

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

MILTON DE PAULA JUNIOR

**AVALIAÇÃO DO IMPACTO DE PSICOTRÓPICOS NO CRESCIMENTO E
VIABILIDADE CELULAR EM CULTURAS DE CÉLULAS CANCERÍGENAS**

PONTA GROSSA

2025

MILTON DE PAULA JUNIOR

**AVALIAÇÃO DO IMPACTO DE PSICOTRÓPICOS NO CRESCIMENTO E
VIABILIDADE CELULAR EM CULTURAS DE CÉLULAS CANCERÍGENAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial a obtenção do título de mestre na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Setor Ciências Biológicas e Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Giovani Marino Favero

PONTA GROSSA

2025

P324 Paula Junior, Milton de
Avaliação do impacto de psicotrópicos no crescimento e viabilidade celular em culturas de células cancerígenas / Milton de Paula Junior. Ponta Grossa, 2025. 28 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Giovani Marino Favero.

1. Fluoxetina. 2. Melanoma. 3. Adenocarcinoma mamário. 4. Viabilidade celular. 5. Terapia contra o câncer. I. Favero, Giovani Marino. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia. III.T.

CDD: 616

MILTON DE PAULA JÚNIOR

**AVALIAÇÃO DO IMPACTO DE PSICOTRÓPICOS NO CRESCIMENTO E
VIABILIDADE CELULAR EM CULTURA DE CÉLULAS CANCERÍGENAS**

Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre(a) no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, nível Mestrado e Doutorado, Associação Ampla entre a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) e a Universidade do Centro-Oeste (UNICENTRO).

Ponta Grossa, 08 de agosto de 2025.



Prof. Dr. Giovanni Marino Favero – UEPG
Presidente



Prof. Dr. Angelo César D'Urso Panerari – UNINGÁ
Membro titular externo



Prof. Dr. Everson Augusto Krum – UEPG
Membro titular interno

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Giovani Marino Favero, pelos conhecimentos transmitidos, através de colaboração com críticas construtivas e sugestões que engrandeceram este trabalho.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo fomento e investimento na formação e manutenção da pós-graduação.

Aos meus pais, que sempre me ensinaram a importância dos estudos, e que por mais difícil que seja o caminho, a desistência nunca deve ser cogitada.

Às minhas irmãs, que sempre estiveram junto comigo na jornada da vida.

À minha esposa, que me apoiou desde o início, sendo minha confidente e porto seguro nas horas mais difíceis.

RESUMO

Estudos recentes têm explorado a reutilização da fluoxetina, um conhecido antidepressivo inibidor seletivo da recaptação de serotonina (ISRS), por seu potencial como agente anticancerígeno. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da fluoxetina em dosagens que variaram de 0,0025 a 0,025 mg/mL no crescimento de culturas de células de melanoma (B16F10) e adenocarcinoma mamário (4T1). Culturas de células de melanoma B16F10 e adenocarcinoma mamário 4T1 foram tratadas com fluoxetina em diferentes concentrações (0,0025, 0,005, 0,01 e 0,025 mg/mL). A viabilidade celular foi avaliada por meio de ensaios padrão, incluindo MTT e exclusão de azul de trypan, ao longo de um período de 72 horas. Os resultados indicaram que a fluoxetina apresentou um efeito inibitório dose-dependente no crescimento celular em ambas as linhagens celulares, B16F10 e 4T1. Na maior concentração testada (0,025 mg/mL), foi observada uma leve, mas estatisticamente significativa, redução na viabilidade celular em comparação com os controles não tratados. Especificamente, as células de melanoma B16F10 apresentaram uma redução na viabilidade de aproximadamente 10%, enquanto as células de adenocarcinoma mamário 4T1 demonstraram uma redução de cerca de 12%. Concentrações mais baixas de fluoxetina (0,0025 mg/mL) tiveram impacto mínimo no crescimento celular, sugerindo um efeito limiar. A fluoxetina, nas concentrações testadas, exibiu um efeito inibitório modesto na proliferação de células de melanoma e adenocarcinoma mamário in vitro. Esses resultados preliminares apoiam o potencial da fluoxetina como adjuvante na terapia contra o câncer.

Palavras-chave: Fluoxetina, Melanoma, Adenocarcinoma Mamário, Cultura de Células, Terapia contra o câncer, Viabilidade celular.

ABSTRACT

Recent studies have explored the repurposing of fluoxetine, a well-known selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), for its potential anticancer properties. This investigation aimed to evaluate the effects of fluoxetine at dosages ranging from 0.0025 to 0.025 mg/mL on the growth of melanoma (B16F10) and breast adenocarcinoma (4T1) cell cultures. Cultures of B16F10 melanoma cells and 4T1 breast adenocarcinoma cells were treated with fluoxetine at various concentrations (0.0025, 0.005, 0.01, and 0.025 mg/mL). The cell viability was assessed using standard assays, including MTT and trypan blue exclusion, over a 72-hour period. The findings indicated that fluoxetine exhibited a dose-dependent inhibitory effect on cell growth in both B16F10 and 4T1 cell lines. At the highest concentration tested (0.025 mg/mL), a slight but statistically significant reduction in cell viability was observed in comparison to untreated controls. Specifically, B16F10 melanoma cells showed a reduction in viability by approximately 10%, while 4T1 breast adenocarcinoma cells demonstrated a reduction of about 12%. Lower concentrations of fluoxetine (0.0025 mg/mL) resulted in minimal impact on cell growth, suggesting a threshold effect. Fluoxetine, at the tested concentrations, displayed a modest inhibitory effect on the proliferation of melanoma and breast adenocarcinoma cells *in vitro*. These preliminary results support the potential of fluoxetine as an adjuvant in cancer therapy.

Keywords: Fluoxetine, Melanoma, Breast Adenocarcinoma, Cell Culture, Cancer Therapy, Cell Viability.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 OBJETIVOS.....	9
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	10
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
5 RESULTADOS.....	20
6 DISCUSSÃO.....	24
REFERÊNCIAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma das principais causas de morbimortalidade global, caracterizado por um crescimento celular descontrolado e pela capacidade de invasão de tecidos adjacentes e distantes, o que frequentemente resulta em complicações graves e alta letalidade (Siegel et al., 2023). O manejo do câncer exige estratégias terapêuticas multimodais, que incluem quimioterapia, radioterapia e imunoterapia, frequentemente acompanhadas de efeitos colaterais debilitantes, como dor crônica, depressão e ansiedade. Nesse contexto, medicamentos psicotrópicos, como os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), têm sido amplamente utilizados para mitigar os sintomas emocionais e psicológicos associados ao diagnóstico e ao tratamento oncológico, melhorando a qualidade de vida dos pacientes (Bortolato et al., 2016; Boursi et al., 2018).

