

COMPLEXOS LIPÍDICO-PROTEICOS NO TRATAMENTO ALTERNATIVO DO CÂNCER: HAMLET, BAMLET E ALPHA-1H

Data de aceite: 03/06/2024

Lucas Emanuel Oliveira Sabino

Universidade Federal do Norte do Tocantins
Centro de Ciências Integradas
Araguaína – TO
orcid.org/0000-0003-1726-8962

Karen Leticia Gomes da Silva

Universidade Federal do Norte do Tocantins
Centro de Ciências Integradas
Araguaína – TO
orcid.org/0000-0003-0962-4453

Edenilson dos Santos Niculau

Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (Unifesspa)
Marabá - Pará
orcid.org/0000-0003-0326-5795

RESUMO: Este estudo aborda o desafio global representado pelo câncer, destacando o câncer de pulmão como uma das principais causas de mortalidade, especialmente em indivíduos com menos de 70 anos. Apesar dos avanços nas terapias convencionais, como cirurgia, quimioterapia e radioterapia, os resultados muitas vezes são limitados, e os efeitos colaterais adversos persistem.

Nos últimos anos, proteínas derivadas do leite, como HAMLET, BAMLET e Alpha 1H, têm ganhado destaque como uma abordagem terapêutica inovadora. Essas proteínas, inicialmente identificadas no leite materno, apresentam propriedades únicas para o tratamento do câncer. O estudo explora suas características estruturais, mecanismos de ação e resultados de estudos pré-clínicos. O câncer colorretal (CCR) é particularmente abordado nos ensaios clínicos, onde o HAMLET demonstra citotoxicidade irreversível em células CRC. No entanto, linhagens mutantes, como BRAF, podem apresentar resistência. O BAMLET, variante bovina, também exhibe características tumorílicas, especialmente em células de adenocarcinoma. Além disso, o Alpha 1H, isolado da alfa-lactoalbumina, revela eficácia no tratamento de câncer de bexiga. Essas proteínas destacam-se por sua atividade seletiva contra células tumorais, oferecendo vantagens em relação a terapias convencionais. No entanto, desafios como otimização da formulação, administração clínica e realização de estudos clínicos em larga escala precisam ser superados. Comparadas a outras terapias em desenvolvimento, essas proteínas apresentam complexidade

e amplitude em suas ações, proporcionando uma alternativa promissora no tratamento do câncer. Pesquisas futuras são essenciais para validar sua eficácia e posicionar essas proteínas como opções terapêuticas viáveis no combate ao câncer.

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento de câncer. HAMLET/BAMLET. Alpha-1H.

LIPID-PROTEIN COMPLEXES IN THE ALTERNATIVE TREATMENT OF CANCER: HAMLET, BAMLET AND ALPHA-1H

ABSTRACT: This study addresses the global challenge posed by cancer, with a particular focus on lung cancer as a leading cause of mortality, especially in individuals under the age of 70. Despite considerable advancements in conventional therapies such as surgery, chemotherapy, and radiation therapy, the outcomes often remain limited, accompanied by persistent adverse effects. In recent years, proteins derived from milk, namely HAMLET, BAMLET, and Alpha 1H, have garnered attention as an innovative therapeutic approach. Originally identified in breast milk, these proteins exhibit unique properties for cancer treatment. The study explores their structural characteristics, mechanisms of action, and outcomes from preclinical studies. Colorectal cancer (CRC) is specifically addressed in clinical trials, where HAMLET demonstrates irreversible cytotoxicity in CRC cells. However, mutant lineages, such as BRAF, may exhibit resistance. BAMLET, a bovine variant, also displays tumoricidal characteristics, especially in adenocarcinoma cells. Additionally, Alpha 1H, isolated from alpha-lactalbumin, proves effective in treating bladder cancer. These proteins stand out for their selective activity against tumor cells, offering advantages over conventional therapies. Nevertheless, challenges such as optimizing formulation, clinical administration, and conducting large-scale clinical studies need to be overcome. Compared to other therapies in development, these proteins exhibit complexity and broad-spectrum actions, providing a promising alternative in cancer treatment. Future research is essential to validate their efficacy and position these proteins as viable therapeutic options in the fight against cancer.

KEYWORDS: Cancer treatment. HAMLET/BAMLET. Alpha-1H.

INTRODUÇÃO

O câncer continua a ser uma das principais causas de mortalidade em todo o mundo, sendo o principal limitante do crescimento populacional mundial e de acordo com estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer de pulmão é o que mais mata pessoas abaixo de 70 anos (FERLAY *et al.*, 2020), representando um desafio significativo para a saúde pública e a medicina moderna (BRAY *et al.*, 2018).

Apesar dos avanços consideráveis na compreensão da biologia tumoral e das terapias convencionais disponíveis, muitos pacientes enfrentam resultados limitados de tratamento, juntamente com efeitos colaterais adversos. Assim, a busca por terapias inovadoras e mais eficazes é essencial (BASKAR *et al.*, 2012; HANAHAN, D.; WEINBERG, 2000).

