

# AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANGIOGÊNICA/ANTIANGIOGÊNICA, MUTAGÊNICA/ANTIMUTAGÊNICA DA FOSFOETANOLAMINA

## EVALUATION OF ANGIOGENIC/ANTIANGIOGENIC, MUTAGENIC/ANTIMUTAGENIC ACTIVITIES OF PHOSPHOETHANOLAMINE

Cláudia Rachid Costa<sup>a</sup>, Maria Alice Montes de Sousa<sup>a</sup>, Susy Ricardo Lemes Pontes<sup>b\*</sup>, Luciane  
Madureira Almeida<sup>c</sup>, Pablo José Gonçalves<sup>d</sup>, Fátima Mrue<sup>e</sup>, Paulo Roberto de Melo-Reis<sup>f</sup>

a- Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde. Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GOÍÁS). Área V, Campus I, Rua 232, nº 128, 3º andar, CEP 74605-140, Goiânia, GO, Brasil. b – Centro Universitário Goyazes. Rodovia GO-060, KM 19, 3184 - St. Laguna Park, 75393-365, Trindade - GO, Brasil. <https://orcid.org/0000-0001-5303-6910>. c - Universidade Estadual de Goiás, Rodovia BR 153, nº 3105, Fazenda Barreiro do Meio, Campus Henrique Santillo, 75132-400 Anápolis, GO, Brazil <http://orcid.org/0000-0003-1764-1480>. d – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Física. Avenida Esperança, s/n, Campus Samambaia. CEP: 74690-900. Goiânia, GO, Brasil. <https://orcid.org/0000-0003-0246-1073>. e - Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Escola de Ciências Médicas, Farmacêutica e Biomédicas. Universidade Federal de Goiás. Faculdade de Medicina – Faculdade de Medicina <https://orcid.org/0000-0001-8824-3928>. f - Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Mestrado em Ciências Ambientais e Saúde (MCAS). Laboratório de Estudos Experimentais e Biotecnológicos, Rua 232, nº 128, 3º andar, CEP 74605-140, Goiânia-GO, Brasil. <http://orcid.org/0000-0001-9660-2572>

\*Correspondente: [Susy.pontes@unigy.edu.br](mailto:Susy.pontes@unigy.edu.br)

### Resumo

Objetivo: avaliar as atividades angiogênica/antiangiogênica, mutagênica/antimutagênica da fosfoetanolamina. Metodologia: O teste de angiogênese foi realizado através do modelo experimental em membrana corioalantóide (MCA) de ovo de galinha. Enquanto os testes de mutagenicidade e antimutagenicidade, foram realizados pelo Teste de Micronúcleo em medula óssea de camundongo. Resultados: as MCAs tratadas com solução aquosa de fosfoetanolamina na concentração de 500 mg/mL, apresentaram diferença significativa quando comparadas ao controle positivo ( $p < 0,05$ ), não havendo aumento no número de junções de vasos sanguíneos, porém, quando comparadas ao controle inibidor e negativo, apresentaram significativa diferença ( $p < 0,05$ ), observando aumento no número destas junções. No teste do micronúcleo, nas concentrações de 250 e 500 mg/mL, a solução aquosa de fosfoetanolamina apresentou atividade antimutagênica, demonstrando diferença significativa, em relação aos controles positivo e negativo ( $p < 0,05$ ). Conclusão: a solução aquosa da Fosfoetanolamina sintética apresentou atividade angiogênica em todas as concentrações testadas, não apresentou ação mutagênica em nenhuma das concentrações. Todavia, na avaliação de antimutagenicidade, a solução aquosa da Fosfoetanolamina sintética apresentou ação antimutagênica significativa.

**Palavras-chave:** Angiogênese. Fosfoetanolamina sintética. Membrana Corioalantóide. Mutagenicidade.

## Abstract

**Aim:** to evaluate the angiogenic/antiangiogenic, mutagenic/antimutagenic activities of phosphoethanolamine. **Methodology:** The angiogenesis test was carried out using an experimental model in chorioallantoic membrane (CAM) of chicken egg. While the mutagenicity and antimutagenicity tests were performed by the Micronucleus Test in mouse bone marrow. **Results:** as CAMs treated with aqueous phosphoethanolamine solution at a concentration of 500 mg/mL, they showed a significant difference when detected in the positive control ( $p < 0.05$ ), with no increase in the number of blood vessel junctions, however, when unexpected to the inhibitory and negative control, showed a significant difference ( $p < 0.05$ ), observing an increase in the number of these junctions. In the micronucleus test, at concentrations of 250 and 500 mg/mL, the aqueous solution of phosphoethanolamine showed antimutagenic activity, demonstrating a significant difference in relation to the positive and negative controls ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** the aqueous solution of synthetic Phosphoethanolamine showed angiogenic activity in all concentrations tested, it did not show mutagenic action in any of the concentrations. However, in the evaluation of antimutagenicity, the aqueous solution of synthetic phosphoethanolamine showed a significant antimutagenic action.

