

Desenvolvimento de Ensaios Celulares para Avaliação de Candidatos a Inibidores da Tumorigênese de Mama em Cultura Celular MDA-MB-231

Karime B. Stevanatto (PG),* Renata Krogh (PQ), Adriano D. Andricopulo (PQ)

(* karimebs@ursa.ifsc.usp.br)

Laboratório de Química Medicinal e Computacional, Centro de Biotecnologia Molecular Estrutural – Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo.

Palavras Chave: câncer, fármaco, ensaio biológico, tumorigênese, MDA-MB-231.

Introdução

Os tumores iniciam com uma simples célula normal que se torna cancerígena, depois se divide e multiplica rapidamente. O quadro pode evoluir gravemente para um processo de crescimento desordenado, onde as células começam a migrar e invadir novos tecidos, processo este denominado de metástase. Os estudos de migração e invasão celular possuem papel importante nos processos fisiológicos e patológicos que vão desde o desenvolvimento embrionário, resposta imunológica, inflamação e tumorigênese. A busca por compostos de origem natural ou sintética com propriedades inibitórias destes processos é de extremo interesse farmacêutico. Os ensaios celulares são importantes ferramentas na triagem de compostos candidatos a novos fármacos anticâncer. Um problema comum para muitos laboratórios é que a elevada demanda de compostos para ensaios biológicos se torna incompatível com a capacidade de recursos humanos, técnicos e financeiros existentes. O ensaio wound healing (WH) foi um dos primeiros desenvolvidos para a análise qualitativa *in vitro* da migração celular. No presente trabalho, desenvolvemos uma estratégia experimental comparativa com o objetivo de empregar este sistema celular na seleção de inibidores promissores para ensaios mais avançados e sofisticados.

Resultados e Discussão

As etapas experimentais básicas do ensaio WH envolvem a criação de uma “ferida” na monocamada celular (células aderidas no assoalho da placa de 12 poços), a adição do composto em estudo ao meio de cultura, em concentrações variadas, a captura das imagens no começo do experimento e depois em intervalos regulares durante o processo de migração, até o fechamento da “ferida” (Figura 1). Embora o ensaio de WH seja de natureza qualitativa, no presente trabalho realizamos uma extensiva triagem biológica *in vitro* e selecionamos uma série de derivados benzotiazóis e bezimidazóis para a realização de ensaios dose-dependente que foram capazes de fornecer um resultado bastante

interessante na discriminação relativa, conforme podemos observar no gráfico da Figura 2, para os efeitos no processo de inibição da evodiamina e de um derivado benzotiazol, que foi identificado nas triagens iniciais com o ensaio WH.

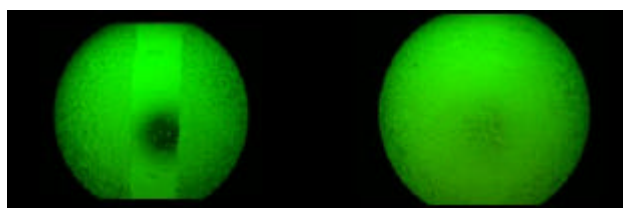


Figura 1. Ensaio de WH: (a) criação da fenda; (b) processo de migração celular.

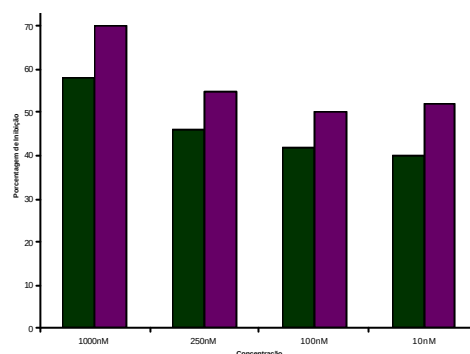


Figura 2 Gráfico do efeito de inibição do padrão evodiamina (verde) em relação a um derivado de benzotiazol (roxo, mesmo Fig. 1).

Conclusões

Por se tratar de um ensaio celular que incorpora uma tríade essencial: simplicidade, rapidez e baixo custo, os resultados são bastante úteis na avaliação comparativa *in vitro* de compostos selecionados pelo método WH. Os resultados indicam que o derivado benzotiazol empregado neste exemplo, inibe a migração celular, sendo assim um candidato promissor a testes complementares de migração e invasão celular, utilizando o método da câmara de Boyden.

Agradecimentos

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)
Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda,
CNPq

Burk, R.R. Proc Natl Acad Sci USA 1973, 70: 368-372