Nos últimos anos, uma nova abordagem terapêutica tem despertado interesse crescente: o uso de complexos de proteínas derivadas do leite, como HAMLET (Human

Alpha-lactalbumin Made Lethal to Tumor cells), BAMLET (Bovine Alpha-lactalbumin Made Lethal to Tumor cells) e Alpha 1H (Alpha-lactalbumin holo-form). Essas proteínas, inicialmente identificadas no leite materno, mostraram propriedades únicas e promissoras para o tratamento do câncer (FISCHER *et al.*, 2004; HÅKANSSON *et al.*, 1995; HO *et al.*, 2021; PUTHIA *et al.*, 2014).

O objetivo deste capítulo é fornecer uma visão abrangente sobre os complexos proteicos HAMLET, BAMLET e Alpha 1H, bem como suas aplicações potenciais no tratamento do câncer. Serão abordados seus mecanismos de ação, resultados de estudos pré-clínicos e clínicos, além de uma discussão sobre suas potencialidades e desafios.

Na primeira seção, será realizada uma revisão das terapias convencionais disponíveis para o tratamento do câncer, destacando suas limitações e os efeitos colaterais associados. Em seguida, serão apresentados os complexos HAMLET, BAMLET e Alpha 1H, incluindo suas características estruturais e mecanismos de ação específicos.

Posteriormente, será feita uma análise dos estudos pré-clínicos que investigaram o potencial antitumoral dessas proteínas, discutindo as evidências de atividade seletiva contra células cancerígenas e os possíveis mecanismos pelos quais elas induzem a morte celular.

Em seguida, serão examinados os ensaios clínicos conduzidos até o momento, avaliando a eficácia e a segurança de HAMLET, BAMLET e Alpha 1H em pacientes com câncer. Serão discutidos os resultados obtidos, as populações estudadas e as perspectivas clínicas futuras. Além disso, serão abordadas as potencialidades dessas proteínas como terapias complementares ou alternativas aos tratamentos convencionais, bem como os desafios associados à sua produção em larga escala e administração clínica.

CÂNCER E TERAPIAS CONVENCIONAIS

O câncer é uma doença caracterizada pelo crescimento descontrolado e anormal de células que perderam a capacidade de realizarem apoptose (JR; ROSENBERG; LAWRENCE, 2001). Essas células invadem tecidos saudáveis do organismo causando diversos efeitos fisiológicos maléficos, como por exemplo, o sequestro de recursos para manter o seu crescimento a modificação do ambiente em sua volta, como o aumento do volume (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

As formas de tratamento tradicionais que têm sido amplamente utilizadas no tratamento do câncer são a cirurgia, a quimioterapia e a radioterapia (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2007; ROY; SAIKIA, 2016).

A cirurgia é frequentemente o primeiro passo no tratamento do câncer, com o objetivo de remover o tumor primário e tecidos adjacentes afetados. No entanto, a cirurgia nem sempre é viável, especialmente em casos de tumores metastáticos ou quando a remoção completa do tumor é difícil devido à localização ou disseminação, e há evidências que a remoção de um tumor via cirurgia pode aumentar ou gerar metástases (NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2023; TOHME; SIMMONS; TSUNG, 2017).

A quimioterapia é uma abordagem que utiliza medicamentos anticancerígenos para destruir ou inibir o crescimento das células cancerígenas. Esses medicamentos podem ser administrados por via oral ou intravenosa e viajam pelo corpo para atingir as células cancerígenas em várias partes do organismo. Embora a quimioterapia seja eficaz na destruição de células cancerígenas, ela também pode afetar células saudáveis em rápida divisão, resultando em efeitos colaterais como fadiga, queda de cabelo, náuseas e supressão do sistema imunológico e em alguns casos apresentar alta toxicidade que pode levar à falha do sistema hepático (CHABNER; ROBERTS, 2005; JOHN W. EKLUND; MARY F. MULCAHY, 2005)

A radioterapia utiliza radiação ionizante de alta energia para destruir as células cancerígenas ou impedir seu crescimento. A radioterapia é frequentemente usada após a cirurgia para eliminar células cancerígenas remanescentes, funcionando como uma extensão do tratamento anterior, ou como tratamento primário para tumores inoperáveis. Embora seja altamente eficaz no controle do câncer, a radioterapia possui certa toxicidade ao organismo humano, podendo causar danos às células saudáveis próximas à área tratada, resultando em efeitos colaterais como fadiga, inflamação da pele e distúrbios gastrointestinais (HANAHAN; WEINBERG, 2011; NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2023).

Embora essas terapias convencionais sejam amplamente utilizadas e tenham melhorado os resultados do tratamento em muitos casos, elas têm limitações significativas. Além dos efeitos colaterais mencionados, algumas células cancerígenas podem desenvolver resistência aos medicamentos quimioterápicos ou à radiação, levando à recorrência do câncer. Nesse contexto, a busca por terapias alternativas e complementares se torna crucial. A descoberta e o estudo de novas abordagens terapêuticas, como as proteínas HAMLET, BAMLET e Alpha 1H, oferecem perspectivas promissoras para o tratamento do câncer.

COMPLEXOS HAMLET, BAMLET E ALPHA 1H

Os complexos proteicos HAMLET (Human Alpha-lactalbumin Made Lethal to Tumor cells), BAMLET (Bovine Alpha-lactalbumin Made Lethal to Tumor cells) e a Alpha 1H (Alpha-lactalbumin holo-form) são agregados de proteínas com ácidos graxos que têm despertado interesse na comunidade científica devido à sua atividade seletiva contra células tumorais e ao potencial de minimizar danos às células normais (RATH *et al.*, 2018). Essas proteínas, derivadas da alfa-lactoalbumina, bovina e humana, e do ácido oleico, exibem propriedades únicas que lhes conferem atividade seletiva contra células tumorais, representando uma abordagem promissora para a terapia anticâncer (FISCHER *et al.*, 2004; HÅKANSSON *et al.*, 1995; HO *et al.*, 2021; PUTHIA *et al.*, 2014).