**Keywords:** Childhood dyslipidemia. Overweight. Malnutrition.

## Introdução

A fosfoetanolamina sintética (*synthetic phosphoethanolamine-Pho-s*), conhecida popularmente como “pílula do câncer” ou Pho-s, vem sendo utilizado de forma indiscriminadas por populares, com a promessa de cura das neoplasias malignas no Brasil. Apesar do seu uso, não há comprovação científica dos seus efeitos terapêuticos e eficácia no tratamento de tumores. A Pho-s é um precursor da biossíntese de fosfolípidos da membrana celular, e agiria na célula tumoral causando sua apoptose, o que interferiria diretamente no crescimento e no desenvolvimento da neoplasia. Este mecanismo seria diferente de outras drogas, pois não teria como alvo o ácido desoxirribonucleico (DNA) (MOTA; SOUSA, 2017; FERREIRA et al., 2012a).

O uso da fosfoetanolamina no Brasil é empírico, uma vez que essa substância ainda está fase experimental. Porém já causou grande discussão no meio acadêmico devido a alta repercussão na mídia. Essa exposição midiática alcançou repercussão internacional e expos o Brasil a uma situação embaraçosa e os pacientes a danos desconhecidos. Ainda hoje a fosfoetanolamina não possui registro na ANVISA e liberação para sua comercialização. Pela lei 13.269/2016, a fosfoetanolamina foi imposta para o tratamento do câncer, sem bases científicas para a confirmação dos efeitos e eficácia do tratamento anticâncer, por meio de

estudos laboratoriais experimentais e ensaios clínicos (OLIVEIRA; SILVEIRA, 2016; PONDÉ; DE AZAMBUJA; ADES, 2016).

Avaliando os diferentes mecanismos de ação de drogas antitumorais, uma propriedade interessante para novas drogas seria a inibição da angiogênese nos tumores, conhecido como terapia antiangiogênica. A angiogênese é o processo através do qual as células estimulam a formação dos novos vasos sanguíneos, os quais necessários para o fornecimento dos nutrientes essenciais para seu crescimento celular (PINHO, 2005). A terapia antiangiogênica consiste basicamente no uso de algumas drogas para cortar o suprimento sanguíneo para as microrregiões tumorais, resultando em hipóxia e necrose nos tecidos tumorais sólidos e conseqüentemente sua morte por desnutrição (WEISS et al., 2012). A terapia antiangiogênica tem sido eficiente no tratamento carcinoma de células renais metastático, mas não para outros, como câncer de mama, melanoma, pâncreas e câncer de próstata (VASUDEV; REYNOLDS, 2014).

Além da atividade angiogênica, o processo carcinogênico também é influenciado pela mutagenicidade, onde nesta, as células podem se multiplicar de forma descontrolada em decorrência de mutações causadas por diversos fatores, inclusive por medicações. As substâncias antimutagênicas, todavia, podem ser classificadas ou divididas em desmutagênicos, e possuem o papel de proteção ao inativar as substâncias mutagênicas antes de atuarem sobre o DNA e as substâncias bio-antimutagênicas com capacidade de inibir a mutação por interferirem sobre os processos metabólicos de reparação inerentes a célula (KADA; MORITA; INOUE, 1978). Diante do exposto, esta pesquisa avaliou as atividades angiogênica/antiangiogênica, mutagênica/antimutagênica da fosfoetanolamina sintética.

## **Material e Métodos**

A fosfoetanolamina utilizada, foi comercializada pela Sigma-Aldrich, a O-Phosphorylethanolamine P0503. Fórmula linear  $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{H}_2$ , peso molecular 141,06.

### *Teste da Angiogênese em membrana corioalantóide*

Foram analisadas 50 membranas corioalantóide do ovo embrionado de galinha (*Gallus domesticus*). Os ovos foram obtidos da granja São Domingos, Setor Vale das Pombas da cidade de Aparecida de Goiânia – Goiás. Inicialmente foi realizado a assepsia e antissepsia dos ovos

embrionados de galinha, logo em seguida foram incubados em estufa automática a temperatura de 37°C e com umidade entre 60 e 70%, permanecendo durante dezesseis dias em incubação.

Ao quinto dia de incubação, os ovos foram retirados da estufa para a realização de uma abertura circular na casca dos mesmos, com auxílio de uma Micro Retífica Dremel®. Após abertura da casca dos ovos, foi colocado uma gota de cloreto de sódio a 0,9% (NaCl 0,9% p/v), para a facilitação da retirada da membrana interna do ovo, assim expondo a Membrana Corioalantóide (MCA) já vascularizada. A abertura foi vedada com fita adesiva e o ovo foi novamente incubado a 37° C. Todo este procedimento foi realizado dentro de uma câmara de fluxo laminar, em ambiente previamente esterilizado com luz ultravioleta

Ao décimo terceiro dia de incubação, os ovos foram retirados novamente da estufa para a colocação dos discos de papel filtro banhados com 5 µL com a substância teste (Fosfoetanolamina), e com os controles (negativo, indutor e inibidor), para a inoculação da solução Fosfoetanolamina no grupo teste, e, juntamente com os grupos controles (negativo, indutor e inibidor), os discos de papel filtro foram colocados diretamente sobre a membrana corioalantóide (MCA). Em seguida todos os ovos foram vedados novamente e recolocados para a incubação até o 16° dia.