Além de suas aplicações tradicionais no manejo de distúrbios psiquiátricos, há um crescente interesse no potencial de medicamentos psicotrópicos como agentes moduladores do microambiente tumoral. Substâncias como a fluoxetina, um ISRS amplamente prescrito, possuem atividades anti-inflamatórias e antiproliferativas em diferentes modelos experimentais (Stark et al., 2020). Essas propriedades são atribuídas à capacidade dos psicotrópicos de interferir em vias metabólicas e sinalizações celulares essenciais para a sobrevivência e proliferação de células tumorais, incluindo a regulação de processos como o estresse oxidativo, a apoptose e a inflamação crônica, os quais estão intimamente relacionados à progressão do câncer (Liao et al., 2022).

Embora estudos *in vitro* e *in vivo* tenham demonstrado efeitos promissores, o conhecimento acerca dos mecanismos pelos quais os psicotrópicos modulam o crescimento e a viabilidade celular em linhagens tumorais ainda é incipiente. Isso destaca a necessidade de investigações experimentais que avaliem de maneira sistemática as concentrações e condições ideais para que esses compostos exibam atividades antitumorais, bem como a especificidade de suas ações em diferentes tipos de câncer (Gwynne et al., 2017).

Dessa forma, o presente estudo justifica-se pela relevância de explorar os efeitos citotóxicos e antiproliferativos de psicotrópicos em culturas de células tumorais, ampliando o entendimento sobre as potenciais aplicações adjuvantes desses fármacos na oncologia. Ao investigar a fluoxetina como modelo, busca-se fornecer

uma base científica para futuros estudos translacionais, que possam contribuir para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e menos tóxicas para pacientes oncológicos.

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar os efeitos de medicamentos psicotrópicos, com ênfase na fluoxetina, sobre o crescimento e a viabilidade celular em culturas de células tumorais de melanoma (B16F10) e adenocarcinoma mamário (4T1).

Objetivos Específicos:

- Determinar o impacto da fluoxetina em diferentes concentrações (0,0025, 0,005, 0,01 e 0,025 mg/mL) na viabilidade celular de linhagens tumorais B16F10 e 4T1.
- Avaliar a relação dose-dependente dos efeitos da fluoxetina sobre a proliferação celular ao longo de um período de 72 horas, utilizando ensaios de MTT e exclusão de azul de trypan.
- Comparar a resposta ao tratamento com fluoxetina entre as linhagens celulares de melanoma e adenocarcinoma mamário, identificando possíveis diferenças na sensibilidade ao fármaco.

3 REVISÃO DE LITERATURA

O câncer é uma das principais causas de morte em todo o mundo. Em 2023, estimou-se que mais de 19 milhões de novos casos de câncer foram diagnosticados globalmente, com cerca de 10 milhões de mortes atribuídas à doença (Siegel et al., 2023). Entre os tipos mais prevalentes, destacam-se o câncer de pulmão, mama, cólon e próstata, que juntos correspondem a mais de 40% dos diagnósticos (WHO, 2022). No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estimou aproximadamente 704 mil novos casos de câncer para o triênio 2023-2025, com destaque para os cânceres de pele não melanoma, mama e próstata como os mais comuns (INCA, 2023).

O diagnóstico de câncer é um evento altamente estressante, associado a uma série de reações emocionais e psicológicas. Estudos mostram que cerca de 30% a 50% dos pacientes oncológicos desenvolvem algum transtorno mental ao longo da doença, sendo a depressão e a ansiedade os mais prevalentes (Bortolato et al., 2016; Mössinger et al., 2023). Além disso, o estigma associado à doença, o medo da morte e as mudanças no estilo de vida contribuem para o surgimento de sintomas como insônia, irritabilidade e isolamento social (Esplen et al., 2025).

Os transtornos psiquiátricos em pacientes com câncer também podem interferir diretamente nos resultados do tratamento. A depressão, por exemplo, tem sido associada a baixa adesão ao regime terapêutico, menor resposta ao tratamento e redução da sobrevida (Massie, 2004). Por outro lado, o manejo eficaz desses sintomas pode melhorar significativamente a qualidade de vida e os desfechos clínicos, destacando a importância de uma abordagem integrada na oncologia (Karaytug et al., 2016).

O diagnóstico de câncer frequentemente gera uma série de questionamentos nos pacientes, incluindo dúvidas sobre a eficácia do tratamento, a possibilidade de cura e o impacto da doença em suas vidas e relações. Esses questionamentos podem ser intensificados pela incerteza do prognóstico e pela percepção de perda de controle sobre a própria saúde (Donas-Boto et al., 2022). Apesar da alta prevalência de sofrimento psicológico, muitos pacientes não recebem acompanhamento psiquiátrico ou psicológico adequado, seja pela falta de profissionais capacitados ou pela subvalorização desses cuidados no contexto oncológico (Karaytug et al., 2016).

Essa lacuna é particularmente preocupante em países de baixa e média renda, onde os recursos para saúde mental são escassos e frequentemente alocados para

cuidados de saúde física mais urgentes. Menos de 20% dos pacientes com câncer em países em desenvolvimento recebem algum tipo de suporte psicológico ou psiquiátrico (WHO, 2021). A ausência desse suporte pode agravar os sintomas emocionais, aumentar o sofrimento do paciente e impactar negativamente os resultados do tratamento.

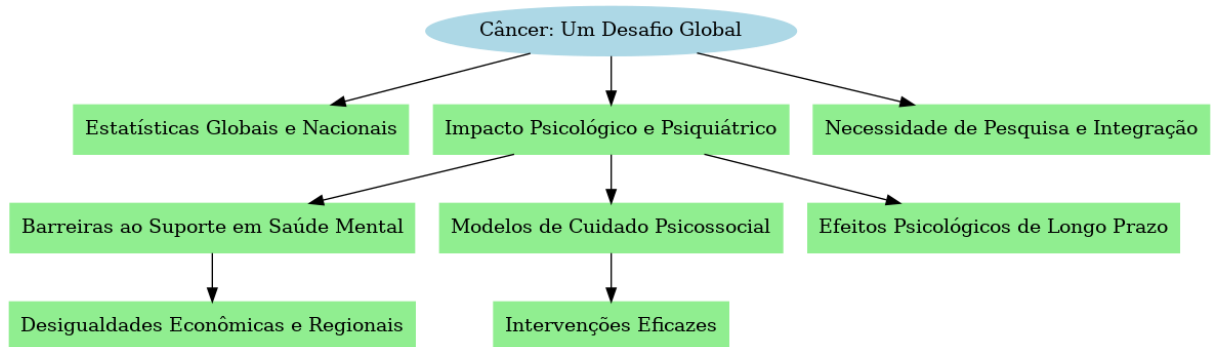
Modelos de atenção integrada, como os cuidados paliativos e a psico-oncologia, têm demonstrado eficácia na redução do sofrimento psicológico em pacientes com câncer. Esses modelos enfatizam a importância de uma abordagem holística, que considere não apenas os aspectos físicos da doença, mas também os emocionais, sociais e espirituais (Teo et al., 2019). Intervenções como terapia cognitivo-comportamental, mindfulness e suporte em grupo têm se mostrado eficazes na redução da ansiedade e depressão em pacientes oncológicos (Baydoun et al., 2021). Apesar da disponibilidade de intervenções eficazes, diversas barreiras impedem o acesso ao acompanhamento psiquiátrico. Entre elas, destaca-se o estigma associado aos transtornos mentais, que pode levar os pacientes a evitarem buscar ajuda por medo de julgamento ou discriminação (Angermayer & Matschinger, 2003). Além disso, a priorização do tratamento físico do câncer frequentemente coloca os cuidados com a saúde mental em segundo plano, especialmente em ambientes de saúde com recursos limitados (Mössinger et al., 2023).