A alfa-lactoalbumina (α -LA) humana é uma proteína globular de 14,2 kDa com 123 resíduos de aminoácidos. Além disso, ela contém uma similaridade relativamente alta com o lisossomo, com 47 resíduos iguais e ainda contendo uma estrutura tridimensional similar (BARBANA; SÁNCHEZ; PÉREZ, 2011; HÅKANSSON *et al.*, 1995). Na glândula

mamária dos mamíferos ela participa na síntese da lactose, controlando a especificidade da galactosiltransferase, que faz parte de um sistema de transferência de grupos galactosil para glicoproteínas (PERMYAKOV; BERLINER, 2000).

A α -LA é formada por basicamente duas regiões: uma região alfa e outra beta. A região alfa constitui-se por quatro alfa-hélices e por duas 3_{10} -hélices e a região beta por e três folhas beta antiparalelas, conectados pelo íon Ca^{2+} , e estabilizados por quatro pontes de dissulfeto (Figura 1) (BARBANA; SÁNCHEZ; PÉREZ, 2011).

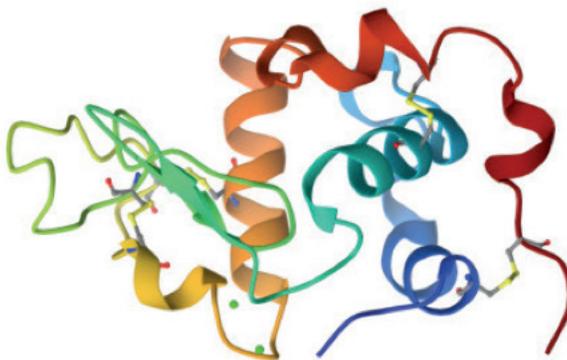


Figura 1 - Estrutura tridimensional da alfa-lactoalbumina.

Fonte: Protein Data Bank (2023). Disponível em: <<https://www.rcsb.org/structure/1a4v>>.

A α -LA humana é uma proteína que está fortemente ligada ao íon Ca^{2+} , que por sua vez ajuda a estabilizar a estrutura quaternária da proteína. Ele está em coordenação com os carboxilatos e carbonilas dos resíduos da cadeia da proteína. O íon ainda se localiza entre os dois domínios da proteína, fazendo uma conexão entre ambos e a ligação é extremamente forte, com uma constante de associação de 3×10^8 a 20°C (Figura 2). Diferentes estudos apontam para as diferenças em ação biológica dessa proteína com outros cátions, como Mg^{2+} , Na^+ e K^+ (JØHNKE *et al.*, 2012; PERMYAKOV; REYZER; BERLINER, 1993; PERMYAKOV; KREIMER, 1986).

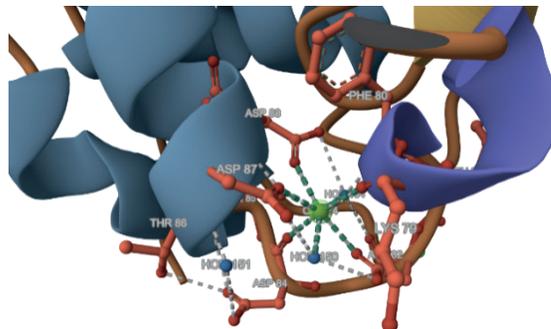


Figura 2 - Ampliação do sítio de ligação de Ca(II). Ca(II) é íon central em verde claro e as moléculas coordenadoras do íon em vermelho.

Fonte: Protein Data Bank (2023). Disponível em: <<https://www.rcsb.org/structure/1a4v>>.

Uma propriedade bastante útil da ALA é sua capacidade de assumir conformações estáveis intermediárias, isto é, conformações espaciais diferentes do seu estado nativo (SVANBORG *et al.*, 2003; SVENSSON *et al.*, 2000). Esse estado amorfo intermediário é um estado no qual a proteína está levemente desnaturada e perdeu o íon Ca^{2+} . Neste estado, ela oscila entre os estados secundários e terciários.

Essa propriedade torna-se bastante útil na formação dos complexos e na sua atividade antineoplásica. Neste estado, sem o íon, ela torna-se mais hidrofóbica, o que facilita sua adesão com ácidos graxos (HO *et al.*, 2013; JØHNKE *et al.*, 2012; SVANBORG *et al.*, 2003).

Dos ácidos graxos, mostrou-se que ela liga-se com C18:0, C16:0, C14:0 e C18:1 (SVENSSON *et al.*, 2000) e também com compostos de baixa polaridade e também de baixo peso molecular (PERMYAKOV; BERLINER, 2000). Desses ácidos graxos, o ácido oleico (C18:1) foi o que se mostrou mais impactante no efeito citotóxico do complexo, o que sugere que o estado amorfo apresenta determinada especificidade estérica.