Ao final do décimo sexto dia (último dia de incubação), os ovos foram retirados da estufa, para remoção das membranas. Todas as MCAs foram fixadas em solução de formol (3,7 % v/v) por 5 minutos. Após isso, foram cortadas detalhadamente e retiradas, sendo mantidas em placa de Petri com solução de formol a 10%. Em seguida, foram fotografadas com equipamento digital, em tamanho 640 x 480 pixels e formato de RGB 24 bits, padronizados com objetivo de analisar e quantificar a rede vascular (VAN DER LUIT et al., 2007; WILTING; CHRIST; WEICH, 1992).

#### *Mutagenicidade pelo Teste do Micronúcleo em medula óssea de camundongos*

O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, protocolo nº 4665190417. Para realização do teste de micronúcleo foram utilizados 48 camundongos heterogênicos, linhagem *Mus musculus*, saudáveis, de origem do Biotério Central da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Machos e fêmeas, apresentavam peso corpóreo entre 30 a 40 g, e idade entre 90 a 95 dias. Os animais foram alojados em gaiolas individuais de polipropileno, com piso sólido, forradas com maravalha esterilizada, conforme padrões internacionais, estavam acomodados em ambiente

com temperatura média de  $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $55\% \pm 5\%$ ; com ciclo de claro-escuro de 12 horas e tiveram água e alimentação *ad libitum*.

Os camundongos foram divididos em 8 grupos, cada grupo foi composto por 6 animais. Para avaliação da mutagenicidade, o grupo teste, os animais foram tratados via intraperitoneal (i.p.) com a solução aquosa de Fosfoetanolamina em doses de 1000, 500 e 250 mg/Kg durante 24 horas. Para avaliação da antimutagenicidade, as mesmas doses do grupo teste com solução aquosa de Fosfoetanolamina, foram administradas juntamente com uma dose única de 2 mg/Kg de Cloridrato de doxorrubicina i.p. também durante um período de 24 horas. O grupo controle negativo, foi tratado com água destilada estéril (1 mL/100 g), enquanto o controle positivo foi tratado com 2mg/Kg de Cloridrato de doxorrubicina. Após 24 horas de tratamento, os animais foram eutanasiados através de deslocamento cervical. Logo após, tiveram seus fêmures retirados. As epífises dos fêmures foram cortadas e a medula óssea foi lavada com 1 mL de soro fetal bovino. Em sequência, após homogeneização da medula no soro, esta foi centrifugada a 1000 x rpm durante 5 minutos. Descartou-se parcialmente o sobrenadante, e o precipitado de células foi homogeneizado. Uma gota da suspensão foi transferida para lâminas de vidro para confecção de esfregaço celular. Após secagem das lâminas, estas foram fixadas em metanol absoluto durante 5 minutos e coradas em solução corante PANÓTICO. Após este período, as lâminas foram lavadas em água corrente e deixadas secar em temperatura ambiente (HEDDLE et al., 1983, 1991).

#### *Análise citogenética*

A análise das lâminas foi realizada em microscópio de luz comum Nikon, com a finalidade de se detectar possíveis alterações e/ou perdas cromossômicas (micronúcleos) nos eritrócitos policromáticos (EPC) da medula óssea dos animais submetidos a diferentes tratamentos. As células foram visualizadas em objetiva de imersão (100x) e ocular (10x), usando duas lâminas para cada animal, foram contados 4000 EPC por camundongo, utilizou-se a média de duas lâminas como resultado (OECD, 2014).

#### *Análise de dados*

No teste de angiogênese utilizando-se as MCAs, a análise estatística dos dados foi conduzida utilizando o software BioEstat versão 5.3. Foram analisadas 50 membranas, sendo

10 membranas por grupo. A diferença entre os controles e as diferentes concentrações pela análise de variância ANOVA – teste de *Tukey*. As diferenças entre os grupos (controles e teste) foram considerados significativos os valores de  $p < 0,05$ .

No teste do micronúcleo, as frequências de eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN) em 4.000 EPC por camundongo dos grupos teste, foram comparadas em relação ao grupo controle negativo ou positivo pela análise de variância de ANOVA – teste *Tukey* (MELO-REIS et al., 2011). Foram considerados significativos valores de  $p < 0,05$ .

## Resultados

As redes vasculares das membranas foram analisadas e os resultados demonstraram um aumento significativo em relação ao comprimento dos vasos, na concentração de 500 mg/mL de fosfoetanolamina, quando comparada aos controles, negativo e inibidor ( $p < 0,05$ ), não apresentando diferença significativa quando comparada ao controle positivo, demonstrando atividade angiogênica, porém, não tão elevada, como o controle positivo. Enquanto na concentração de 1000 mg/mL, houve diferença significativa quando comparada aos controles negativo e inibidor ( $p < 0,05$ ), não havendo diferença significativa, quando comparada ao controle positivo, demonstrando importante atividade angiogênica (Tabela 1 e Figuras 1 e 2).

