



# **Análise da expressão das metaloproteinases de matriz 2 e 9 em células de carcinoma de células escamosas oral resistentes à cisplatina**

**Palavras-Chave:** Câncer oral, Metaloproteinases de matriz, Quimiorresistência

**Autores(as):**

**Luma Cavale Christofoleti (FOP-UNICAMP)**

**Everton Freitas de Moraes (FOP-UNICAMP)**

**Prof. Dr. Ricardo Della Coletta (FOP-UNICAMP)**

---

## **INTRODUÇÃO:**

O carcinoma de células escamosas oral (CCEO) é um dos tumores mais prevalentes em todo o mundo, o que o coloca como um importante problema de saúde pública (Sung et al., 2021). A compreensão dos mecanismos biológicos e dos fatores que controlam o seu comportamento agressivo, incluindo a resistência à cisplatina, é essencial para o desenvolvimento opções terapêuticas novas e mais eficientes. A aquisição de resistência pelas células tumorais não apenas limita o seu efeito no tratamento, mas também tende a gerar células com maior agressividade, resultando em um prognóstico desfavorável para o paciente (Sha et al., 2021). A expressão das metaloproteinases de matriz está associada a capacidade de invasão dos tecidos adjacentes e ao processo de metástase (Miguel et al., 2020). Portanto, o objetivo foi avaliar a expressão e a atividade das metaloproteinases de matriz 2 (MMP-2) e 9 (MMP-9) em linhagens celulares de CCEO quimiorresistentes à cisplatina.

## **METODOLOGIA:**

O estudo utilizou as linhagens celulares de CCEO SCC9 e HSC3 parentais e quimiorresistentes à cisplatina. As células SCC9 foram obtidas da American Tissue Culture Collection (ATCC™, Rockville, MD) e as células HSC-3 foram adquiridas do Japanese Collection of Research Bioresources Cell Bank (JRCB Osaka), enquanto as células quimiorresistentes foram estabelecidas em nosso laboratório. Estas células foram cultivadas em meio de cultura contendo partes iguais de meio de Eagle modificado por Dulbecco's (DMEM) e meio F-12 11 (DMEM/F-12; Thermo Fisher Scientific) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB, Cultilab, Campinas), 400 ng/ml de hidrocortisona (Sigma-Aldrich) e antibióticos. As células quimiorresistentes, quando não estavam em experimentação, foram cultivadas na presença

de cisplatina na concentração do IC<sub>50</sub> para garantir a manutenção do fenótipo. A expressão das MMPs 2 e 9 em linhagens celulares de CCEO SCC9 e HSC3 parentais e quimiorresistentes à cisplatina foram analisadas por RT-qPCR e a atividade avaliada por zimografia. Para RT-qPCR, RNA total foi extraído das linhagens celulares utilizando o reagente Trizol (Invitrogen) e convertido em cDNA utilizando a enzima SuperScript™ IV (Invitrogen). Os níveis de expressão foram quantificados com a química de SYBR Green. Ciclofilina A (PPIA) foi utilizada como gene de referência na amplificação, com a expressão relativa quantificada pelo método 2- $\Delta\Delta$ Ct. Para zimografia, meios condicionados das células foram submetidos à eletroforese em géis de SDS-PAGE a 10% contendo 1 mg/ml de gelatina sob condições não redutoras. Os géis foram corados com azul de Coomassie, e a digestão com gelatina foi identificada como bandas claras contra o fundo azul. Após a captura da imagem, as intensidades das bandas negativas foram analisadas usando o programa Molecular Analysis.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

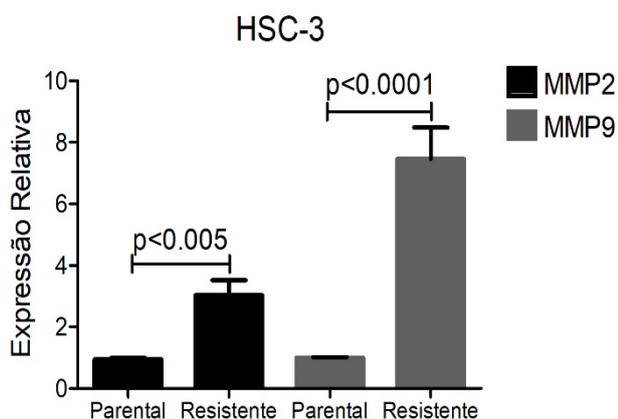


Figura 1.

Análise da expressão de MMP-2 e MMP-9 nas células HSC-3 parental e HSC-3 resistente. A expressão de MMP-2 foi aproximadamente 3x maior nas células resistentes comparado as células parentais, enquanto a expressão de MMP-9 foi aproximadamente 8x maior nas células resistentes.