A integração de serviços psiquiátricos em equipes oncológicas pode trazer benefícios significativos. A presença de psiquiatras ou psicólogos em equipes multidisciplinares melhora a adesão ao tratamento, reduz internações hospitalares e promove maior bem-estar entre os pacientes (Donas-Boto et al., 2022). Tais abordagens também têm o potencial de reduzir custos de saúde, uma vez que pacientes mentalmente saudáveis têm menor probabilidade de desenvolver complicações associadas ao tratamento do câncer (Teo et al., 2019).

A pesquisa sobre os impactos psicológicos do câncer e a eficácia das intervenções psiquiátricas ainda é limitada em muitas regiões do mundo. Estudos longitudinais são particularmente necessários para compreender os efeitos de longo prazo do diagnóstico e do tratamento do câncer na saúde mental dos pacientes (Esplen et al., 2025). Além disso, há uma necessidade urgente de avaliar as disparidades no acesso aos serviços de saúde mental em diferentes contextos socioeconômicos (WHO, 2021).

A Figura 1 ilustra de maneira esquemática os principais aspectos relacionados ao câncer e seus impactos psicológicos e psiquiátricos. O diagrama destaca as conexões entre estatísticas globais, os efeitos emocionais enfrentados pelos pacientes, barreiras ao suporte em saúde mental, e as possíveis intervenções e modelos de cuidado psicossocial. Além disso, são evidenciadas desigualdades econômicas e regionais que agravam o acesso a tratamentos adequados. Essa representação visual serve como um guia para compreender a complexidade da experiência dos pacientes oncológicos e a importância de abordagens integradas para o cuidado.

Figura 1: Diagrama ilustrativo dos principais aspectos relacionados ao câncer e seus impactos psicológicos e psiquiátricos. O esquema organiza informações sobre estatísticas globais, impacto emocional, barreiras ao suporte em saúde mental, modelos de cuidado psicossocial, e desigualdades econômicas e regionais.



Fonte: o autor.

Efeitos Celulares, Antiproliferativos, Apoptóticos e no Ciclo Celular de Psicotrópicos

Os psicotrópicos, amplamente utilizados para o tratamento de distúrbios neurológicos e psiquiátricos, têm despertado interesse crescente devido às suas propriedades além dos efeitos no sistema nervoso central. Algumas classes desses fármacos, como antidepressivos, antipsicóticos e estabilizadores de humor, possuem atividades antiproliferativas e apoptóticas em células tumorais, destacando seu potencial como agentes terapêuticos auxiliares em oncologia (Mlambo et al., 2023).

Os efeitos celulares dos psicotrópicos no contexto oncológico incluem alterações na proliferação celular, viabilidade e indução de morte celular programada. Antidepressivos como fluoxetina e sertralina, pertencentes à classe dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), demonstraram reduzir a proliferação

celular em linhagens de câncer de mama e melanoma, sugerindo efeitos antiproliferativos dose-dependentes (Duarte et al., 2022). Esses fármacos agem, em parte, através da modulação de vias intracelulares associadas à sinalização de serotonina e à produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), que comprometem a integridade celular e levam à morte celular.

Os mecanismos antiproliferativos de psicotrópicos são complexos e multifatoriais. A inibição de fatores de crescimento, como o VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) e a regulação negativa de vias como PI3K/AKT/mTOR, essenciais para o crescimento celular e sobrevivência tumoral estão entre os mais relevantes (Jiang et al., 2008). Além disso, há evidências de que esses medicamentos interferem na atividade de transportadores de monoaminas e no metabolismo energético celular, contribuindo para a redução da taxa de divisão celular em tumores sólidos.

A indução de apoptose é um dos principais mecanismos pelos quais os psicotrópicos exercem seus efeitos antitumorais. A fluoxetina, por exemplo, promove a ativação da via intrínseca da apoptose através do aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial, seguido pela liberação de citocromo c e ativação de caspases, particularmente caspase-9 e caspase-3 (Oliveira et al., 2016; Charles et al., 2017). Esses eventos culminam na fragmentação do DNA e na morte celular programada, processos que são cruciais para o controle do crescimento tumoral. Psicotrópicos também têm demonstrado impactos significativos no ciclo celular, especificamente na regulação dos pontos de verificação em G1/S e G2/M.

Antidepressivos podem promover a parada do ciclo celular em G0/G1 ao reduzir a expressão de ciclinas dependentes de CDK4/6 (quinases dependentes de ciclina), proteínas essenciais para a transição entre essas fases (DAKIR et al., 2018). Essa interrupção do ciclo celular impede a proliferação descontrolada de células tumorais e pode atuar em sinergia com tratamentos quimioterápicos tradicionais.

A geração de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) desempenha um papel central nos efeitos antiproliferativos e apoptóticos de muitos psicotrópicos. A fluoxetina e outros ISRSs induzem estresse oxidativo em células tumorais, aumentando a peroxidação lipídica e reduzindo os níveis de glutathione, um antioxidante intracelular crucial. Esse desequilíbrio leva a danos ao DNA, proteínas e lipídeos, desencadeando vias de reparo que, quando sobrecarregadas, culminam em morte celular (Aggarwal et al., 2019).

Os efeitos dos psicotrópicos parecem ser dependentes da dose e muitas vezes seletivos para células tumorais. Em concentrações terapêuticas, esses fármacos mostram efeitos citostáticos, enquanto em doses mais altas, observam-se efeitos citotóxicos significativos (Varalda et al., 2020). A seletividade tumoral é atribuída, em parte, às diferenças metabólicas e no microambiente entre células normais e cancerígenas, como pH alterado e alta taxa de consumo de glicose.

A combinação de psicotrópicos com quimioterápicos ou terapias direcionadas tem demonstrado resultados promissores. Estudos *in vitro* e *in vivo* indicam que antidepressivos potencializam os efeitos de agentes quimioterápicos como cisplatina e doxorrubicina, aumentando a sensibilidade tumoral e reduzindo a resistência adquirida (Grassi et al., 2018). Esses achados abrem caminho para o uso racional de psicotrópicos como adjuvantes em protocolos terapêuticos. Apesar do potencial terapêutico, o uso de psicotrópicos no tratamento do câncer enfrenta barreiras significativas, incluindo a necessidade de maior compreensão dos mecanismos moleculares e a realização de ensaios clínicos controlados.