**Tabela 1.** Médias e desvios padrões obtidos na mensuração do comprimento, calibre, números de junções e complexos dos vasos sanguíneos.

Grupos	Comprimento (Pixel)	Calibre (Pixel)	Número de junções	Número de Complexos
Controle Positivo (Regederm®)	9864,4 ± 3758,6	54046,9 ± 23123,2	256,0 ± 130,5	56,8 ± 22,1
Controle Inibidor (Dexametasona)	2170,2 ± 1575,2	14226,4 ± 14010,7	30,0 ± 35,1	22,3 ± 12,7
Controle Negativo (H <sub>2</sub> O)	3232,9 ± 1490,3	21122,9 ± 8508,6	66,0 ± 43,5	23,5 ± 16,7
Fosfo 500 mg/mL	6926,7 ± 2642,9 <sup>a,b,c</sup>	16196,3 ± 13970,3 <sup>a,b</sup>	106,5 ± 75,1 <sup>a,b,c</sup>	47 ± 25,6 <sup>b,c</sup>
Fosfo 1000 mg/mL	8849,2 ± 4458,4 <sup>b,c</sup>	33072,6 ± 15755,9 <sup>b,c</sup>	173,9 ± 98,3 <sup>b,c</sup>	60,9 ± 43,2 <sup>b,c</sup>

ANOVA, Tukey

a  $p < 0,05$  quando comparado com controle positivo;

b  $p < 0,05$  quando comparado ao inibidor;

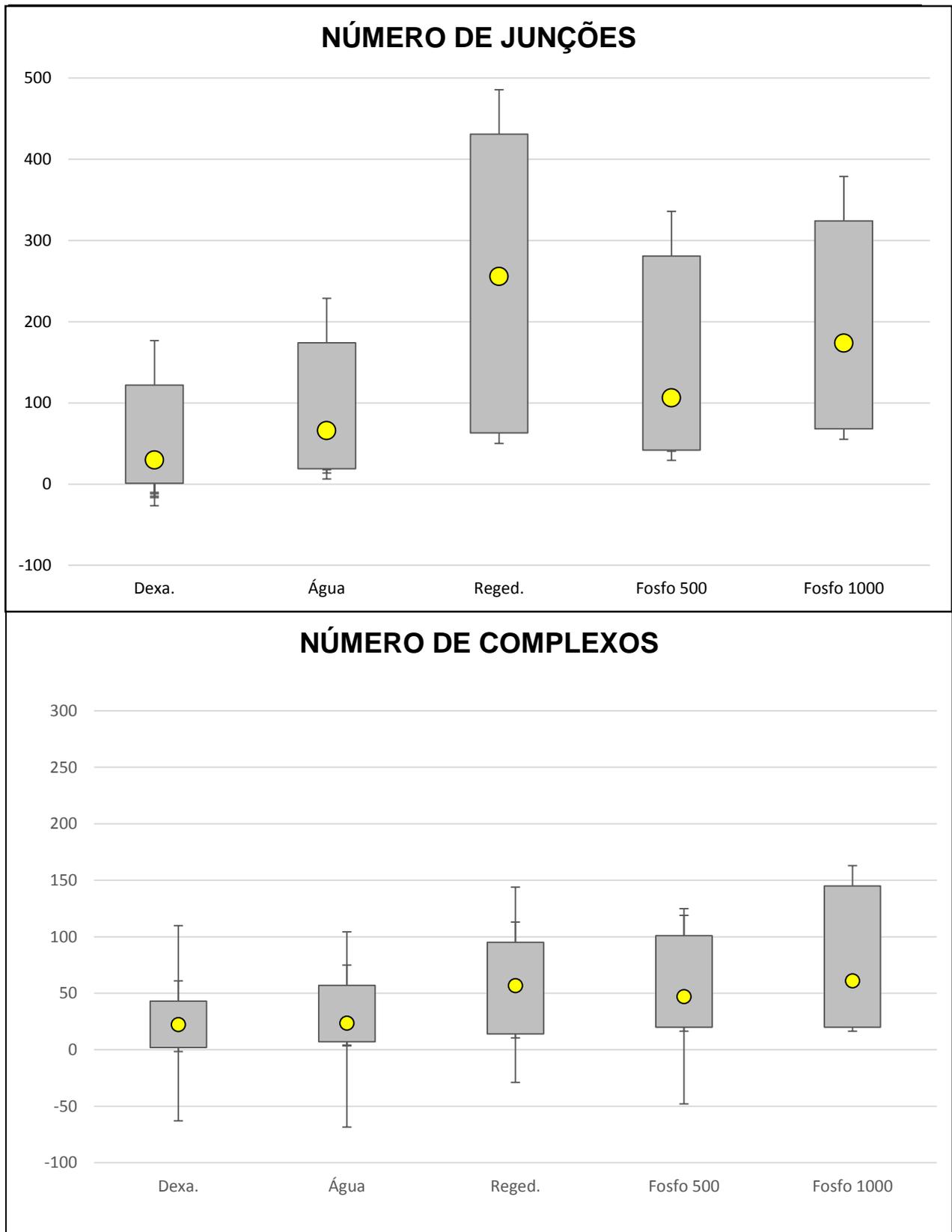
c  $p < 0,05$  quando comparado ao controle negativo

