



A CCEB é tratada frequentemente, utilizando ressecção cirúrgica e radioterapia adjuvante com ou sem quimioterapia (POSWAR *et al.*, 2015). Os agentes terapêuticos estão associados a efeitos adversos graves que causam diminuição da qualidade de vida. Portanto, a identificação de novos agentes terapêuticos úteis, menos tóxicos, é crucial.

#### A. Efeitos da Metformina sobre PDH e HIF-1? sob hipóxia

A atenuação da atividade de PDH pode levar ao acúmulo de HIF1? na CCEB (TRISCIUOGLIO, 2010). Adicionalmente, o aumento de HIF1? está relacionado a prognósticos piores do CCOS. Considerando o papel da PDH na CCEB, o qRT-PCR foi realizado para comparar os níveis de PDH em pacientes com CCEB e pacientes com leucoplasia oral. Níveis diminuídos de níveis de mRNA de PDH foram observados em CCEB em comparação com leucoplasia oral com displasia (Figura 1A). Para testar se a metformina poderia promover um aumento nos níveis de PDH e alterar as células para um perfil celular menos agressivo, ensaio in vitro foi realizado para testar se Metformina poderia aumentar os níveis de mRNA PDH em células CCEB sob condições hipóxicas. A metformina promoveu um aumento nos níveis de PDH sob condições hipóxicas (Figura 1 B). Considerando a importância do HIF-1? no metabolismo anaeróbico da glicose e sua relação com a PDH (TRISCIUOGLIO, 2010), realizou-se qRT-PCR de HIF-1? para testar se a Metformina poderia alterar os níveis de HIF-1?. A metformina reduziu não apenas os níveis de mRNA de HIF-1a (Figura 2A) em células SCC9.

#### B. Efeitos da Metformina sobre o fenótipo da célula CCEB sob condições hipóxicas

Como a Metformina altera os níveis de PDH e HIF-1a, como demonstrado antes, ensaios de proliferação, raspagem de feridas, qRT-PCR de Caspase3 foram realizados para clarificar o efeito da Metformina sobre o fenótipo da célula CCEB sob condições hipóxicas. O ensaio de proliferação sugere que a metformina provoca um efeito antiproliferativo em queratinócitos imortalizados (HaCat, Figura 3A) e CCEB (SCC9, Figura 3D). A metformina também inibiu a migração significativamente nas células HacaT (Figura 3 B e C) e SCC9 (Figura 3 E e F) de acordo com o ensaio de arranhão de feridas. O tratamento com metformina também aumentou a transcrição da caspase3 em SCC9 (Figura 4 C).

#### Conclusão

Concluindo, os nossos resultados mostram que a Metformina reduz a expressão do gene HIF-1? e aumenta a expressão de PDH. A metformina inibe a proliferação celular e a migração no modelo de linha celular CCEB. Adicionalmente, a metformina aumenta o número de células apoptóticas e níveis de caspase 3, mas não aumentou os níveis de p53 mutante sob condições hipóxicas.

#### Agradecimentos

Este estudo foi apoiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento De Pessoal de Nível Superior (CAPES), Instituto Federal De Educação, Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais (IFNMG) e a Fundação de Amparo a Pesquisa Do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). Dr. Guimarães, Dr. Gomez, Dr. Santos e Dr. de Paula são pesquisadores Bolsistas do CNPq. Os autores também agradecem à Universidade Estadual de Montes Claros.

#### Referências bibliográficas

Cantrell AZ, de Mendivilla M, Mallo JM, Gehrig B, Bae-Jump LA. Metformina é potente inibidor da proliferação celular de câncer de endométrio: implicações para uma nova estratégia de tratamento. *Gynecol Oncol* 2010; 116:2-98.

Ferla P, Boerjomataran D, Kshirsagar M, Mather S, Rebelo P, Parki DM, Forman D, Braun J. Incidência, mortalidade, câncer no mundo fontes, métodos, padrões importantes. *GLBOCAN* 2011; 116:359-386.

Feron O. Piruvate em lactato e costas: do efeito de Warburg à troca simbiótica de energia de energia em células cancerígenas. *Radiother Oncol*. 2009; 92: 329-333.

Guimarães FA, de Faria C, Feltenberg D, de Coleto R, de Santos S, de Almeida A. Avaliação da atividade de neoplasia de células cancerígenas sob condições hipóxicas. *Prog anticancer* 2015; 12:407-416.

J Endod. 2015; 41: 877-883.

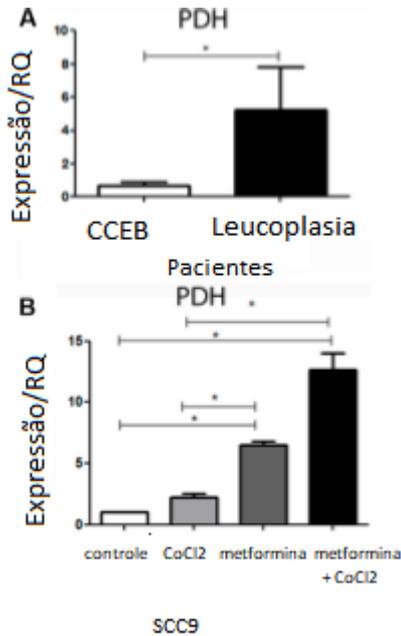
Poswar JC, de Faria C, de Aguiar B, Brito-Junior M, de Sousa N, de Sant'Ana D, de Paula ND, de Almeida A, de Guimarães FA. Bioinformática: análise de interação de curpa caracterização de genes de expressão diferencial em células cancerígenas. *Int J Biol Biomed Res* 2015; 8:1049.

