14 jul. 2025.

DEVITA, Vincent T.; LAWRENCE, Theodore S.; ROSENBERG, Steven A. *DeVita, Hellman & Rosenberg: Cancer – Principles & Practice of Oncology*. 11. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2019.

FERREIRA, M. R. S. et al. A regulação epigenética da apoptose e suas implicações no câncer humano. *Revista Brasileira de Ciências Biomédicas*, v. 11, n. 2, p. 22–35, 2022.

FDA. *FDA grants approval to Telisotuzumab Vedotin for metastatic NSCLC with c-MET overexpression*. U.S. Food and Drug Administration, 2025. Disponível em: <https://www.fda.gov>. Acesso em: 24 jul. 2025.

GADGEEL, S. M. et al. Ensartinib in crizotinib-refractory ALK-positive NSCLC: updated results. *Journal of Clinical Oncology*, v. 41, n. 4, p. 556–564, 2023.

GOLDSTRAW, P. et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (eighth) edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, v. 11, n. 1, p. 39–51, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2015.09.009>. Acesso em: 13 jul. 2025.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). *GLOBOCAN 2020: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2020*. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/76-brazil-fact-sheets.pdf>. Acesso em: 13 jul. 2025.

JUKIC, M.; SPENGLER, M.; SIELEWIESIUK, J. Organoselenium compounds in redox modulation and cancer therapy. *Current Medicinal Chemistry*, v. 29, n. 3, p. 412–430, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/0929867328666210625111132>. Acesso em: 14 jul. 2025.

KIM, H. J. et al. ROS-mediated activation of MAPK pathways: implication in cancer progression and therapeutic targets. *Archives of Pharmacal Research*, v. 43, n. 4, p. 335–348, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12272-020-01235-7>.

KLAUNIG, James E. Oxidative stress and cancer. *Current Pharmaceutical Design*, v. 24, n. 40, p. 4771–4778, 2018. DOI: <https://doi.org/10.2174/1381612825666190215121712>.

KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C. *Robbins e Cotran – Patologia: Bases Patológicas das Doenças*. 10. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2021.

LI, Q.; SHARMA, A. Activation of NF- $\kappa$ B in cancer cells by reactive oxygen species. *Antioxidants & Redox Signaling*, v. 25, n. 8, p. 389–408, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6662>.

LIU, Y. et al. Repotrectinib in ROS1-positive advanced lung cancer: efficacy and safety from the TRIDENT-1 trial. *The Lancet Oncology*, v. 25, n. 2, p. 201–210, 2024.

MA, Q. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, v. 53, p. 401–426, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-011112-140320>.

MANNING, B. D.; CANTLEY, L. C. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell*, v. 129, n. 7, p. 1261–1274, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.06.009>.

MASON, Robert J. et al. *Murray & Nadel Tratado de Doenças Respiratórias*. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

MAZZA, G. et al. Role of superoxide dismutase enzymes in aging and age-related diseases. *Frontiers in Pharmacology*, v. 9, p. 768, 2018.

McCORD, J. M. The evolution of free radicals and oxidative stress. *American Journal of Medicine*, v. 108, suppl. 8A, p. 652–659, 2000.

NAROD, S. A. et al. Selenium exposure and cancer risk: an updated meta-analysis and meta-regression. *Scientific Reports*, v. 6, p. 19213, 2016.

PETERSON, C. M.; BURNS, J. R. Diagnosis and staging of lung cancer. In: DE VITA, V. T. et al. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. 11. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2022. p. 681–700.

RECK, M. et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1–positive non–small-cell lung cancer. *New England Journal of Medicine*, v. 379, p. 1825–1836, 2023.

REUTER, Simone et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, v. 49, n. 11, p. 1603–1616, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>.

SCHULZ, Juliana et al. *Oncologia para estudantes de medicina*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2021.

SEZER, A. et al. Cemiplimab monotherapy for first-line treatment of advanced NSCLC with PD-L1  $\geq$  50%: EMPOWER-Lung 1 update. *Journal of Thoracic Oncology*, v. 19, n. 1, p. 15–25, 2024.

SHIAH, J. Organoselenium compounds as potential therapeutic and chemopreventive agents: a review. *Current Medicinal Chemistry*, v. 11, n. 15, p. 1657–1669, 2004. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867043365113>.

SIES, Helmut; BERNDT, Carsten; JONES, Dean P. Oxidative stress. *Annual Review of Biochemistry*, v. 86, p. 715–748, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>.

WANG, H. et al. Anti-cancer activity and mechanism of flurbiprofen organoselenium compound RY-1-92 in non-small cell lung cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, v. 7, n. 6, p. 1544-1551, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18222543/>.