



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**STHEFANE GOMES FEITOSA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTITUMORAL DE EXTRATOS DE PLANTAS NO  
CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL: REVISÃO DE ESCOPO E  
ESTUDO *IN VITRO***

**FORTALEZA**

**2023**

STHEFANE GOMES FEITOSA

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTITUMORAL DE EXTRATOS DE PLANTAS NO  
CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL: REVISÃO DE ESCOPO E ESTUDO  
*IN VITRO*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para obtenção do título de doutora em Odontologia.

Área de Concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Karuza Maria Alves Pereira.

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Thâmara Manoela Marinho Bezerra

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- F336a Feitosa, Sthefane Gomes.  
Avaliação do efeito antitumoral de extratos de plantas no carcinoma de células escamosas oral : revisão de escopo e estudo in vitro / Sthefane Gomes Feitosa. – 2023.  
62 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Fortaleza, 2023.  
Orientação: Profa. Dra. Karuza Maria Alves Pereira.  
Coorientação: Profa. Dra. Thâmara Manoela Marinho Bezerra .
1. Extratos vegetais. 2. Neoplasias bucais. 3. Solanaceae. 4. Técnicas de cultura de células. I. Título.  
CDD 617.6
-

STHEFANE GOMES FEITOSA

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTITUMORAL DE EXTRATOS DE PLANTAS NO  
CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS ORAL: REVISÃO DE ESCOPO E ESTUDO  
*IN VITRO*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para obtenção do título de doutora em Odontologia.

Área de Concentração: Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Karuza Maria Alves Pereira.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Karuza Maria Alves Pereira (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr. Fábio Wildson Gurgel Costa  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Filipe Nobre Chaves  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Gislei Aragão Frota  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

---

Prof. Dr. Ealber Carvalho Macedo Luna  
Faculdade Luciano Feijão

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sua infinita misericórdia e pelo seu amor, ao me permitir alcançar sonhos e metas que muitas vezes acreditei ser impossível.

Aos meus pais, Maria Liliane Gomes Feitosa e Silvio Paiva Feitosa (*in memoriam*), por toda dedicação e incentivo, e por valorizarem sempre a importância da busca pelo conhecimento. Minha eterna gratidão!

Ao meu esposo, Denis Francisco Gonçalves de Oliveira, a pessoa que Deus preparou para ser meu eterno companheiro, o qual dedica sua vida para aprender sempre e para construir nossa família, sem dúvidas meu maior incentivador na busca por conhecimento e aprendizado. Te dedico esta tese como forma de respeito e agradecimento por todo conhecimento e incentivo compartilhado. Amo você e nossa família!

À minha orientadora, Profa. Dra. Karuza Maria Alves Pereira, agradeço imensamente todo o conhecimento compartilhado e contribuições ofertadas na minha vida profissional e pessoal, foi uma trajetória que se iniciou na iniciação científica e seguiu até o doutorado! Uma longa trajetória com bons frutos. Meu profundo respeito e gratidão.

À minha querida amiga e coorientadora desta tese, Thâmara Manoela Marinho Bezerra, companheira de pesquisa e de vida, minha gratidão por todos os aprendizados, conselhos e orientações. Você representou um pilar para a construção desta tese, e sem dúvidas uma pessoa fundamental para meu crescimento pessoal e profissional. Gratidão eterna a você.

Ao Laboratório de Patologia Bucal da Universidade Federal do Ceará (UFC), em nome dos professores Dra. Ana Paula Negreiros Nunes Alves, Dr. Mário Rogério Lima Mota e Dr. Fabrício Bitu, pelos ensinamentos para a minha vida profissional.

Ao Núcleo de Estudos em Microscopia e Processamento de Imagem (NEMPI), agradeço às professoras, Dra. Conceição da Silva Martins Rebouças (Josyane) e Dra. Gerly Anne de Castro Brito, pelo apoio e infraestrutura disponibilizados para a execução dos experimentos deste trabalho.

Aos professores Dr. Fábio Wildson Gurgel, Dr. Filipe Nobre, Dr. Ealber Luna e Dr. Gislei Frota, pelo aceite em participar deste momento especial e pela contribuição com esta tese.

À UFC, na pessoa de seu Magnífico Reitor Prof. Dr. José Cândido Lustosa Bittencourt de Albuquerque e Vice-Reitor Prof. Dr. José Glauco Lobo Filho. Estendo meus agradecimentos aos funcionários da UFC, pela disponibilidade sempre que possível.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia (PPGO), coordenado pela Prof. Dr. Vicente Aragão Saboia, e que tem como vice-coordenador, o grande professor e incentivador Prof. Dr. Fábio Wildson Gurgel Costa, minha eterna gratidão por toda contribuição na minha vida profissional. Estendo meus agradecimentos a Joana Karla de Assis Pinheiro, secretária do PPGO, e ao assistente de administração, Rafael Maia Reis.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), por possibilitar a conclusão do doutorado em um programa de alta excelência.

