

Danos Oxidativos à Albumina em Presença de Complexos Imínicos de Cobre(II) Investigados por SDS-PAGE e Espectroscopia UV-Visível.

Mariana Pedrinha Abbott¹(PG), Ana Maria Da Costa Ferreira¹(PQ).

¹Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. mpabbott@iq.usp.br

Palavras Chave: Complexos de cobre, Base de Schiff, Danos oxidativos.

Introdução

O cobre está presente no sítio ativo de inúmeras proteínas responsáveis por funções primordiais para a vida. Entretanto, íons de cobre também estão envolvidos em processos oxidativos, gerando espécies reativas de oxigênio (EROs), podendo causar danos celulares através da oxidação de proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA. Existem evidências de que os danos oxidativos causados pelo cobre, quando não adequadamente coordenado, estão relacionados com doenças neurodegenerativas, como: mal de Alzheimer e Parkinson, diabetes e câncer¹. Por outro lado, estudos recentes mostraram que alguns complexos de cobre(II) foram capazes de induzir apoptose em células tumorais atuando como potenciais metalodrogas².

Diferentes complexos de cobre(II), do tipo base de Schiff, foram preparados e caracterizados em nosso laboratório, e tiveram sua reatividade frente à albumina humana (HSA) investigada por SDS-PAGE. Danos oxidativos à proteína foram estimados pela formação de grupos carbonil, monitorados através da obtenção das correspondentes dinitrofenilhidrazonas, pela reação com dinitrofenilhidrazina (DNPH). Estes derivados hidrazonas são estáveis podendo ser estimados espectrofotometricamente³ pela presença de uma banda característica em 360 nm com absorvidade molar de 22.000 M⁻¹ cm⁻¹.

Resultados e Discussão

O estudo da interação dos complexos de cobre(II) com albumina humana foram realizados utilizando-se a técnica de SDS-PAGE unidimensional com gel de poliacrilamida 12%, que é um método analítico adequado para separar as diversas moléculas com base no seu peso molecular, pela ação de um campo elétrico constante e do arraste através da malha de acrilamida. Neste estudo verificou-se que em presença de peróxido de hidrogênio os compostos [Cu(isaepy)₂]²⁺, [Cu(apyhist)H₂O]²⁺ e [Cu(isaen)]⁺ foram os únicos capazes de clivar a proteína, já que o padrão de fragmentação observado no gel foi diferente daquele verificado com outros compostos estudados e com o controle realizado.

A determinação da formação de grupos carbonílicos na HSA foi realizada tanto na presença como na ausência de peróxido de hidrogênio.

Em presença de H₂O₂, os compostos [Cu(isaepy)₂]²⁺, [Cu(apyhist)H₂O]²⁺ e [Cu(isami)]⁺ foram capazes de gerar mais danos oxidativos à HSA. Já na ausência de peróxido, apenas o [Cu(isaepy)₂]²⁺ se destacou entre os demais compostos, causando danos bem inferiores aos obtidos em presença de peróxido. conforme mostrado na Figura 1.

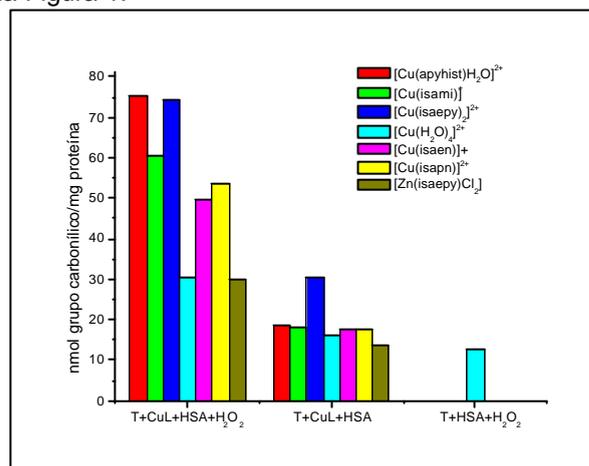


Figura 1. Danos carbonílicos à HSA, em presença de compostos [CuL].

Conclusões

Nestes estudos diferentes níveis de danos oxidativos à HSA foram observados e que parecem ser modulados pelos ligantes imínicos. Dentre os compostos estudados, [Cu(isaepy)₂]²⁺ e [Cu(apyhist)H₂O]²⁺ foram capazes de causar maior dano à proteína, como verificado tanto por SDS-PAGE como por espectroscopia UV/Vis.

Agradecimentos

CAPES, FAPESP, CNPq

¹ Rossi, L.; Lombardo, M. F.; Ciriolo, M.R.; Rotilio, G.; *Neurochem. Res.* **2004**, 29, 493

² Cerchiaro, G.; Aquilano, K.; Filomeni, G.; Rotilio, G.; Ciriolo, M. R.; Ferreira, A.M.D.C.; *J. Inorg. Biochem.* **2005**, 99, 1433.

³ Levine, R.L.; Garland, D.; Oliver, C.N.; Amici, A.; Climent, I.; Lenz, A.; Ahn, B.; Shaltiel, S.; Stadtman, E.R.; *Methods in Enzymol.* **1990**, *186*, 464.