Em relação ao calibre dos vasos, a solução aquosa de fosfoetanolamina na concentração de 500 mg/mL apresentou diferença significativa quando comparada ao controle positivo, com aumento no calibre dos vasos ( $p < 0,05$ ), porém apresentou diferença significativa, observando aumento no calibre destes vasos quando comparada ao controle inibidor ( $p < 0,05$ ), entretanto, quando comparada ao controle negativo, não se obteve diferença significativa, apresentando-se estatisticamente igual. Enquanto, a solução de fosfoetanolamina na concentração de 1000 mg/mL, apresentou diferença significativa quando comparada aos controles negativo e inibidor ( $p < 0,05$ ), apresentando aumento considerável no calibre dos vasos, quando comparada ao controle positivo, não apresenta diferença significativa ( $p > 0,05$ ), demonstrando ser angiogênica.

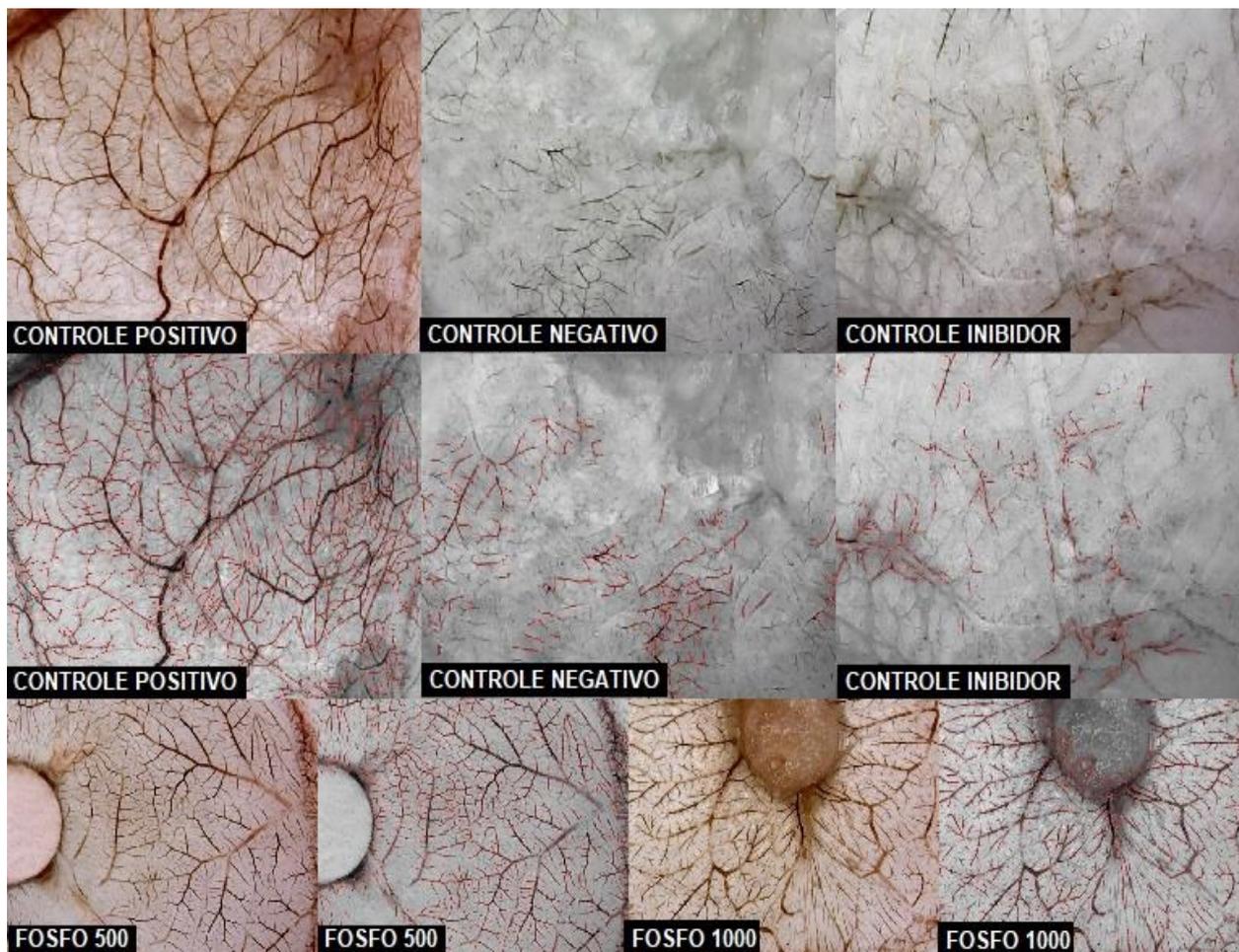
As membranas tratadas com a solução aquosa de fosfoetanolamina na concentração de 500 mg/mL, apresentaram diferença significativa quando comparadas ao controle positivo ( $p < 0,05$ ), não havendo aumento no número de junções, porém, quando comparadas ao controle inibidor e negativo, apresentaram significativa diferença ( $p < 0,05$ ), observando aumento no número destas junções. Já, na concentração de 1000 mg/mL de solução aquosa de fosfoetanolamina, os resultados demonstraram significativa diferença quando comparadas aos controles inibidor e negativo ( $p < 0,05$ ), apresentando um importante aumento no número de junções, e não apresentando diferença significativa ao controle positivo ( $p > 0,05$ ).

