

# **Análise da influência da exposição ao Bisfenol A na proliferação celular de linhagens tireoidianas normais e neoplásicas**

**Palavras-Chave: Desregulador endócrino, Bisfenol A, Câncer de tireoide**

**Sophia de Alcantara Rodrigues, FCM – UNICAMP**

**Elisângela de Souza Teixeira, FCM - UNICAMP**

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Laura Sterian Ward (orientadora), FCM - UNICAMP**

---

## **1. INTRODUÇÃO**

Nas últimas décadas, a incidência de câncer de tireoide (CT) aumentou expressivamente em todo o mundo (1). No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) estima a ocorrência de 16.660 novos casos para cada ano do triênio de 2023 a 2025 (2). Esse aumento de incidência é resultado de vários fatores, dentre os quais a exposição a fatores ambientais (3). Fatores ambientais como agentes biológicos, físicos e químicos, que interagem com as características individuais genéticas e adquiridas, estão associados a mais de 80% de todos os casos de câncer (4,5).

Dentre os fatores químicos, os desreguladores endócrinos (DEs) são compostos conhecidos por interferir no sistema endócrino por meio de alterações na síntese, secreção, transporte e eliminação dos hormônios naturais (6). São compostos altamente heterogêneos e amplamente presentes no cotidiano, com diversas fontes de exposição, incluindo pesticidas, fármacos, cosméticos, embalagens, entre outros (7). Essa ampla exposição aos DEs tem sido associada a diversas patologias, inclusive ao câncer (8,9).

O sistema endócrino responde a baixas concentrações dessas substâncias (10), tornando importante estudar os impactos dessas baixas concentrações em nível celular. Na tireoide, especificamente, essas substâncias são reconhecidas por interferir na homeostase dos hormônios tireoidianos (triiodotironina (T3) e tiroxina (T4)), prejudicando sua atividade (11). Podem afetar vias metabólicas dos hormônios tireoidianos por diferentes meios, impactando sua síntese, seu transporte, aumentando ou reduzindo suas concentrações séricas, entre outros (12,13). Embora investigações prévias tenham correlacionado diversos eventos adversos à exposição a DEs, as concentrações nas quais essas substâncias têm efeito desregulador na tireoide humana ainda não foram bem definidas (14).

A lista de DEs possui centenas de substâncias, entre elas, os plastificantes como o Bisfenol A (BPA, 2,2-bis(4-hidroxifenil) propano), um composto orgânico amplamente utilizado na fabricação de plásticos, produzido em larga escala e presente em diversos produtos de uso cotidiano (15). No Brasil, o uso do BPA em materiais destinados ao contato com alimentos é regulamentado pelas Resoluções RDC nº 105/1999 e RDC nº 18/2008. Já a Resolução RDC nº 17/2008 estabelece o Limite de Migração Específica (LME) de 0,6 mg de BPA/kg de alimento, considerando a capacidade do composto migrar para os alimentos e bebidas armazenados nesses materiais, o que contribui para a exposição contínua de humanos e animais a essa substância (16).

Devido à semelhança com o T3, o BPA pode se ligar ao receptor do hormônio tireoidiano (TR $\beta$ ), atuando como antagonista hormonal (17). Investigações prévias associaram a exposição ao BPA a alterações da função tireoidiana, por meio de modificações estruturais da tireoide, desregulação dos níveis hormonais e indução de proliferação de células tumorais da tireoide (18-20). Na verdade, foi demonstrado que o BPA promove a proliferação e migração de células cancerígenas em diversos tipos de câncer, por meio da ativação de vias estrogênio-dependentes e vias de sinalização celular (20,21).

Em projeto anterior conduzido pelo nosso grupo de pesquisa, o efeito do BPA foi investigado em relação à viabilidade e migração celular em linhagens tireoidianas, N-thyr-ori 3-1 e TPC-1, e em baixas doses o BPA induziu citotoxicidade em ambas as linhagens, com maior sensibilidade observada nas células neoplásicas. A viabilidade celular foi observada especialmente após 48 horas de tratamento. Além disso, observou-se que o BPA também alterou a capacidade migratória das células, com os efeitos mais intensos nas células tumorais.