HAMLET é o complexo formado pela associação da alfa-lactoalbumina do leite humano com o ácido oleico. Naturalmente, a alfa-lactoalbumina não tem afinidade suficiente para ligar-se à ácidos graxos e por isso a síntese desses complexos depende da abertura da estrutura, tratamento por EDTA ou por cromatografia (BARBANA; SÁNCHEZ; PÉREZ, 2011). Estudos iniciais demonstraram que o HAMLET tem a capacidade de se ligar seletivamente a células tumorais, desencadeando mecanismos de morte celular programada, como apoptose e autofagia (HÅKANSSON *et al.*, 1995).

Evidências mostram que somente a α -LA demonstra certa citotoxicidade à células tumorais e bactérias (HÅKANSSON *et al.*, 1995), porém, quando a proteína é tratada pelas técnicas supracitadas, ela é condicionada a voltar à sua condição fechada e liga-se a um íon Ca^{2+} , e por essa razão, a citotoxicidade desaparece. Os ácidos graxos, neste caso,

funcionam tanto como um transportador da proteína no líquido intracelular da célula tumoral, como um estabilizador da estrutura celular, fazendo com o que o complexo apresente atividade tumorcida (MOSSBERG *et al.*, 2010). Essa conclusão corrobora com os achados de Delgado e colaboradores (2015).

O BAMLET é uma variante bovina do complexo HAMLET, e surgiu quase ao mesmo tempo que os estudos sobre o HAMLET (HÅKANSSON *et al.*, 1995). Essas duas áreas de pesquisa compartilham resultados semelhantes, mostrando atividade seletiva contra células tumorais e indução de apoptose tanto pelo HAMLET quanto pelo BAMLET (XIAO *et al.*, 2013).

O entendimento acerca da funcionalidade destes complexos é ainda incerto. Diversos estudos apontam para uma miríade de possíveis causas, variando desde os íons da membrana, histonas, organelas e enzimas específicas do substrato celular (RATH *et al.*, 2018). O que é majoritariamente aceito é que, como apontado anteriormente, o ácido oleico é o principal fator da toxicidade para as células tumorais, e a α -LA funcionaria como um cavalo de troia, carregando o ácido dentro de sua cavidade e levando para dentro da célula (DELGADO *et al.*, 2015; RATH *et al.*, 2018).

Trabalhos foram feitos para tentar ilustrar esse mecanismo como o de Kaspersen e colaboradores (2014) usando espalhamento de raio-x de baixo ângulo (SAXS) reconstruíram um modelo molecular genérico dos complexos. A estrutura, semelhante a uma lipoproteína recebeu, o nome de “lipotídio” (Figura 3), no qual refere-se a uma estrutura micelar no núcleo estabilizada por uma concha proteica flexível (KASPERSEN *et al.*, 2014).

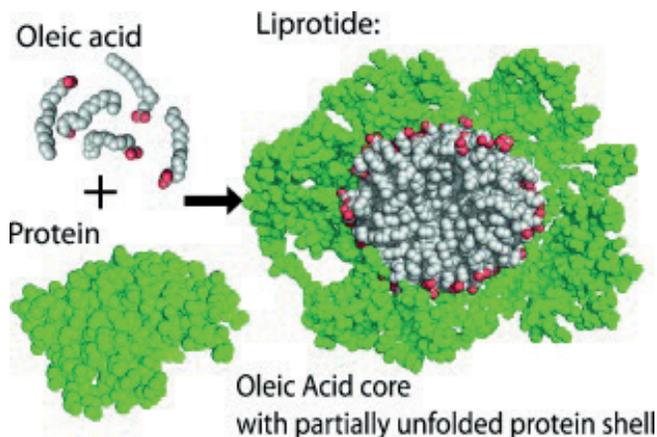


Figura 3 - Ilustração representando os complexos lipídico-proteicos na estrutura chamada “lipotídio”.

Fonte: Kaspersen *et al.* (2014). Copyright: Wiley-VCH GmbH. Reproduzido com autorização.

O Alpha 1H é o domínio alfa-1, N-terminal, desta proteína isolado. Estudos têm demonstrado que a Alpha 1H pode induzir a morte seletiva de células tumorais, enquanto preserva a viabilidade de células normais e ainda apresenta pouca ou nenhuma toxicidade ao organismo (BRISUDA *et al.*, 2021). Além disso, o Alpha 1H pode formar complexos com oleato de sódio.

Pelo fato de ser o primeiro de seus pares a ser sintetizado, o Alpha 1H torna-se o primeiro complexo a ser utilizado em estudos clínicos, isso por conta da sua capacidade de ser produzido em larga escala. Um estudo clínico feito em pacientes recém-operados de câncer de bexiga mostrou descamação de células cancerígenas após o tratamento com o complexo alfa-1-oleato (BRISUDA *et al.*, 2021), um resultado bastante promissor na busca por formas alternativas de combater o câncer.

As proteínas HAMLET, BAMLET e Alpha 1H têm sido objeto de intensa investigação devido ao seu potencial no tratamento do câncer. Essas proteínas, derivadas da alfa-lactoalbumina e do ácido oleico, exibem propriedades únicas que lhes conferem atividade seletiva contra células tumorais, representando uma abordagem promissora para a terapia anticâncer.