Semenza GL, Shimoda LA, Prabhakar NR. Regulação da expressão de genes por HIF-1. *Novartis Found Symp*. 2006; 272: 33-16.

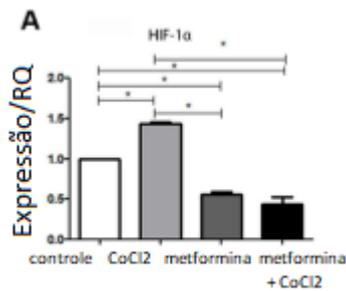
Srivastava S, Masaga RR, Reddy M, Shan M, Sankar M, Thoudha B, Ghavri S. Curcumin: a natural anti-cancer agent. *Int J Biol Biomed Res* 2015; 8:1049.

Warburg O. Sobre a origem das células cancerígenas. *Ciência*. 1956; 123: 309-314.

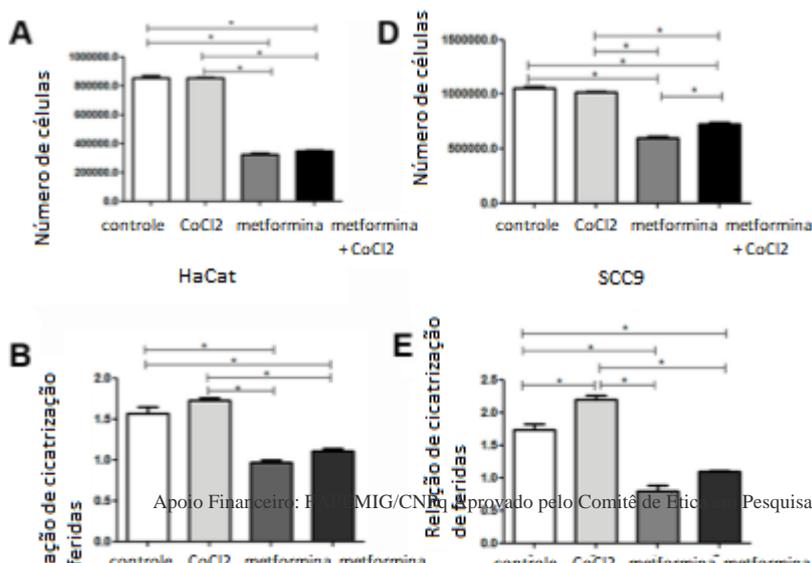
Warnakulasuriya S. Epidemiologia global do câncer orofaríngeo e oral. Oral Oncol. 2009; 45: 309-316.



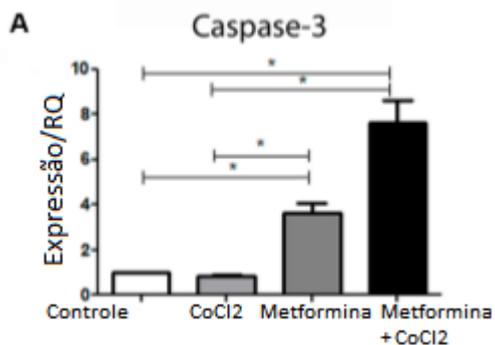
**Figura 1:** níveis de PDH em pacientes e efeito da metformina nos níveis de PDH em células SCC9. Em(A), a expressão de PDH em pacientes com carcinoma e leucoplasia. Os níveis de ARNm de PDH aumentaram em Leucoplasia em comparação com OSCC.(B) O tratamento de células SCC9 aumenta os níveis de ARNm de PDH mesmo sob hipoxia. \*Significado estatístico.



**Figura 2:** Efeito da metformina em HIF1A-1α sob condições hipóxicas. (A) Metformina reduziu os níveis de ARNm HIF1A-1α? mesmo sob hipoxia. A metformina também reduziu os níveis de proteína HIF1A-1α? em comparação com CoCl2.



**Figura 3:** Efeito da metformina na morte celular e migração sob condições hipóxicas. (A e D) mostram a quantificação do efeito da metformina no número de células HaCat e SCC9, respectivamente. Metformina reduziu drasticamente o número de ambas as células, mesmo sob hipoxia. (b e E) representam a quantificação da migração de células HaCat e SCC9, respectivamente. A metformina também reduziu drasticamente a taxa de migração celular na linhagem das células. (C e F) ilustram o teste de risco de ferida das células HaCat e SCC9, respectivamente. A escala de 100  $\mu$ m. \*Significado estatístico.



**Figura 4:** Efeito da metformina na morte celular em condições hipóxicas. Metformin also increased caspase-3 mRNA levels in SCC9 cells(c)