## RESUMO

**Introdução:** Apesar dos avanços sobre o entendimento da biologia tumoral do carcinoma de células escamosas oral (CCEO), os procedimentos terapêuticos continuam muitas vezes mutilantes e agressivos, reduzindo tanto a qualidade como a expectativa de vida dos pacientes. Nesse contexto, pesquisas têm investigado o efeito antitumoral de fármacos naturais advindos de extratos de plantas, onde estudos recentes mostram que a espécie de planta *Acnistus arborescens*, encontrada em abundância no Nordeste brasileiro, possui potencial farmacológico em alguns cânceres, como leucemia e cólon. **Objetivo:** Este estudo buscou realizar uma revisão de escopo sobre os diferentes extratos utilizados em linhagens de CCEO, além de investigar os possíveis efeitos antitumorais do extrato de *Acnistus arborescens* cultivada em cultura de células de CCEO (SCC-4), a fim de identificar suas possíveis ações citotóxicas e antitumorais nesta linhagem celular e em queratinócitos normais (HaCaT). **Métodos:** No capítulo 1, uma revisão de escopo foi conduzida de acordo com o guia de verificação do PRISMA e a busca foi realizada nas bases de dados LILACS, PubMed, Embase, Livivo, Scopus e Web of Science, sem restrição de data ou idioma. No capítulo 2, analisou-se o efeito citotóxico seletivo de diferentes extratos. Para o extrato acetônico de *Acnistus arborescens* cultivada, investigou-se ainda a proliferação no ensaio clonogênico, invasão, migração celular, e potencial genotóxico. **Resultados:** A revisão de escopo identificou que os estudos apresentaram diferentes delineamentos, avaliando principalmente eventos celulares relacionados à apoptose e ao ciclo celular, e com as seguintes limitações: muitos estudos não apresentaram IC50 nem índice de seletividade; muitas pesquisas utilizaram um número reduzido de linhagens celulares; e uma proporção considerável dos artigos apresentaram dados referentes apenas ao ensaio de citotoxicidade. No estudo *in vitro*, a citotoxicidade e o índice de seletividade dos diferentes extratos foram determinados para SCC-4 e HaCaT, através do teste de MTT, evidenciando melhor índice de seletividade (IS) para o extrato acetônico de *Acnistus arborescens* cultivada (IC50 para 72h = 2,7 µg/mL; R<sup>2</sup> = 0,99; IS = 1,06). Este extrato também reduziu a invasão celular (p=0,0001), reduziu a proliferação celular (p<0,0001), e promoveu dano ao DNA (p=0,0173). **Conclusão:** No capítulo 1, alguns estudos apresentaram diferentes delineamentos, onde muitos não apresentaram IC50 nem índice de seletividade; muitas pesquisas utilizaram um número reduzido de linhagens celulares e uma proporção considerável dos artigos apresentaram dados referentes apenas ao ensaio de citotoxicidade. No capítulo 2, evidenciou-se que o extrato acetônico de *Acnistus arborescens* cultivada mostrou ter maior citotoxicidade para a linhagem

tumoral quando comparado à linhagem normal, mostrando danos genotóxicos, redução da invasão e menor proliferação celular.