As proteínas HAMLET, BAMLET e Alpha 1H têm demonstrado um potencial significativo como terapias inovadoras no tratamento do câncer. A interação com componentes específicos das células cancerígenas, como receptores de superfície e proteínas intracelulares, desencadeia respostas celulares que levam à morte seletiva das células tumorais.

Apesar do grande potencial dessas proteínas, há desafios a serem superados. Um dos principais desafios é a otimização da formulação e administração dessas proteínas para garantir sua estabilidade, biodisponibilidade e eficácia terapêutica. Além disso, é necessário aprofundar os estudos pré-clínicos e realizar ensaios clínicos em larga escala para avaliar a segurança, eficácia e tolerabilidade dessas proteínas em pacientes com diferentes tipos de câncer.

Em comparação com outras terapias em desenvolvimento, as proteínas HAMLET, BAMLET e Alpha 1H apresentam vantagens significativas. Ao contrário de muitas terapias convencionais que têm como alvo vias de sinalização específicas, essas proteínas possuem uma atividade ampla e complexa, abrangendo diferentes vias celulares envolvidas no crescimento e sobrevivência das células tumorais. Além disso, a seletividade dessas proteínas na indução da morte celular em células cancerígenas, enquanto poupam as células normais, oferece uma vantagem terapêutica importante.

Ainda é necessário um trabalho adicional para comparar as proteínas HAMLET, BAMLET e Alpha 1H com outras terapias em desenvolvimento, como imunoterapia, terapia genética e terapias-alvo. A combinação dessas abordagens pode abrir caminho para estratégias terapêuticas ainda mais eficazes e personalizadas para o tratamento do câncer.

ESTUDOS CLÍNICOS

No que diz respeito ao uso do complexo proteico-lipídico HAMLET (*Human Alpha-lactalbumin Made LEthal to Tumor cells*), os estudos clínicos recentes de ŽILINSKAS *et al.*, (2023) evidenciam que a proteína possui um alto potencial no tratamento contra o câncer podendo ser considerado um novo candidato para prevenção e terapia do câncer colorretal (CCR).

O CCR é definido como um tipo de câncer que atinge o revestimento interno do cólon ou do reto em seus estágios iniciais e é caracterizado como uma neoplasia com alto índice letal. Conforme os estudos de PRADO *et al.*, (2022), há uma série de fatores que evidenciam o seu índice de letalidade elevado, dentre eles encontram-se as dificuldades enfrentadas após a detecção tardia da doença, que ocasiona o seu progresso gerando estágios avançados no paciente e conseqüentemente dificulta os tratamentos quimioterápicos.

Diante disso, ŽILINSKAS *et al.*, (2023) ressalta que o uso correto do complexo para uma análise *in vitro* no tratamento do câncer colorretal em seu estágio avançado, necessita de uma atenção minuciosa com a apropriação de estratégias, seletividade e abordagens metodológicas personalizadas. Com o foco na investigação do efeito do complexo na viabilidade, via de morte e bioenergética mitocondrial de células CRC acompanhadas dos diferentes status de mutação KRAS/BRAF *in vitro*, em seus estudos apropriou-se de metodologias que consistiram nas análises do efeito do HAMLET em três linhagens diferentes (Caco-2, LoVo, WiDr).

Sendo assim, por meio dos ensaios de viabilidade celular, clonogênicos, das análises de Western Blot, citometria de fluxo, estatísticas juntamente com a medição da função mitocondrial em células cancerígenas, extração de RNA e reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR). Suas análises foram promissoras obtendo bons resultados durante a aplicação da proteína no tratamento do câncer, constatando que HAMLET apresenta citotoxicidade irreversível em células CRC humanas, possibilitando um alto desempenho na eliminação de células cancerígenas, entretanto algumas linhas de células mutantes como a BRAF apresentaram resistência durante o tratamento, logo compreende-se que deverão ser realizados etapas futuras da pesquisa, para um melhor entendimento dessas observações.

Em outra perspectiva, além dos fatos evidenciados com o uso do HAMLET existem inúmeros fatores que afetam negativamente o tratamento do CCR. Com base nisso, podem ser feitas análises alternativas com foco na utilização de outras espécies de complexos proteicos, em busca de métodos de otimização para o tratamento da doença em seu estágio avançado.

Conforme os estudos de BABAZADEH *et al.*, (2023) a proteína α -lactalbumina bovina (BAMLET) semelhante ao HAMLET, pode ser indicada para avaliação dos mesmos

efeitos submetidos ao método terapêutico nas células do câncer colorretal. Diante disso para avaliação dos efeitos em com a aplicação desta nova proteína, as análises *in vitro* demonstraram que BALMET possui características tumoricidas contra as células cancerígenas como, por exemplo, (A549) e HT-29 e DLD1 presentes no carcinoma pulmonar.

Sendo assim, suas pesquisas consistiram na comparação dos resultados de BAMLET e 5-FU, no direcionamento do tronco em células de adenocarcinoma avaliando a viabilidade celular de células colorretais sendo elas HT-29 e HCT116, por meio de análises estatísticas, avaliação das expressões de genes envolvidos na área de estudo (caule do câncer) e da citometria de fluxo de ambas as células de cancro do cólon humano.

O *stemmes* é uma característica importante do CCR pois, representa à propriedade das células cancerígenas de adquirir características semelhantes às células-tronco (*stem cells*) e conseqüentemente a existência dessas características é o fator principal responsável pela resistência do celular dificultando o tratamento do câncer. Em vista disso, foram realizadas análises complementares para avaliar o efeito do complexo sob os essa propriedade celular que traz atrasos no método terapêutico por meio das mesmas linhagens celulares.