O número de complexos observados na concentração de 500 mg/mL de fosfoetanolamina, apresentou diferença significativa quando comparado aos controles inibidor e negativo ( $p < 0,05$ ). Do mesmo modo, na concentração de 1000 mg/mL, o número de complexos observado também foi maior quando comparado aos controles inibidor e negativo ( $p < 0,05$ ), observando um importante aumento no número destes complexos. Contudo ambas concentrações não apresentaram diferença significativa em relação ao controle positivo ( $p > 0,05$ ). Logo, demonstrando atividade angiogênica.

Os resultados da quantificação foram ilustrados nos gráficos da figura 5 e na figura 6.



**Figura 1.** Gráfico Box Plot dos valores do comprimento, calibre, número de junções e número de complexos das MCAs obtidas após tratamento com a solução aquosa de fosfoetanolamina e controles.



**Figura 2.** Imagens representativas da rede vascular formada na região Membrana corioalantóide (MCA) após tratamento com a solução aquosa de fosfoetanolamina. As imagens de MCA no software Angioquant.

A avaliação de mutagenicidade e antimutagenicidade, foi realizada pelo teste de Micronúcleo em medula óssea de camundongos, através da contagem da frequência de EPCMN em 4.000 EPC por camundongo.

Os resultados da frequência de EPCMN avaliados em 4.000 EPC, média e desvio padrão, estão apresentados na tabela 2.

**Tabela 2.** Frequência de EPCMN após 24 horas do tratamento com solução aquosa de Fosfoetanolamina em diferentes concentrações e controles para avaliação de mutagenicidade

Doses (mg/kg)	Número de animais	Eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN)	
		Dados Individuais MN/4000 EPC	MN/4000 EPC Média ± DP
Fosfoetanolamina 250 mg/Kg	6	5-8-6-13-6-7	8 ± 2,9 <sup>a</sup>
Fosfoetanolamina 500 mg/Kg	6	9-13-16-16-12-9	13 ± 3,1 <sup>a, b</sup>
Fosfoetanolamina 1000 mg/Kg	6	9-13-13-12-17-10	12 ± 2,8 <sup>a, b</sup>
Controle Positivo (Doxorrubicina) <sup>a</sup>	6	59-54-47-50-53-43	51 ± 5,63
Controle Negativo (Água destilada) <sup>b</sup>	6	8-8-13-6-9-9	9 ± 2,3

ANOVA, Tukey

a p<0,05 quando comparado ao controle positivo;

b p<0,05 quando comparado ao controle negativo.

Os resultados do Teste de Micronúcleo para avaliação de mutagenicidade, demonstrou que a solução aquosa de fosfoetanolamina na concentração de 250 mg/mL, apresentou diferença significativa quando comparada aos controles positivo (p<0,05), e quando comparada ao controle negativo, não apresentou diferença significativa, ou seja, não verificando atividade mutagênica a substância em teste.

A solução aquosa de fosfoetanolamina na concentração de 500 mg/mL também apresentou diferença significativa em relação aos controles positivo e negativo (p<0,05), também não apresentando mutagenicidade.

E por fim, na concentração de 1000 mg/Kg de fosfoetanolamina observou-se significativa diferença entre os controles positivo e negativo (p<0,05), não conferindo atividade mutagênica considerável à substância.

Para avaliação de antimutagenicidade, os animais foram tratados com a solução aquosa de fosfoetanolamina nas concentrações de 250, 500 e 1000 mg/Kg, simultaneamente com a doxorrubicina. Os resultados estão expressos na tabela 3.

**Tabela 3.** Frequência de EPCMN após 24 horas de tratamento simultâneo de diferentes concentrações da Fosfoetanolamina com doxorubicina para avaliação de antimutagenicidade

Doses (mg/kg)	Número de animais	Eritrócitos policromáticos micronucleados (EPCMN)	
		Dados Individuais MN/4000 EPC	MN/4000 EPC Média ± DP
Fosfoetanolamina 250 mg/Kg + doxorubicina	6	39-26-27-37-35-30	32 ± 5,4 <sup>a,b</sup>
Fosfoetanolamina 500 mg/Kg + doxorubicina	6	34-32-40-33-20-32	32 ± 6,5 <sup>a,b</sup>
Fosfoetanolamina 1000 mg/Kg + doxorubicina	6	39-35-19-23-24-23	27 ± 7,9 <sup>a,b</sup>
Controle Positivo (Doxorubicina) <sup>a</sup>	6	59-54-47-50-53-43	51 ± 5,6
Controle Negativo (Água destilada) <sup>b</sup>	6	8-8-13-6-9-9	9 ± 2,3

ANOVA, Tukey

a p<0,05 quando comparado ao controle positivo;

b p<0,05 quando comparado ao controle negativo.