Com base nesses achados, o presente estudo deu continuidade à investigação dos mecanismos de ação do BPA sobre células tireoidianas, com o objetivo de aprofundar o conhecimento sobre seus impactos e fornecer subsídios para futuras pesquisas e possíveis revisões nos limites de exposição a esse composto, com relevância para a saúde pública.

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1 Cultura Celular**

Foram utilizadas duas linhagens humanas de tireoide: TPC-1 (carcinoma papilífero) e Nthy-ori 3-1 (não tumoral), cultivadas em meio RPMI-1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino, antibióticos e fungicida. As células foram mantidas a 37 °C, em atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub>.

### **2.2 Exposição ao BPA**

O Bisfenol A (BPA) foi diluído em DMSO e aplicado às culturas celulares das linhagens TPC-1 e Nthy-ori 3-1 por 24 e 48 horas, em diferentes concentrações.

### **2.3 Ensaio de Viabilidade (CCK-8)**

A viabilidade celular foi avaliada por meio do ensaio CCK-8, baseado na atividade metabólica das células. As células foram cultivadas em placas de 96 poços, expostas ao BPA e, após o período de incubação, foi adicionada a solução CCK-8. A absorbância foi medida a 450 nm para estimar a viabilidade celular.

## **3. RESULTADOS**

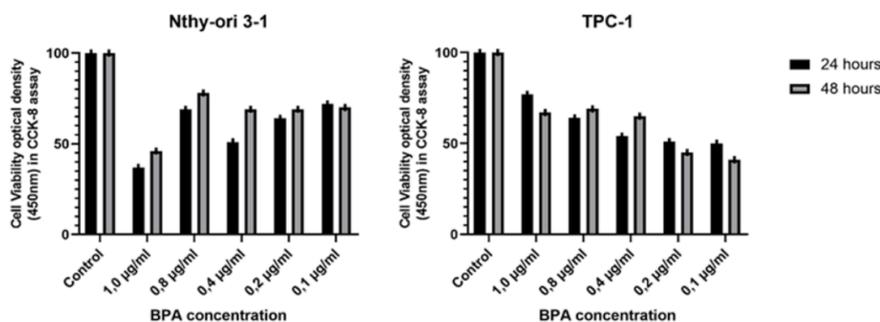
A exposição a baixas doses de BPA demonstrou efeitos prejudiciais em ambas as linhagens celulares analisadas, reduzindo a viabilidade celular em aproximadamente 40% após 24 horas (Figura 1).

### ***Linhagem Nthy-ori 3-1 (não tumoral)***

A concentração de 1  $\mu$ g/mL de BPA reduziu significativamente a viabilidade celular em ambos os tempos analisados (24 e 48 horas), com efeito mais pronunciado após 24 horas. Em concentrações mais baixas, observou-se uma atenuação dos efeitos citotóxicos, embora a redução da atividade metabólica permanecesse estatisticamente significativa. De modo geral, houve uma diminuição consistente da viabilidade celular nos grupos expostos ao BPA em comparação ao controle.

### ***Linhagem TPC-1 (neoplásica)***

As concentrações de 1 µg/mL e 0,8 µg/mL apresentaram impacto menos evidente na viabilidade celular quando comparadas às concentrações mais baixas, sugerindo uma possível maior resistência da TPC-1 ao BPA. Curiosamente, doses mais baixas (0,1 e 0,2 µg/mL) induziram uma redução acentuada na viabilidade, indicando um possível efeito não linear dose-dependente.



**Figura 1. Resultados do ensaio de metabolismo por CCK-8 nas linhagens Nthy-ori 3-1 (não tumoral) e TPC-1 (neoplásica).**

## **4. DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos indicam que o BPA afeta a viabilidade celular de forma distinta, dependendo do tipo celular, da concentração e do tempo de exposição. Nas células tireoidianas não tumorais (Nthy-ori 3-1), concentrações mais elevadas de BPA (1 µg/mL) reduziram significativamente a viabilidade celular. Em contraste, na linhagem neoplásica (TPC-1), essas mesmas concentrações tiveram menor impacto, sugerindo uma resistência diferencial ao composto. Essa disparidade pode estar relacionada a mecanismos intrínsecos das células tumorais, como alterações em vias de sinalização ou na expressão de receptores hormonais.