Os resultados obtidos por esse estudo demonstraram que BAMLET possui grande relevância no direcionamento dos *stemmes* nas células CRC humanas em relação ao 5-FU, logo BABAZADEH *et al.*, (2023) enfatiza que os resultados destas pesquisas foram de grande importância para evidenciar uma possível otimização no tratamento das CRC no CCR tendo em vista os *stemmes* e a utilização do BAMLET.

Por fim referente ao uso do complexo proteico-lipídico Alpha 1H ou Alpha-Oleato, os estudos de HIEN *et al.*, (2020) demonstram que essa proteína também pode ser implementada em metodologias terapêuticas no tratamento de câncer. Esta pesquisa evidenciou que a alfa-helicoidal N-terminal da alfa-lactalbumina aplicada ao método de escalonamento de dose *in vivo*, aboliu a massa tumoral dos camundongos tratados em seu estudo, corroborando com a eficácia anticâncer sem o aumento de efeitos colaterais.

PERSPECTIVAS FUTURAS E CONCLUSÃO

Em conclusão, as proteínas HAMLET, BAMLET e Alpha 1H representam uma abordagem promissora no tratamento do câncer, com mecanismos de ação distintos, potencialidades significativas e desafios a serem superados. Comparadas a outras terapias em desenvolvimento, essas proteínas oferecem vantagens únicas que as destacam como uma alternativa promissora para o tratamento do câncer.

No entanto, é importante destacar que a aplicação clínica dessas proteínas ainda está em estágios iniciais e são necessárias mais pesquisas para melhor compreender seus mecanismos de ação, otimizar sua eficácia e determinar as melhores estratégias de administração em pacientes com diferentes tipos de câncer.

Em suma, as proteínas HAMLET, BAMLET e Alpha 1H representam uma abordagem promissora para o tratamento do câncer, explorando mecanismos específicos que induzem a morte seletiva de células tumorais e a compreensão aprofundada de seus mecanismos de ação e a realização de estudos clínicos são passos importantes para validar sua eficácia e estabelecer seu papel no arsenal terapêutico contra o câncer.

REFERÊNCIAS

- BABAZADEH, M.; ZAMANI, M.; MEHRBOD, P.; MOKARRAM, P. Stemness targeting of colorectal cell lines mediated by BAMLET and 5-Fluorouracil. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 664, p. 136–141, 5 jul. 2023. DOI 10.1016/j.bbrc.2023.04.010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X23004114?via%3Dihub>. Acesso em: 5 nov. 2023.
- BARBANA, C.; SÁNCHEZ, L.; PÉREZ, M. D. Bioactivity of α -lactalbumin related to its interaction with fatty acids: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 8, p. 783–794, set. 2011. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.481368>.
- BASKAR, R.; LEE, K. A.; YEO, R.; YEOH, K.-W. Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. **International Journal of Medical Sciences**, v. 9, n. 3, p. 193–199, 2012. <https://doi.org/10.7150/ijms.3635>.
- BRAY, F.; FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; SIEGEL, R. L.; TORRE, L. A.; JEMAL, A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018. DOI 10.3322/caac.21492. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.3322/caac.21492>. Acesso em: 15 jul. 2023.
- BRISUDA, A.; HO, J. C. S.; KANDIYAL, P. S.; NG, J. T.-Y.; AMBITE, I.; BUTLER, D. S. C.; HÁČEK, J.; WAN, M. L. Y.; TRAN, T. H.; NADEEM, A.; TRAN, T. H.; HASTINGS, A.; STORM, P.; FORTUNATI, D. L.; ESMAEILI, P.; NOVOTNA, H.; HORNÁK, J.; MU, Y. G.; MOK, K. H.; ... SVANBORG, C. Bladder cancer therapy using a conformationally fluid tumoricidal peptide complex. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 3427, 8 jun. 2021. DOI 10.1038/s41467-021-23748-y. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-23748-y>. Acesso em: 15 jul. 2023.
- CHABNER, B. A.; ROBERTS, T. G. Chemotherapy and the war on cancer. **Nature Reviews Cancer**, v. 5, n. 1, p. 65–72, jan. 2005. DOI 10.1038/nrc1529. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrc1529>. Acesso em: 15 jul. 2023.
- DELGADO, Y.; MORALES-CRUZ, M.; FIGUEROA, C. M.; HERNÁNDEZ-ROMÁN, J.; HERNÁNDEZ, G.; GRIEBENOW, K. The cytotoxicity of BAMLET complexes is due to oleic acid and independent of the α -lactalbumin component. **FEBS Open Bio**, v. 5, n. 1, p. 397–404, 2015. DOI 10.1016/j.fob.2015.04.010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1016/j.fob.2015.04.010>. Acesso em: 13 dez. 2022.
- FERLAY, Jacques.; ERVIK, M.; LAM, F.; COLOMBET, M.; MERY, L.; PIÑEROS, M.; ZNAOR, A.; SOERJOMATARAM, I.; BRAY, F. International Agency for Research on Cancer (IARC). 2020. Disponível em: <http://gco.iarc.fr/today/home>. Acesso em: 15 jul. 2023.