De acordo com o demonstrado nos resultados, na concentração de 250 mg/mL da solução aquosa de fosfoetanolamina, observou-se uma diferença significativa, em relação aos controles positivo e negativo (p<0,05), constatando atividade antimutagênica.

Do mesmo modo, a fosfoetanolamina na concentração de 500 mg/mL, apresentou significativa diferença em relação aos controles positivo e negativo (p<0,05), também apresentando atividade antimutagênica.

Avaliação para antimutagenicidade demonstrou que a fosfoetanolamina na concentração de 1000 mg/mL apresentou significativa diferença quando comparada aos controles positivo e negativo (p<0,05). A substância teste, em suas diferentes concentrações apresentou significativa diferença em relação aos grupos controle, assim sendo considerada uma substância antimutagênica.

## Discussão

A análise dos resultados deste estudo, demonstrou, que a fosfoetanolamina sintética nas concentrações de 500 e 1000 mg/mL, apresentou significativo aumento nos quatro parâmetros testados (comprimento, calibre, número de junções e número de complexos), quando comparado aos grupos controle, demonstrando ser uma substância ativadora da angiogênese.

O levantamento bibliográfico realizado em plataformas de trabalhos de científicos, não constatou estudos relacionados a atividade angiogênica e antiangiogênica da Fosfoetanolamina sintética.

Alguns dos estudos existentes realizados com a fosfoetanolamina, foi a avaliação da possível atividade anticâncer em sarcoma 18, não apresentando efeito inibidor nos animais tratados com a dose de 1 g/Kg durante 10 dias (FILHO, 2016). O estudo realizado com a fosfoetanolamina em células de melanoma murino, apresentou resultados significativos, evidências demonstraram que a fosfoetanolamina possui atividade inibitória em rela proliferação e crescimento de células tumorais tanto *in vitro*, quanto *in vivo* (VERONEZ, 2012). Enquanto Ferreira et al., (2012b) demonstrou que a fosfoetanolamina apresentou efeito citotóxico em várias linhagens de células, induzindo a apoptose destas células.

Os resultados desta pesquisa demonstram que a Fosfoetanolamina sintética possui atividade angiogênica, sendo um importante passo para o avanço de novas pesquisas, e o desenvolvimento e aplicação de novas terapias para diversas patologias.

Nesta pesquisa, a partir do teste de micronúcleo realizado com a solução aquosa de fosfoetanolamina, pode-se observar que a substância não apresentou atividade mutagênica em nenhuma de suas concentrações testadas (250, 500 e 1000 mg/Kg).

Um relatório desenvolvido por um grupo de pesquisa da Fosfoetanolamina sintética da USP de São Carlos, no Centro de Inovação e Ensaios Pré-Clínicos, em parceria com o Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações, único estudo de mutagenicidade feito com a fosfoetanolamina até então, realizou testes de micronúcleo em medula óssea de camundongos na dose oral de 2000 mg/Kg, também demonstrou que a fosfoetanolamina sintética, não apresentou efeitos mutagênicos (CALIXTO et al., 2016)

A avaliação da atividade antimutagênica demonstrou que a fosfoetanolamina possuem efeitos antimutagênicos em todas as concentrações testadas (250, 500, 1000 mg/Kg).

De acordo com levantamento bibliográfico realizado, a avaliação de antimutagenicidade da fosfoetanolamina sintética, feito pelo teste de micronúcleo em medula óssea de camundongos, é inédito na literatura, sendo realizado até então, apenas neste estudo.

## **Conclusão**

Diante dos resultados obtidos neste estudo, concluiu-se que a solução aquosa da Fosfoetanolamina sintética apresentou atividade angiogênica em todas as concentrações testadas. A solução aquosa da Fosfoetanolamina sintética não apresentou ação mutagênica em

nenhuma das concentrações, testadas pelo Teste de Micronúcleo em medula óssea de camundongos. Na avaliação de antimutagenicidade, a solução aquosa da Fosfoetanolamina sintética apresentou ação antimutagênica significativa, quando comparada aos grupos controle.