Os dados corroboram estudos prévios que relatam efeitos bifásicos do BPA. Por exemplo, Wang et al. (22) observaram que baixas doses (0–80 µM) de BPA estimularam a proliferação de Nthy-ori 3-1, enquanto doses mais altas inibiram o crescimento celular. Padrão semelhante foi descrito por Zhang et al. (23), que demonstraram proliferação de células tireoidianas neoplásicas em concentrações entre  $10^{-7}$  e  $10^{-4}$  M, com resposta linear e dependente da dose após 24–48 horas de exposição. Nossos resultados, entretanto, revelaram um comportamento não linear na linhagem TPC-1, onde concentrações intermediárias (0,8–1 µg/mL) foram menos citotóxicas que as mais baixas (0,1–0,2 µg/mL). Essa divergência pode refletir diferenças metodológicas (tempo de exposição, modelo celular) ou a ativação de vias alternativas em células tumorais.

Outro aspecto relevante é o potencial do BPA em antagonizar a citotoxicidade de outros agentes. Lapensee et al. (24) relataram que doses nanomolares (1 nM) de BPA protegeram células tumorais da tireoide contra quimioterápicos. Embora nosso estudo não tenha avaliado combinações com outros tratamentos, a menor sensibilidade da TPC-1 a concentrações específicas de BPA (1 µg/mL) pode indicar um mecanismo adaptativo semelhante, possivelmente mediado por receptores estrogênicos ou vias de sobrevivência celular.

## **5. CONCLUSÃO**

Os resultados deste estudo demonstram que o Bisfenol A (BPA), mesmo em baixas concentrações, compromete significativamente o metabolismo de células tireoidianas humanas, tanto na linhagem não tumoral (Nthy-ori 3-1) quanto na neoplásica (TPC-1). A análise revelou um padrão não linear de resposta, no qual:

- Células não tumorais exibiram maior sensibilidade a concentrações elevadas (1 µg/mL), com redução acentuada da viabilidade após 24 horas.
- Células neoplásicas (TPC-1) apresentaram resistência relativa a essas mesmas concentrações, mas foram mais afetadas por doses menores (0,1–0,2 µg/mL), sugerindo um efeito bifásico dependente do contexto celular.

Esses achados reforçam a complexidade da ação do BPA na tireoide, que pode variar conforme o tipo celular, a dose e o tempo de exposição. A ausência de uma relação dose-resposta linear, aliada aos contrastes entre linhagens, indica a necessidade de investigações adicionais para elucidar os mecanismos moleculares envolvidos, particularmente em vias de sinalização estrogênio-dependentes, alterações nos receptores de hormônios tireoidianos (TRβ) e efeitos em modelos in vivo que simulem a exposição crônica em humanos.

Além disso, os dados destacam a relevância para a saúde pública, uma vez que as concentrações testadas são ambientalmente relevantes. Sugere-se a revisão periódica dos limites de exposição ao BPA, bem como a exploração de alternativas a esse composto em produtos de consumo. Estudos futuros deverão abordar os efeitos do BPA em combinação com outros desreguladores endócrinos, a fim de simular exposições reais e seus impactos cumulativos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lortet-Tieulent J, Franceschi S, Dal Maso L, Vaccarella S. Thyroid cancer "epidemic" also occurs in low- and middle-income countries. *Int J Cancer*. 2019;144(9):2082-7..
2. INCA. Estimativa 2023: Incidência de Câncer no Brasil. 2023.
3. Marcello MA, Malandrino P, Almeida JF, Martins MB, Cunha LL, Bufalo NE, et al. The influence of the environment on the development of thyroid tumors: a new appraisal. *Endocr Relat Cancer*. 2014;21(5):T235-54.
4. Peres F, Moreira JC, DUBOIS GS. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. In: PERES, F., and MOREIRA, JC., orgs. *É veneno ou é remédio?: agrotóxicos, saúde e ambiente* [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2003. p. 21-41. ISBN 85 7541-031-8.
5. Seib CD, Sosa JA. Evolving Understanding of the Epidemiology of Thyroid Cancer. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2019;48(1):23-35.
6. Kavlock RJ, Daston GP, DeRosa C, Fenner-Crisp P, Gray LE, Kaattari S, et al. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environ Health Perspect*. 1996;104 Suppl 4(Suppl 4):715-40.
7. Özen S, Darcan Ş. Effects of environmental endocrine disruptors on pubertal development. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2011;3(1):1-6.
8. Mughal BB, Demeneix BA. Endocrine disruptors: Flame retardants and increased risk of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13(11):627-8.