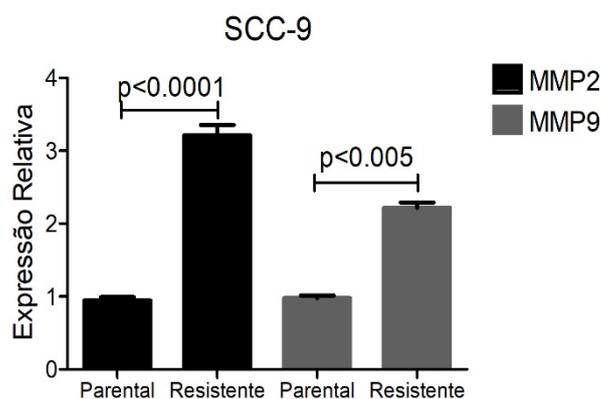


Figura 2.

Análise da expressão de MMP-2 e MMP-9 nas células SCC-9 parental e SCC-9 resistente. As células SCC-9R demonstraram níveis aproximadamente 3x maiores de MMP-2 e 2,3x maiores de MMP-9 que as células parentais.

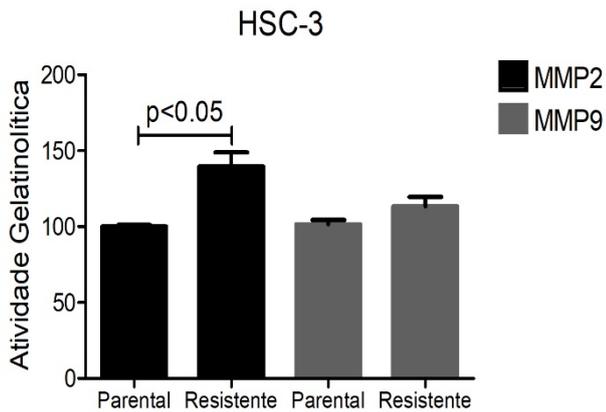


Figura 3.

Análise da atividade gelatinolítica de MMP-2 e MMP-9 nas linhagens HSC-3 parental e resistente à cisplatina. A atividade de MMP-2 foi significativamente maior nas células resistentes, enquanto que para MMP-9, embora a atividade tenha sido maior nas células resistentes, a diferença não atingiu o nível de significância adotado pelo estudo. Os resultados representam a média  $\pm$  desvio padrão de 3 experimentos independentes.

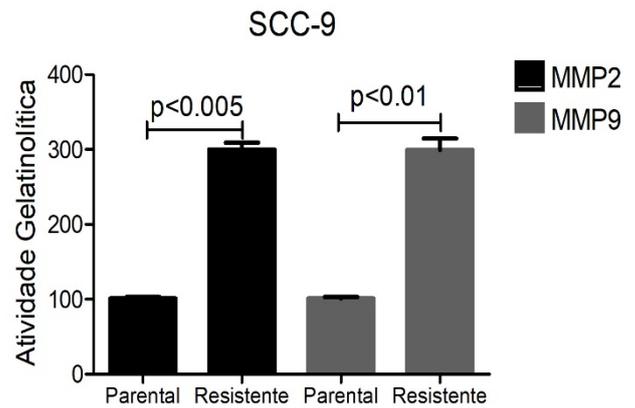


Figura 4.

Análise da atividade gelatinolítica de MMP-2 e MMP-9 nas células SCC-9 parental e SCC-9 resistente. A quantificação revelou que a atividade de MMP-2 e MMP-9 foram significativamente maiores nas células resistentes comparado as células parentais. Os resultados representam a média  $\pm$  desvio padrão de 3 experimentos independentes.

Células resistentes a SCC9 apresentaram níveis significativamente maiores de MMP2 ( $p < 0,005$ ) e MMP9 ( $p < 0,0001$ ) do que as células parentais, mas diferenças na atividade foram observadas apenas para MMP2 ( $p < 0,05$ ). Para células resistentes a HSC3, a expressão ( $p < 0,001$  para MMP2 e  $p < 0,005$  para MMP9) e a atividade ( $p < 0,005$  para MMP2 e  $p < 0,01$  para MMP9) de ambas as enzimas foram significativamente maiores do que nas células parentais HSC3.

## CONCLUSÕES:

Os resultados deste estudo revelam que as células resistentes à cisplatina apresentam uma maior expressão e atividade das MMP-2 e MMP-9 comparado às células parentais, fornecendo novas percepções sobre a resistência à cisplatina no CCEO e permitindo uma melhor compreensão dos mecanismos associados à quimiorresistência, além de possibilidades para reverter o comportamento agressivo desenvolvido por estas células.

## BIBLIOGRAFIA

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660.
- Sha J, Bai Y, Ngo HX, Okui T, Kanno T. Overview of Evidence-Based Chemotherapy for Oral Cancer: Focus on Drug Resistance Related to the Epithelial-Mesenchymal Transition. *Biomolecules*. 2021 Jun 16;11(6):893. doi: 10.3390/biom11060893.
- Miguel AFP, Mello FW, Melo G, Rivero ERC. Association between immunohistochemical expression of matrix metalloproteinases and metastasis in oral squamous cell carcinoma: Systematic review and meta-analysis. *Head Neck*. 2020 Mar;42(3):569-584. doi: 10.1002/hed.26009.