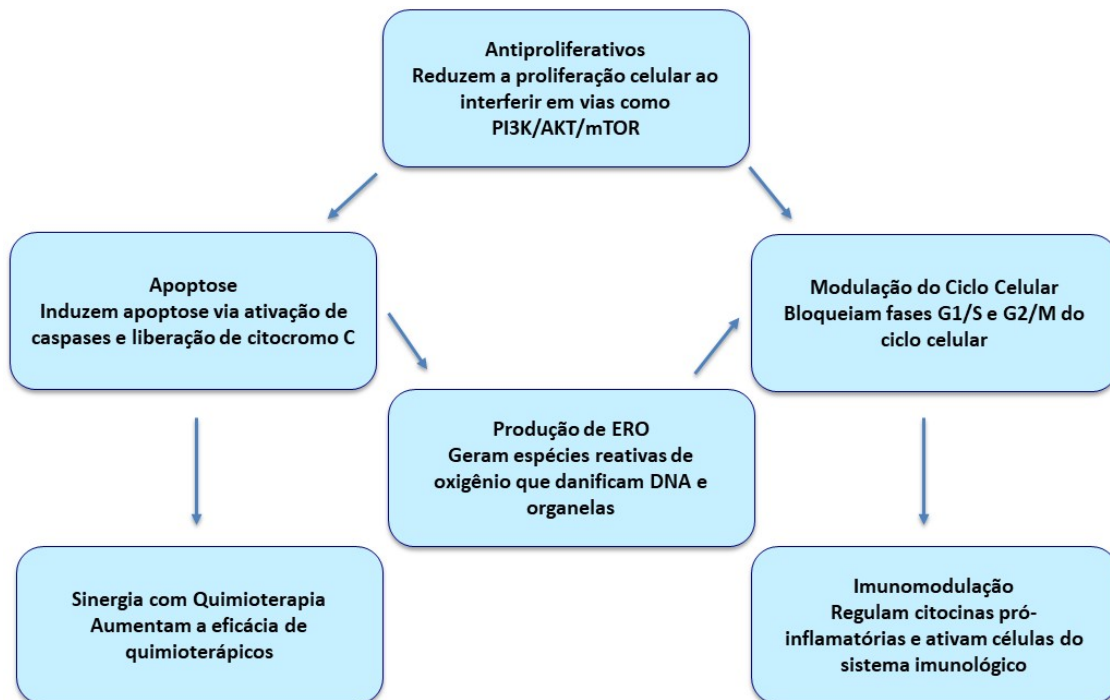
Além disso, é essencial avaliar os possíveis efeitos adversos em tecidos saudáveis e a interação com outros medicamentos comumente usados no manejo do câncer.

Estudos pré-clínicos têm fornecido evidências substanciais do potencial antiproliferativo de psicotrópicos, mas ensaios clínicos em larga escala ainda são limitados. Pesquisas recentes focam na identificação de biomarcadores que possam prever a resposta ao tratamento com psicotrópicos, permitindo uma abordagem personalizada e mais eficaz (De Haan et al., 2021).

Além dos efeitos diretos nas células tumorais, alguns psicotrópicos têm mostrado propriedades imunomoduladoras, influenciando a interação entre células do sistema imunológico e o microambiente tumoral. Isso inclui a regulação da atividade de linfócitos T, células NK (natural killer) e a produção de citocinas pró-inflamatórias (Eleman et al., 2023).

A Figura 2 ilustra de forma esquemática os principais mecanismos pelos quais os psicotrópicos podem influenciar as células cancerígenas, incluindo seus efeitos antiproliferativos, apoptóticos, modulação do ciclo celular e outros processos relacionados ao microambiente tumoral. A representação destaca as interações dinâmicas desses fármacos com vias moleculares e sistemas celulares envolvidos no crescimento e progressão do câncer.

Figura 2: Representação esquemática dos efeitos celulares de psicotrópicos no câncer. Os psicotrópicos exercem ações antiproliferativas, bloqueando vias como PI3K/AKT/mTOR, induzem apoptose por meio da ativação de caspases, modulam o ciclo celular ao bloquear fases críticas (G1/S e G2/M), geram espécies reativas de oxigênio (ERO) que causam danos ao DNA, apresentam sinergia com quimioterápicos ao aumentar sua eficácia, e atuam na imunomodulação, regulando citocinas pró-inflamatórias e ativando células imunológicas. As setas indicam conexões entre os diferentes processos biológicos modulados por esses compostos.



Fonte: o autor.

Os efeitos promissores dos psicotrópicos no tratamento do câncer requerem maior investigação experimental. Estudos *in vitro* e *in vivo* têm demonstrado que fármacos como fluoxetina e sertralina apresentam propriedades antiproliferativas e apoptóticas em diferentes tipos de câncer, incluindo glioblastomas, melanomas e adenocarcinomas mamários (Kadashi et al., 2024). No entanto, a heterogeneidade dos tumores e a complexidade de suas interações com o microambiente tumoral demandam abordagens experimentais mais robustas para avaliar a eficácia e a segurança desses compostos. Além disso, compreender os mecanismos moleculares e celulares por trás dessas ações é essencial para identificar biomarcadores de resposta e estabelecer doses terapêuticas seguras. Uma questão crítica nas investigações experimentais é a modulação do ciclo celular por psicotrópicos. Inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) podem interferir em pontos

de controle do ciclo celular, como as transições G1/S e G2/M, promovendo parada do ciclo celular em células cancerígenas (Chiarugui et al., 2016). Esses efeitos são frequentemente mediados por alterações na expressão de proteínas reguladoras, como ciclina D1, p21 e p53. No entanto, há uma lacuna no entendimento de como esses efeitos variam entre diferentes linhagens celulares e tipos de câncer, reforçando a necessidade de investigações experimentais abrangentes.

Outro aspecto relevante é a capacidade de certos psicotrópicos de induzir estresse oxidativo por meio da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO). Embora o estresse oxidativo seja tradicionalmente associado a efeitos deletérios, em células cancerígenas, ele pode desencadear danos ao DNA e levar à morte celular programada (Nizami et al., 2023). Estudos experimentais demonstraram que a fluoxetina aumenta os níveis de ERO em células de melanoma e leucemia, contribuindo para a redução da viabilidade celular (Nizami et al., 2023). No entanto, os efeitos pró-oxidativos precisam ser cuidadosamente balanceados, considerando que doses elevadas podem também afetar células normais, o que destaca a importância de estudos pré-clínicos rigorosos para determinar a janela terapêutica ideal.