9. Heindel JJ, Skalla LA, Joubert BR, Dilworth CH, Gray KA. Review of developmental origins of health and disease publications in environmental epidemiology. *Reprod Toxicol*. 2017;68:34-48.
10. Aghajanzpour-Mir SM, Zabihi E, Akhavan-Niaki H, Keyhani E, Bagherizadeh I, Biglari S, et al. The Genotoxic and Cytotoxic Effects of Bisphenol-A (BPA) in MCF-7 Cell Line and Amniocytes. *Int J Mol Cell Med*. 2016;5(1):19-29.
11. Moraes, NV. Exposição ambiental a desreguladores endócrinos: alterações na homeostase dos hormônios esteroidais e tireoideanos. *Revista Brasileira de Toxicologia*. 2008;21(1):1-8.
12. Jenssen BM. Endocrine-disrupting chemicals and climate change: A worst-case combination for arctic marine mammals and seabirds? *Environ Health Perspect*. 2006;114 Suppl 1(Suppl 1):76-80.
13. Wang T, Lu J, Xu M, Xu Y, Li M, Liu Y, et al. Urinary bisphenol a concentration and thyroid function in Chinese adults. *Epidemiology*. 2013;24(2):295-302.
14. Santos JC. Investigação da ação disruptora da deltametrina sobre a tireoide e função hipofisária de ratos (Gerações F1 e F2). 2018. 81 f. Dissertação ( Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel 2018.
15. Yilmaz B, Terekeci H, Sandal S, Kelestimur F. Endocrine disrupting chemicals: exposure, effects on human health, mechanism of action, models for testing and strategies for prevention. *Rev Endocr Metab Disord*. 2020;21(1):127-47.
16. Kang JH, Kondo F, Katayama Y. Human exposure to bisphenol A. *Toxicology*. 2006;226(2-3):79-89.
17. Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saijo M, Kanamoto N, et al. Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(11):5185-90.
18. Fernandez MO, Bourguignon NS, Arocena P, Rosa M, Libertun C, Lux-Lantos V. Neonatal exposure to bisphenol A alters the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in female rats. *Toxicol Lett*. 2018;285:81-6.
19. Axelstad M, Boberg J, Vinggaard AM, Christiansen S, Hass U. Triclosan exposure reduces thyroxine levels in pregnant and lactating rat dams and in directly exposed offspring. *Food Chem Toxicol*. 2013;59:534-40.
20. Zhang Y, Wei F, Zhang J, Hao L, Jiang J, Dang L, et al. Bisphenol A and estrogen induce proliferation of human thyroid tumor cells via an estrogen-receptor-dependent pathway. *Arch Biochem Biophys*. 2017;633:29-39.
21. Song H, Zhang T, Yang P, Li M, Yang Y, Wang Y, et al. Low doses of bisphenol A stimulate the proliferation of breast cancer cells via ERK1/2/ERR $\gamma$  signals. *Toxicol In Vitro*. 2015;30(1 Pt B):521-8.
22. Wang Y, Su X, Wang Q, Zhang L, Yu Y, Zhao Y, et al. Bisphenol A exposure enhances proliferation and tumorigenesis of papillary thyroid carcinoma through ROS generation and activation of NOX4 signaling pathways. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2025 Feb 27;292(6):117946.
23. Zhang Y, Wei F, Zhang J, Hao L, Jiang J, Dang L, et al. Bisphenol A and estrogen induce proliferation of human thyroid tumor cells via an estrogen-receptor-dependent pathway. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2017 Nov 1;633(7):29-39
24. LaPensee EW, Tuttle TR, Fox SR, Ben-Jonathan N. Bisphenol A at Low Nanomolar Doses Confers Chemoresistance in Estrogen Receptor- $\alpha$ -Positive and -Negative Breast Cancer Cells. *Environmental Health Perspectives*. 2009 Feb;117(2):175-80.