**Palavras-chaves:** Extratos vegetais; Neoplasias bucais; Solanaceae; Técnicas de cultura de células.

## ABSTRACT

**Introduction:** Despite advances in understanding the tumoral biology of oral squamous cell carcinoma (OSCC), therapeutic approaches remain aggressive, reducing the quality of life and life expectancy. In this context, research has investigated the antitumor effect of natural drugs derived from plant extracts, where recent studies show that the plant species *Acnistus arborescens*, found in abundance in the Brazilian Northeast, has pharmacological potential in some cancers, such as leukemia and colon. **Objective:** This study sought to carry out a scoping review of the different extracts used in OSCC cell lines, in addition to investigating the possible antitumor effects of *Acnistus arborescens* extract grown in OSCC cell culture (SCC-4), to identify its possible cytotoxic and antitumor actions in this cell lineage and in normal keratinocytes (HaCaT). **Methods:** In Chapter 1, a scoping review was conducted according to the PRISMA checklist. The search was conducted in LILACS, PubMed, Embase, Livivo, Scopus and Web of Science databases, without date or language restrictions. In Chapter 2, we analyze the selective cytotoxicity of different extracts. For the acetone extract of cultured *Acnistus arborescens*, the proliferation, invasion, cell migration, and genotoxic damage were investigated. **Results:** The scoping review identified that the studies had different designs, mainly evaluating cellular events related to apoptosis and the cell cycle, and with the following limitations: many studies did not show IC<sub>50</sub> or selectivity index; many studies used a small number of cell lines; and a considerable proportion of the articles presented data referring only to the cytotoxicity assay. In the in vitro study, the cytotoxicity of the different extracts were determined in SCC-4 and HaCaT by MTT test, showing better selectivity index (SI) for the acetone extract of cultivated *Acnistus arborescens* (IC<sub>50</sub> for 72h = 2.7 µg/mL; R<sup>2</sup> = 0.99; SI = 1.06). This extract also reduced cell invasion (p=0.0001), reduced cell proliferation (p<0.0001), and induced DNA damage (p=0.0173). **Conclusion:** In chapter 1, some studies presented different designs, where many did not present IC<sub>50</sub> or selectivity index; many studies used a reduced number of cell lines and a considerable proportion of the articles presented data referring only to the cytotoxicity assay. In chapter 2, it was shown that the acetone extract of cultivated *Acnistus arborescens* showed greater cytotoxicity for the tumor cell line when compared to the normal cell line, showing genotoxic damage, reduced invasion, and inhibition of cell proliferation.

**Keywords:** Cell culture techniques; Mouth neoplasms; Plant extracts; Solanaceae.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma PRISMA da seleção dos estudos.....	23
Figura 2 - Mapa ilustrando número de estudos incluídos por país.....	24
Figura 3 - Publicação dos artigos por ano.....	24
Figura 4 - Risco de viés dos estudos incluídos.....	25
Figura 5 - Principais linhagens de carcinoma de células escamosas oral.....	30
Figura 6 - Principais ensaios realizados.....	30
Figura 7 - IC 50 dos extratos e índice de seletividade.....	31
Figura 8 - Planta utilizada para avaliação do efeito antitumoral e vias de sinalização investigadas.....	32
Figura 9 - Planta utilizada na produção extrato e perfil dos marcadores investigados....	32
Figura 1 - Citotoxicidade de <i>Acnistus arborescens</i> em SCC4 e HaCaT com exposição de 72 horas	49
Figura 2 - Comparação dos números de células que invadiram entre os grupos avaliados no ensaio de invasão.....	49
Figura 3 - Fotomicrografias evidenciando células tumorais que invadiram na membrana de Geltrex® (200x).....	50
Figura 4 - Comparação dos índices de dano ao DNA entre os grupos avaliados no ensaio cometa.....	51
Figura 5 - Fotomicrografias evidenciando dano ao DNA (objetiva de 40X).....	52
Figura 6 - Ensaio de viabilidade celular utilizando Trypan blue (24 horas).....	53
Figura 7 - Ensaio de migração celular nos diferentes tempos.....	53
Figura 8 - Ensaio de migração celular.....	54
Figura 9 - Gráfico do ensaio clonogênico.....	54
Figura 10 - Ensaio clonogênico.....	55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais achados dos estudos (revisão de escopo).....	26
Tabela Suplementar 1.....	41
Tabela 1 - Citotoxicidade de <i>Acnistus arborescens</i> em SCC4 e HaCaT.....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AKT	Proteína quinase B
CCEO	Carcinoma de células escamosas oral
COX	Ciclooxigenase
HaCaT	Linhagem de queratinócitos normais
HSC	Linhagem de carcinoma de células escamosas
MMP	Metaloproteinases
MTOR	Do inglês <i>mammalian target of rapamicina</i>
MTT	Do inglês <i>Thiazolye blue tetrazolium bromide</i>
PI3K	Do inglês <i>phosphatidylinositol-3-Kinase</i>
PRISMA	Do inglês <i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyse</i>
SCC	Linhagem de carcinoma de células escamosas oral
VEGF-A	Fator de crescimento endotelial vascular A

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
<b>2.1</b>	<b>Câncer oral.....</b>	<b>13</b>
<b>2.2</b>	<b><i>Acnistus arborescens</i>.....</b>	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo Geral.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>16</b>
<b>4</b>	<b>CAPÍTULOS.....</b>	<b>17</b>
<b>4.1</b>	<b>Capítulo 1.....</b>	<b>18</b>
<b>4.2</b>	<b>Capítulo 2.....</b>	<b>42</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO GERAL.....</b>	<b>59</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>60</b>