FISCHER, W.; GUSTAFSSON, L.; MOSSBERG, A.-K.; GRONLI, J.; MORK, S.; BJERKVIG, R.; SVANBORG, C. Human α -Lactalbumin Made Lethal to Tumor Cells (HAMLET) Kills Human Glioblastoma Cells in Brain Xenografts by an Apoptosis-Like Mechanism and Prolongs Survival. **Cancer Research**, v. 64, n. 6, p. 2105–2112, 16 mar. 2004. DOI 10.1158/0008-5472.CAN-03-2661. Disponível em: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-2661>. Acesso em: 13 dez. 2022.

HÅKANSSON, A.; ZHIVOTOVSKY, B.; ORRENIUS, S.; SABHARWAL, H.; SVANBORG, C. Apoptosis induced by a human milk protein. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 92, n. 17, p. 8064–8068, 15 ago. 1995. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.17.8064>.

HANAHAH, D.; WEINBERG, R. A. The hallmarks of cancer. **Cell**, v. 100, n. 1, p. 57–70, 7 jan. 2000. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81683-9).

HANAHAH, Douglas; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, 4 mar. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.

HIEN, T. T.; AMBITE, I.; BUTLER, D.; WAN, M. L. Y.; TRAN, T. H.; HÖGLUND, U.; BABJUK, M.; SVANBORG, C. Bladder cancer therapy without toxicity—A dose-escalation study of alpha1-oleate. **International Journal of Cancer**, v. 147, n. 9, p. 2479–2492, nov. 2020. DOI 10.1002/ijc.33019. Disponível em: <https://onlinelibrary-wiley.ez6.periodicos.capes.gov.br/doi/10.1002/ijc.33019>. Acesso em: 6 nov. 2023.

HO, J. C. S.; AMBITE, I.; MOK, K. H.; BABJUK, M.; SVANBORG, C. A scientific journey from discovery to validation of efficacy in cancer patients: HAMLET and alpha1-oleate. **Molecular & Cellular Oncology**, v. 8, n. 5, p. 1974278, 3 set. 2021. DOI 10.1080/23723556.2021.1974278. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/23723556.2021.1974278>. Acesso em: 15 jul. 2023.

HO, J. C. S.; STORM, P.; RYDSTRÖM, A.; BOWEN, B.; ALSIN, F.; SULLIVAN, L.; AMBITE, I.; MOK, K. H.; NORTHEN, T.; SVANBORG, C. Lipids as Tumoricidal Components of Human α -Lactalbumin Made Lethal to Tumor Cells (HAMLET): UNIQUE AND SHARED EFFECTS ON SIGNALING AND DEATH*. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 24, p. 17460–17471, 14 jun. 2013. DOI 10.1074/jbc.M113.468405. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925820458879>. Acesso em: 21 jul. 2023.

JOHN W. EKLUND, M. D.; MARY F. MULCAHY, M. D. Chemotherapy Dosing in the Setting of Liver Dysfunction. **ONCOLOGY Vol 19 No 8**. v. 19, 1 jul. 2005. Disponível em: <https://www.cancernetwork.com/view/chemotherapy-dosing-setting-liver-dysfunction>. Acesso em: 16 jul. 2023.

JØHNKE, M.; PETERSEN, T. E.; JØHNKE, M.; PETERSEN, T. E. The Alpha-Lactalbumin/Oleic Acid Complex and Its Cytotoxic Activity. **Milk Protein**. [S. l.]: IntechOpen, 2012. DOI 10.5772/48184. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/38827>. Acesso em: 31 jul. 2023.

JR, V. T. D.; ROSENBERG, S. A.; LAWRENCE, T. S. **Devita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles and Practice of Oncology**. 6. ed. [S. l.]: Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

KASPERSEN, J. D.; PEDERSEN, J. N.; HANSTED, J. G.; NIELSEN, S. B.; SAKTHIVEL, S.; WILHELM, K.; NEMASHKALOVA, E. L.; PERMYAKOV, S. E.; PERMYAKOV, E. A.; PINTO OLIVEIRA, C. L.; MOROZOVA-ROCHE, L. A.; OTZEN, D. E.; PEDERSEN, J. S. Generic Structures of Cytotoxic Lipotides: Nano-Sized Complexes with Oleic Acid Cores and Shells of Disordered Proteins. **ChemBioChem**, v. 15, n. 18, p. 2693–2702, 15 dez. 2014. DOI 10.1002/cbic.201402407. Disponível em: <https://chemistry.europe.onlinelibrary.wiley/doi/10.1002/cbic.201402407>. Acesso em: 16 jul. 2023.

MOSSBERG, A.-K.; HUN MOK, K.; MOROZOVA-ROCHE, L. A.; SVANBORG, C. Structure and function of human α -lactalbumin made lethal to tumor cells (HAMLET)-type complexes. **The FEBS Journal**, v. 277, n. 22, p. 4614–4625, 2010. DOI 10.1111/j.1742-4658.2010.07890.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1742-4658.2010.07890.x>. Acesso em: 15 jul. 2023.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. Non-Small Cell Lung Cancer Treatment - NCI. 6 jul. 2023. [pdqCancerInfoSummary]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/types/lung/patient/non-small-cell-lung-treatment-pdq>. Acesso em: 15 jul. 2023.