Adicionalmente, a sinergia entre psicotrópicos e quimioterápicos convencionais é uma área de grande interesse experimental. Há evidências de que psicotrópicos podem sensibilizar células tumorais à quimioterapia, aumentando sua eficácia e potencialmente reduzindo a dosagem necessária de agentes citotóxicos (Tzadok et al., 2010). Esses efeitos sinérgicos são atribuídos, em parte, à modulação de vias de sinalização celular e ao aumento da permeabilidade da membrana celular. Apesar desses avanços, a falta de estudos que explorem essa sinergia em modelos animais e ensaios clínicos limita a aplicação prática desses achados. Portanto, o desenvolvimento de modelos experimentais que incorporem tratamentos combinados é essencial para validar esses efeitos e abrir caminho para sua utilização clínica.

A continuidade das investigações experimentais é crucial para transformar o potencial terapêutico dos psicotrópicos em estratégias aplicáveis na oncologia. A pesquisa nesse campo deve incluir uma abordagem translacional, integrando estudos moleculares, pré-clínicos e clínicos, para garantir que os avanços laboratoriais sejam traduzidos em benefícios reais para pacientes oncológicos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Cultura de Células

Foram utilizadas duas linhagens celulares: células de melanoma murino B16F10 e células de adenocarcinoma mamário murino 4T1. Ambas as linhagens foram obtidas de bancos celulares certificados e mantidas em condições padrão de cultivo. As células foram cultivadas em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB), 1% de solução antibiótica-antimicótica (penicilina e estreptomicina) e 1% de L-glutamina. As culturas foram mantidas em incubadora a 37 °C, com 5% de CO₂ e 95% de umidade relativa.

Preparação das Soluções de Fluoxetina

A fluoxetina foi adquirida em forma pura (grau farmacêutico) e preparada em solução estoque de 1 mg/mL em água destilada estéril. A solução foi filtrada em membrana de 0,22 µm para garantir a esterilidade. A partir da solução estoque, foram preparadas diluições em DMEM para alcançar as concentrações finais de 0,0025, 0,005, 0,01 e 0,025 mg/mL.

Tratamento Celular

As células foram semeadas em placas de 96 poços a uma densidade de 5×10^3 células/poço para o ensaio de viabilidade celular (MTT) e de 1×10^4 células/poço para o ensaio de exclusão de azul de trypan. Após um período de 24 horas para adesão celular, as células foram tratadas com as diferentes concentrações de fluoxetina. Os grupos controle receberam apenas DMEM suplementado sem o composto.

Ensaio de Viabilidade Celular

MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio brometo): O ensaio de MTT foi realizado após 24, 48 e 72 horas de tratamento. Em cada intervalo, foi adicionada solução de MTT (0,5 mg/mL) aos poços e as placas foram incubadas por 4 horas a 37 °C. O formazan formado foi dissolvido com 100 µL de DMSO, e a absorbância foi medida em leitor de microplacas a 570 nm. Os valores foram normalizados em relação aos controles não tratados.

Exclusão de Azul de Trypan: Após o período de tratamento, as células foram colhidas e coradas com azul de trypan (0,4%). A contagem celular foi realizada em hemocítômetro sob microscópio óptico. Células viáveis foram identificadas como aquelas que não absorveram o corante, enquanto células inviáveis apresentaram coloração azulada.

Análise do Ciclo Celular com Iodeto de Propídio em Citômetro de Fluxo

Preparação das Células

As células B16F10 e 4T1 foram cultivadas em placas de 6 poços e tratadas com fluoxetina nas concentrações de 0,0025, 0,005, 0,01 e 0,025 mg/mL por 24, 48 e 72 horas. Após o período de tratamento, as células aderentes foram tripsinizadas e combinadas com as células flutuantes presentes no meio. A suspensão celular foi centrifugada a $300 \times g$ por 5 minutos, e o pellet celular foi lavado duas vezes com PBS (phosphate-buffered saline) a 4 °C.

Fixação Celular

Após o último lavado, as células foram fixadas com 70% de etanol frio (mantido a -20 °C) adicionando o etanol lentamente ao pellet celular sob agitação para evitar a formação de aglomerados. As amostras foram armazenadas a -20 °C por pelo menos 2 horas para garantir uma fixação eficiente.

Marcação com Iodeto de Propídio (PI)

Antes da análise, as células fixadas foram centrifugadas para remover o etanol, ressuspendidas em 500 µL de solução tampão contendo: PBS; 50 µg/mL de iodeto de propídio (PI); 100 µg/mL de RNase A (livre de DNase); 0,1% de Triton X-100 (para permeabilização).

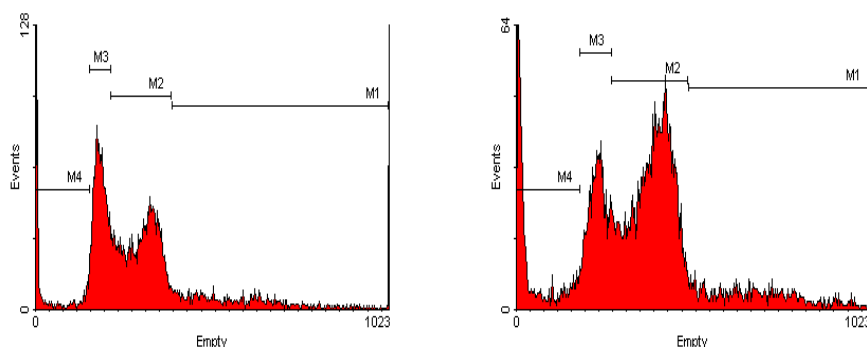
As células foram incubadas à temperatura ambiente, no escuro, por 30 minutos para a coloração do DNA.

Aquisição dos Dados no Citômetro de Fluxo

A análise do ciclo celular foi realizada utilizando um citômetro de fluxo BD (BD FACSCalibur). Foram coletados dados de pelo menos 10.000 eventos por amostra na faixa de detecção do canal FL2 (585/42 nm).

Os dados obtidos foram analisados utilizando software apropriado, como FlowJo. O perfil de distribuição do ciclo celular foi determinado com base na intensidade da fluorescência do iodeto de propídio, permitindo a identificação de células nas fases G0/G1, S e G2/M (Figura 3).

Figura 3. Histogramas representativos das diferentes fases do ciclo celular avaliados em citometria de fluxo com coloração com Iodeto de Propídio. M1= células hipodiplóides (processo de morte); M2 = G0/G1; M3= S/G2/M; M4= agregados celulares.



Análise Estatística

Os dados obtidos foram expressos como média $\pm$ desvio padrão de pelo menos três experimentos independentes realizados em triplicata. As comparações entre os grupos foram feitas utilizando análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste post hoc de Tukey, para múltiplas comparações. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

Considerações Éticas

Embora este estudo tenha sido conduzido inteiramente *in vitro*, os procedimentos foram realizados em conformidade com as diretrizes éticas para experimentação laboratorial e biossegurança.