## Referências

- CALIXTO, J. B. et al. Avaliação da Genotoxicidade da Fosfoetanolamina Sintética (USP – São Carlos): Teste de Mutação Reversa em *Salmonella typhimurium*. **Relatório Final**. Centro de Inovação e Ensaios Pré-Clínicos - CIEnP. Florianópolis-Sc, 2016.
- DEVITA VT, LAWRENCE TS, R. S. **Cancer: Principles and Practice of Oncology Review**. 2nd ed. Based on: DeVita, Hellman, and Rosenberg's cancer. 2011.
- DONATO, M. Angiogénesis y arteriogénesis : terapias del tercer milenio. **Revista Argentina de Cardiología**, v. 71, n. 1, p. 4–5, 2003.
- FERREIRA, A. K. et al. Synthetic phosphoethanolamine a precursor of membrane phospholipids reduce tumor growth in mice bearing melanoma B16-F10 and in vitro induce apoptosis and arrest in G2/M phase. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 66, n. 7, p. 541–548, 2012a.
- FERREIRA, A. K. et al. Anticancer effects of synthetic phosphoethanolamine on Ehrlich ascites tumor: an experimental study. **Anticancer research**, v. 32, n. 1, p. 95–104, 2012b.
- FILHO, M. O. DE M. Avaliação da possível atividade anticâncer da fosfoetanolamina sintética (fs) no sarcoma 18. **Laudo Técnico do Estudo da Fosfoetanolamina**. Universidade Federal do Ceará, 2016.
- HANAHAN, D.; FOLKMAN, J. Patterns and Emerging Mechanisms of the Angiogenic Switch during Tumorigenesis. **Cell Press**, v. 86, p. 353–364, 1996.
- HEDDLE, J. A. et al. The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity: A report of the U.S. environmental protection agency Gene-Tox program. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, v. 123, n. 1, p. 61–118, 1 set. 1983.
- HEDDLE, J. A. et al. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: Past, present, and future. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 18, n. 4, p. 277–291, 1991.
- KADA, T.; MORITA, K.; INOUE, T. Anti-mutagenic action of vegetable factor(s) on the mutagenic principle of tryptophan pyrolysate. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects**, v. 53, n. 3, p. 351–353, 1 jun. 1978.
- MARAGOUDAKIS, M. E. Angiogenesis : models, modulators, and clinical applications. **Life Sciences**. New York, 1998.
- MEDEIROS MOTA, A.; CRISTINA DE SOUSA, C. Fosfoetanolamina: Um Embate Entre o Direito à Vida e à Segurança. **RJLB**, v. 3, n. 2, p. 1–35, 2017.

- MELO-REIS, P. et al. Assessment of the mutagenic and antimutagenic activity of *Synadenium umbellatum* Pax latex by micronucleus test in mice. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 1, p. 169–174, fev. 2011.
- MELO-REIS, P. R. et al. Angiogenic activity of *Synadenium umbellatum* Pax latex. **Brazilian journal of biology. Revista brasleira de biologia**, v. 70, n. 1, p. 189–94, 2010.
- OECD. Test No. 489: In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. **OECD Publishing**. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, 2014.
- OLIVEIRA, A. G. DE; SILVEIRA, D. Expectativa e Realidade em Torno do Efeito Anticâncer da Fosfoetanolamina (Conclusão). **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, v. 28, n. 2, p. 57, 2016.
- PINHO, M. S. L. Angiogênese: O gatilho proliferativo. **Rev Bras Coloproct**, v. 25, n. 4, p. 396–402, 2005.
- PONDÉ, N.; DE AZAMBUJA, E.; ADES, F. Phosphoethanolamine and the danger of unproven drugs. **Ecancermedicalscience**, v. 10, p. 1–6, 2016.
- RISAU, W. Differentiation of endothelium. **The FASEB Journal**, v. 9, n. 10, p. 926–933, 1995.
- SAFATLE, A. DE M. V. et al. Implante de duas membranas biológicas em microbolsa corneana como modelo experimental de angiogênese. **Braz. J. vet. Res.anim.Sci.**, v. 39, n. 4, p. 189–195, 2002.
- VAN DER LUIT, A. H. et al. A new class of anticancer alkylphospholipids uses lipid rafts as membrane gateways to induce apoptosis in lymphoma cells. **Molecular cancer therapeutics**, v. 6, n. 8, p. 2337–2345, 2007.
- VASUDEV, N. S.; REYNOLDS, A. R. Anti-angiogenic therapy for cancer: current progress, unresolved questions and future directions. **Angiogenesis**, v. 17, p. 471–494 2014.
- VERONEZ, L. C. Atividade Da Fosfoetanolamina Sintética Em Melanoma Murino Experimental. **Dissertação de Mestrado em Ciências**. Universidade de São Paulo, 2012.
- VILE, R. G. **Cancer metastasis : from mechanisms to therapies**. Edition by Richard G. Vile J. Wiley, 1995.
- WEISS, A.; DEN BERGH, H. VAN.; GRIFFIOEN, A. W.; NOWAK-SLIWINSKA, P. Angiogenesis inhibition for the improvement of photodynamic therapy: The revival of a promising idea. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer**, v. 1826, p. 53–70, 2012.
- WILTING, J.; CHRIST, B.; WEICH, H. A. The effects of growth factors on the day 13 chorioallantoic membrane (CAM): a study of VEGF 165 and PDGF-BB. **Anatomy and Embryolog**, v. 186, p. 251–257, 1992.