NATIONAL CANCER INSTITUTE. What Is Cancer? - NCI. 17 set. 2007. [cgvArticle]. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>. Acesso em: 15 jul. 2023.

PERMYAKOV; BERLINER, L. J. α -Lactalbumin: structure and function. **FEBS Letters**, v. 473, n. 3, p. 269–274, 19 maio 2000. DOI 10.1016/S0014-5793(00)01546-5. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014579300015465>. Acesso em: 12 dez. 2022.

PERMYAKOV, E. A.; REYZER, I. L.; BERLINER, L. J. Effects of Zn(II) on galactosyltransferase activity. **Journal of Protein Chemistry**, v. 12, n. 5, p. 633–638, 1 out. 1993. DOI 10.1007/BF01025128. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF01025128>. Acesso em: 16 jul. 2023.

PERMYAKOV; KREIMER, D. I. Effects of pH, temperature and Ca²⁺ content on the conformation of alpha-lactalbumin in a medium modelling physiological conditions. **General Physiology and Biophysics**, v. 5, n. 4, p. 377–389, ago. 1986. .

PRADO, T. Á. do; BEL, G. V. D.; LEVIGNALI, M. B.; RESENDE, U. Oxaliplatin versus Irinotecan no câncer colorretal avançado. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 55, n. 3, p. e-189669, 9 nov. 2022. DOI 10.11606/issn.2176-7262.rmrp.2022.189669. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/189669>. Acesso em: 3 nov. 2023.

PUTHIA, M.; STORM, P.; NADEEM, A.; HSIUNG, S.; SVANBORG, C. Prevention and treatment of colon cancer by peroral administration of HAMLET (human α -lactalbumin made lethal to tumour cells). **Gut**, v. 63, n. 1, seç. Colon, p. 131–142, 1 jan. 2014. DOI 10.1136/gutjnl-2012-303715. Disponível em: <https://gut.bmj.com/content/63/1/131>. Acesso em: 15 jul. 2023.

RATH, E. M.; CHENG, Y. Y.; PINESE, M.; SARUN, K. H.; HUDSON, A. L.; WEIR, C.; WANG, Y. D.; HÅKANSSON, A. P.; HOWELL, V. M.; LIU, G. J.; REID, G.; KNOTT, R. B.; DUFF, A. P.; CHURCH, W. B. BAMLET kills chemotherapy-resistant mesothelioma cells, holding oleic acid in an activated cytotoxic state. **PLOS ONE**, v. 13, n. 8, p. e0203003, 29 ago. 2018. DOI 10.1371/journal.pone.0203003. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0203003>. Acesso em: 16 abr. 2023.

ROY, P. S.; SAIKIA, B. J. Cancer and cure: A critical analysis. **Indian Journal of Cancer**, v. 53, n. 3, p. 441, set. 2016. DOI 10.4103/0019-509X.200658. Disponível em: https://journals.lww.com/indianjancer/Fulltext/2016/53030/Cancer_and_cure__A_critical_analysis.27.aspx. Acesso em: 15 jul. 2023.

SVANBORG, C.; AGERSTAM, H.; ARONSON, A.; BJERKVIG, R.; FISCHER, W.; GUSTAFSSON, L.; HALLGREN, O.; LELJONHUVUD, I.; LINSE, S.; MOSSBERG, A.; NILSSON, H.; PETTERSSON, J.; SVENSSON, M. HAMLET Kills Tumor Cells by an Apoptosis-Like Mechanism Cellular, Molecular, and Therapeutic Aspects. 2003. .

SVENSSON, M.; HÅKANSSON, A.; MOSSBERG, A.-K.; LINSE, S.; SVANBORG, C. Conversion of α -lactalbumin to a protein inducing apoptosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 8, p. 4221–4226, 11 abr. 2000. DOI 10.1073/pnas.97.8.4221. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.97.8.4221>. Acesso em: 22 jul. 2023.

TOHME, S.; SIMMONS, R. L.; TSUNG, A. Surgery for Cancer: A Trigger for Metastases. **Cancer Research**, v. 77, n. 7, p. 1548–1552, 2 abr. 2017. DOI 10.1158/0008-5472.CAN-16-1536. Disponível em: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-1536>. Acesso em: 15 jul. 2023.

XIAO, Z.; MAK, A.; KOCH, K.; MOORE, R. B. A molecular complex of bovine milk protein and oleic acid selectively kills cancer cells in vitro and inhibits tumour growth in an orthotopic rat bladder tumour model. **BJU International**, v. 112, n. 2, p. E201–E210, 2013. DOI 10.1111/j.1464-410X.2012.11737.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1464-410X.2012.11737.x>. Acesso em: 13 dez. 2022.

ŽILINSKAS, J.; STUKAS, D.; JASUKAITIENĖ, A.; ŠAPAUŠKIENĖ, J.; BANIENĖ, R.; TRUMBECKAITĖ, S.; ŠVAGŽDYS, S.; CICCUIU, M.; DAMBRAUSKAS, Ž.; GULBINAS, A.; TAMELIS, A. HAMLET effect on cell death and mitochondrial respiration in colorectal cancer cell lines with KRAS/BRAF mutations. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 149, n. 11, p. 8619–8630, 1 set. 2023. DOI 10.1007/s00432-023-04777-0. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00432-023-04777-0>. Acesso em: 3 nov. 2023.