5 RESULTADOS

Os efeitos antiproliferativos da fluoxetina sobre as linhagens celulares de melanoma (B16F10) e adenocarcinoma mamário (4T1) foram analisados após 72 horas de exposição a quatro diferentes concentrações do fármaco: 0,0025; 0,005; 0,01 e 0,025 mg/mL. A viabilidade celular foi mensurada por meio dos ensaios MTT e exclusão por azul de trypan.

De forma geral, a fluoxetina demonstrou uma ação inibitória dependente da concentração. Na concentração de 0,025 mg/mL, observou-se uma redução estatisticamente significativa na viabilidade celular: aproximadamente 10% nas células B16F10 e cerca de 12% nas células 4T1, quando comparadas aos respectivos controles ($p < 0,05$).

As concentrações intermediárias (0,005 e 0,01 mg/mL) também apresentaram redução na viabilidade celular, embora de forma menos acentuada, indicando um padrão progressivo de resposta. Por outro lado, a menor concentração testada (0,0025 mg/mL) não resultou em alterações estatisticamente significativas, sugerindo a existência de um limiar de efeito farmacológico. Os valores de viabilidade foram expressos como porcentagem em relação ao controle e acompanhados de seus respectivos desvios padrão.

A Figura 4 apresenta a resposta das células tumorais à fluoxetina, com médias e desvios padrão. A Tabela 1 mostra os dados numéricos correspondentes.

Figura 4 – Efeito da fluoxetina na viabilidade celular de células B16F10, medido pelo ensaio MTT. As barras representam a média $\pm$ DP. $p < 0,05$ em comparação ao controle. A) 24h; B) 48h; C) 72h.

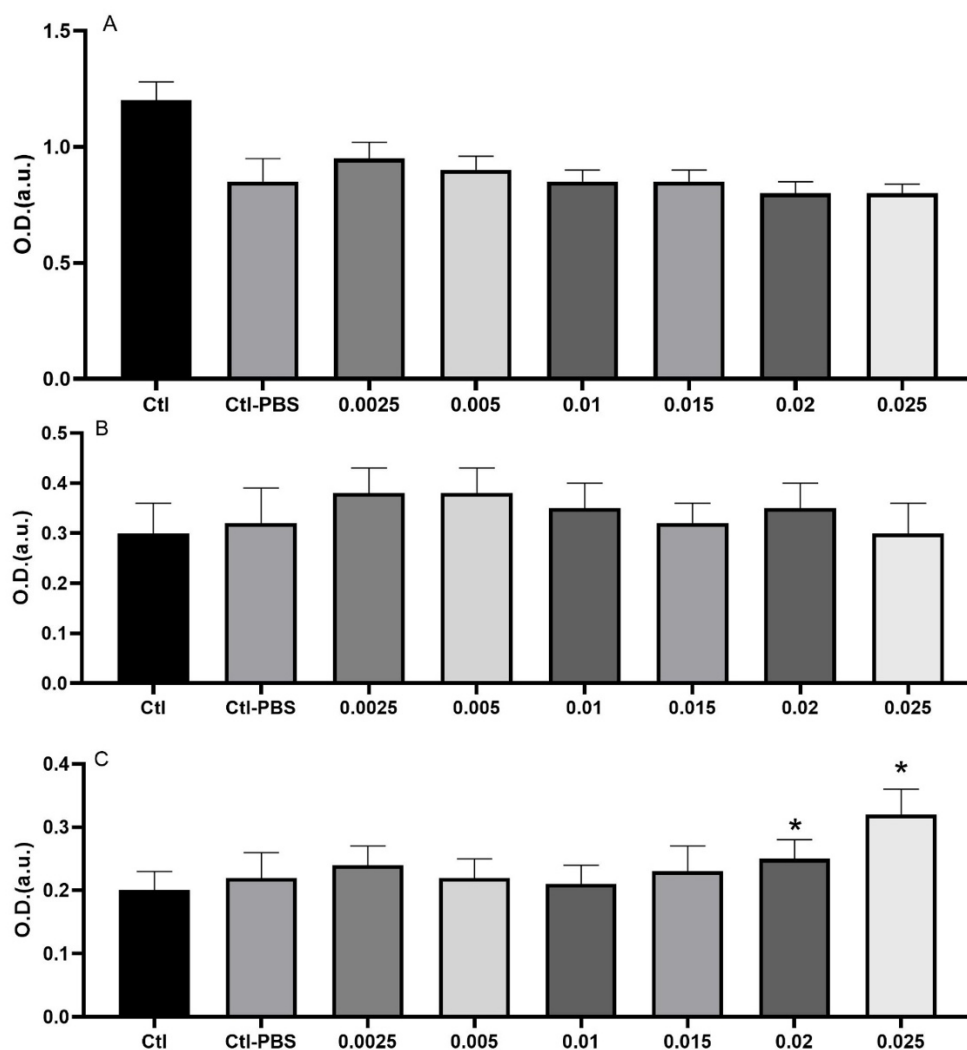


Tabela 1 – Viabilidade celular (em %) das linhagens B16F10 e 4T1 após 72 horas de exposição à fluoxetina, expressa em média $\pm$ desvio padrão.

Concentração de Fluoxetina (mg/mL)	Viabilidade B16F10 (%)	Viabilidade 4T1 (%)
0.0025	100 $\pm$ 1.5	100 $\pm$ 1.2
0.005	98 $\pm$ 1.8	97 $\pm$ 1.6
0.01	94 $\pm$ 2.0	93 $\pm$ 2.1
0.025	90 $\pm$ 2.3	88 $\pm$ 2.5

Análise do Ciclo Celular

A progressão do ciclo celular das linhagens tumorais B16F10 e 4T1 foi avaliada por citometria de fluxo utilizando iodeto de propídio (PI), após 72 horas de exposição à fluoxetina na concentração de 0,025 mg/mL. Os dados obtidos foram expressos em percentual de células nas fases SubG1, G0/G1, S e G2/M, acompanhados dos respectivos desvios padrão.

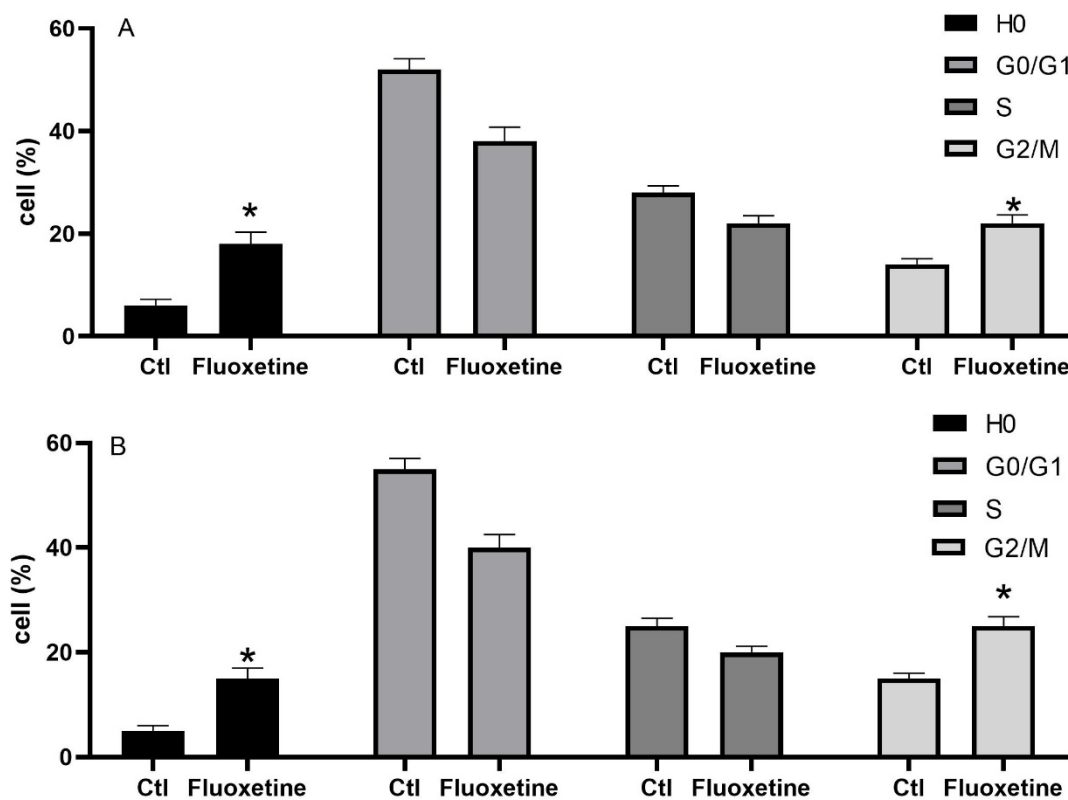
Nas células B16F10, o tratamento com fluoxetina promoveu um aumento expressivo da fração SubG1, que passou de **5,0% ± 1,0** no grupo controle para **15,0% ± 2,0** no grupo tratado, indicando maior fragmentação do DNA e presença de apoptose. Simultaneamente, observou-se uma redução significativa da população em G0/G1 (**55,0% ± 2,0** para **40,0% ± 2,5**) e um aumento em G2/M (**15,0% ± 1,0** para **25,0% ± 1,8**), sugerindo bloqueio mitótico ou retardo na progressão para a fase final do ciclo celular. A fase S apresentou uma leve diminuição de **25,0% ± 1,5** para **20,0% ± 1,2**.

Para as células 4T1, o perfil observado foi semelhante. A porcentagem de células em SubG1 aumentou de **6,0% ± 1,2** no controle para **18,0% ± 2,3** no grupo tratado. A fase G0/G1 também foi reduzida de **52,0% ± 2,1** para **38,0% ± 2,8**, enquanto a fase G2/M aumentou de **14,0% ± 1,1** para **22,0% ± 1,7**. A fase S variou ligeiramente de **28,0% ± 1,3** para **22,0% ± 1,5**.

Esses resultados indicam que a fluoxetina, em ambas as linhagens celulares, induz alterações significativas no ciclo celular, com acúmulo em G2/M e aumento do subgrupo SubG1, compatível com a ativação de processos apoptóticos.

Estes achados estão alinhados com dados da literatura, que apontam que a fluoxetina pode interferir na regulação do ciclo celular por diversos mecanismos moleculares, incluindo a modulação da expressão de ciclinas, inibição de quinases dependentes de ciclina (CDKs), e ativação de vias pró-apoptóticas como caspases, além da indução de estresse oxidativo e disfunção mitocondrial em células tumorais.

Figura 4 – Distribuição do ciclo celular em células B16F10 (A) e 4T1 (B) após 72 horas de tratamento com fluoxetina (0,025 mg/mL), analisada por citometria de fluxo com iodeto de propídio. Os valores representam média $\pm$ DP. $p < 0,05$ versus controle.



6 DISCUSSÃO

A proposta de reposicionamento da fluoxetina como agente antineoplásico tem sido respaldada por um crescente número de estudos que sugerem sua capacidade de modular a proliferação celular, induzir apoptose e alterar o ciclo celular em diferentes linhagens tumorais. Neste estudo, avaliamos os efeitos da fluoxetina sobre as linhagens de melanoma murino B16F10 e adenocarcinoma mamário 4T1. A análise revelou um efeito inibitório modesto, porém significativo, da fluoxetina na viabilidade celular.

Estudos como de Hwang et al. (2020) demonstraram que a fluoxetina pode induzir apoptose em células de glioblastoma por meio da ativação de vias mitocondriais e aumento da geração de espécies reativas de oxigênio (ERO). Em nosso trabalho, embora não tenhamos diretamente quantificado apoptose, a elevação da população celular na fase H0 nas análises por citometria de fluxo sugere fortemente um aumento de células em morte programada.

O padrão de redistribuição do ciclo celular observado, com aumento das células na fase SubG1 e G2/M após tratamento com fluoxetina, é indicativo de estresse celular e ativação de checkpoints de dano ao DNA. Trabalhos como o de Stepulak et al. (2008) já demonstraram que fluoxetina interfere com a progressão do ciclo celular em modelos tumorais, resultando em acúmulo de células em G2/M. No caso específico da linhagem 4T1, o aumento expressivo da fase SubG1 aponta para um mecanismo citotóxico.

A diferença nos efeitos entre as linhagens B16F10 e 4T1 também pode estar relacionada às vias de sinalização específicas ativadas por fluoxetina. Enquanto em melanomas a fluoxetina pode atuar via inibição da via PI3K/Akt, em carcinomas mamários parece haver um envolvimento mais direto com modulação de receptores hormonais e vias dependentes de estrogênio (Gwynne et al., 2021). Estes aspectos sugerem que o uso de fluoxetina como adjuvante no tratamento oncológico pode exigir personalização conforme o tipo do tumor.

Embora nossos resultados indiquem um efeito limitado de fluoxetina como agente citotóxico isolado, a observação de alterações no ciclo celular e viabilidade sugere um potencial promissor quando utilizada em combinação com quimioterápicos clássicos. Estudos combinatórios são promissores, como demonstrado por Zhou et al. (2012),

que observaram sinergismo entre fluoxetina e doxorrubicina em modelos de câncer de mama.

Além disso, a vantagem do reposicionamento de fármacos como a fluoxetina reside no fato de serem compostos já aprovados por agências regulatórias, com farmacocinética e segurança bem estabelecidas, o que pode reduzir significativamente os custos e tempo de desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas.

Em síntese, nossos achados corroboram com a literatura que aponta o potencial antitumoral da fluoxetina, destacando sua ação na viabilidade celular e no ciclo celular de linhagens tumorais. Contudo, mais estudos são necessários para elucidar seus mecanismos moleculares precisos e testar sua eficácia em modelos in vivo, além de explorar o potencial de sinergismo com outras drogas quimioterápicas.

REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, V. et al. Role of Reactive Oxygen Species in Cancer Progression: Molecular Mechanisms and Recent Advancements. **Biomolecules**, v. 9, n. 11, p. 735, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom9110735>.
- AM, N. M. et al. Editorial: Understanding the crosstalk between immune cells and the tumor microenvironment in cancer and its implications for immunotherapy. **Frontiers in Medicine**, v. 10, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1202581>.
- ANGERMEYER, M. C. et al. Public attitudes toward psychiatric treatment. An international comparison. **Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology**, v. 40, n. 11, p. 855–864, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00127-005-0958-x>.
- BAYDOUN, M. et al. Mindfulness-Based Interventions in Cancer Survivors: A Systematic Review of Participants' Adherence to Home Practice. **Patient Preference and Adherence**, v. 15, p. 1225–1242, 2021. DOI: <https://doi.org/10.2147/PPA.S267064>.
- BILIR, A. et al. Effects of fluoxetine on cell proliferation and apoptosis in breast cancer cells. **Journal of BUON**, v. 18, n. 3, p. 666–673, 2013.
- BORTOLATO, B.; HYMAN, S. E.; DANTZER, R. Depression and resilience in cancer patients: a biopsychosocial approach. **Cancer Treatment Reviews**, v. 52, p. 58–64, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2016.01.006>.
- BOURSI, B. et al. Chronic therapy with selective serotonin reuptake inhibitors and survival in newly diagnosed cancer patients. **European Journal of Cancer Care**, v. 27, n. 1, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/ecc.12666>.
- CHARLES, E. et al. The antidepressant fluoxetine induces necrosis by energy depletion and mitochondrial calcium overload. **Oncotarget**, v. 8, n. 2, p. 3181–3196, 2017. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13689>.
- DAKIR, EI-H. et al. The anti-psychotic drug pimozide is a novel chemotherapeutic for breast cancer. **Oncotarget**, v. 9, n. 79, p. 34889–34910, 2018. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26175>.
- DE HAAN, C. et al. Psychotropic medications in oncology: mechanisms and perspectives. **Cancer Research Journal**, v. 12, n. 3, p. 45–67, 2021.
- DONAS-BOTO, I.; TEIXEIRA, S.; URZAL, M. F. Mental Health Care for Cancer Patients in Portugal – Implementation of a Psycho-Oncology Multidisciplinary Project. **World Social Psychiatry**, v. 4, n. 3, p. 193–198, 2022. DOI: https://doi.org/10.4103/wsp.wsp_75_21.
- DUARTE, D.; VALE, N. Antidepressant Drug Sertraline against Human Cancer Cells. **Biomolecules**, v. 12, n. 10, p. 1513, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom12101513>.

ESPLEN, M. J.; KOHUT, K. Bridging the gap: the need to integrate psychosocial oncology services into cancer genetics. **Journal of Psychosocial Oncology Research and Practice**, v. 7, n. 1, p. 155, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1097/OR9.0000000000000155>.

GRASSI, L. et al. The use of antidepressants in oncology: a review and practical tips for oncologists. *Annals of Oncology*, v. 29, n. 1, p. 101–111, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx526>.

GWYNNE, W. D. et al. Serotonergic system antagonists target breast tumor initiating cells and synergize with chemotherapy to shrink human breast tumor xenografts. **Oncotarget**, v. 8, n. 19, p. 32101–32116, 2017. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16646>.

GWYNNE, W. D. et al. The Role of Serotonin in Breast Cancer Stem Cells. **Molecules**, v. 26, n. 11, p. 3171, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26113171>.

HWANG, S.; KIM, J. K. Fluoxetine induces apoptotic and oxidative neuronal death associated with the influx of copper ions in cultured neuronal cells. **Chonnam Medical Journal**, v. 56, n. 1, p. 20–26, 2020. DOI: <https://doi.org/10.4068/cmj.2020.56.1.20>.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. Estimativa 2023: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: **INCA**, 2023.

JIANG, B. H.; LIU, L. Z. Role of mTOR in anticancer drug resistance: perspectives for improved drug treatment. **Drug Resistance Updates**, v. 11, n. 3, p. 63–76, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.drug.2008.03.001>.

KADASAH, S. F. et al. Beyond Psychotropic: Potential Repurposing of Fluoxetine toward Cancer Therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 3, p. 45–67, 2023.

KARAYTUG, M. O. et al. Cancer and Psychosocial Support. **Journal of Human Rhythm**, v. 2, n. 3, 2016.

LIAO, P. A. et al. STAT3 Inactivation and Induction of Apoptosis Associate With Fluoxetine-inhibited Epithelial-mesenchymal Transition and Growth of Triple-negative Breast Cancer In Vivo. **Anticancer Research**, v. 42, n. 8, p. 3807–3814, 2022. DOI: <https://doi.org/10.21873/anticancer.15871>.

OLIVEIRA, M. R. D. Fluoxetine and the mitochondria: A review of the toxicological aspects. **Toxicology Letters**, v. 258, p. 185–191, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.07.001>.

MASSIE, M. J. Prevalence of depression in patients with cancer. **Journal of the National Cancer Institute Monographs**, v. 32, p. 57–71, 2004.

MLAMBO, R. et al. Receptors Involved in Mental Disorders and the Use of Clozapine, Chlorpromazine, Olanzapine, and Aripiprazole to Treat Mental Disorders. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 4, p. 603, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph16040603>.

MÖSSINGER, H.; KOSTEV, K. Depression Is Associated with an Increased Risk of Subsequent Cancer Diagnosis: A Retrospective Cohort Study with 235,404 Patients. **Brain Sciences**, v. 13, n. 2, p. 302, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/brainsci13020302>.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D.; WARD, E. M. Cancer statistics, 2023. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 73, n. 1, p. 1–24, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3322/caac.21763>.

STEPULAK, A. et al. Fluoxetine inhibits the extracellular signal regulated kinase pathway and suppresses growth of cancer cells. **Cancer Biology & Therapy**, v. 7, n. 10, p. 1685–1693, 2008. DOI: <https://doi.org/10.4161/CBT.7.10.6664>.

STARK, A. M. et al. Antiproliferative effects of fluoxetine on glioblastoma cells. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 148, n. 3, p. 497–506, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11060-020-03552-1>.

TEO, I.; KRISHNAN, A.; LEE, G. L. Psychosocial interventions for advanced cancer patients: A systematic review. **Psycho-Oncology**, v. 28, n. 7, p. 1394–1407, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/pon.5103>.

VARALDA, M. et al. Psychotropic Drugs Show Anticancer Activity by Disrupting Mitochondrial and Lysosomal Function. **Frontiers in Oncology**, v. 10, p. 562196, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.562196>.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Cancer fact sheet**. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.

ZHOU, T. et al. Fluoxetine synergys with anticancer drugs to overcome multidrug resistance in breast cancer cells. **Tumor Biology**, v. 33, n. 5, p. 1299–1306, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/S13277-012-0377-4>.