

Efeito sinérgico de um doador de óxido nítrico e protoporfirina IX na citotoxicidade em melanócito

Aline R. H. Carollo^{1*} (PG), Daniel R. Callejon¹ (PG), Marcelo D. Baruffi¹ (PQ), Elia Tfouni² (PQ), Roberto S. da Silva¹ (PQ), Maria Vitória L. B. Bentley¹ (PQ). alinerhc@fcrp.usp.br

1- Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Av. do Café s/n, 14040-903, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. 2- Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP.

Palavras Chave: Terapia Fotodinâmica, protoporfirina, complexo nitrosilo, B16/F10.

Introdução

A molécula de óxido nítrico (NO) tende a reagir rapidamente com alguns metais de transição, formando compostos estáveis denominados complexos nitrosilos, os quais podem ser utilizados como fonte geradora de NO. Uma vez que essa molécula também apresenta atividade antitumoral e antiviral, torna-se bastante interessante do ponto de vista clínico o desenvolvimento de compostos que possam produzir NO de forma controlada. Assim sendo, este trabalho objetiva estudar o complexo nitrosilo de rutênio $[RuCl(cyclam)NO]Cl_2$ que, associado a um fotossensibilizador (FS), possui a peculiaridade de absorver na região do visível e pode ser aplicado na terapia fotodinâmica para tratamento de câncer de pele, através de um processo de transferência eletrônica fotoinduzida. O FS escolhido foi a Protoporfirina IX (PpIX), composto já bastante conhecido e estudado.

Resultados e Discussão

Avaliou-se a liberação de NO usando um sensor amperométrico (ISO-NO), a partir do cyclam e da mistura deste com a PpIX, durante irradiação com uma lâmpada acoplada a um filtro de interferência vermelho. Para o cyclam isoladamente, não foi detectada a presença de NO pelo NO-meter. Entretanto, a mistura apresentou uma significativa liberação de NO (Figura 1). O FS é excitado por um feixe de luz de comprimento de onda específico, transfere um elétron para o composto nitrosil e reduz NO^+ para NO^0 que, por ter baixa afinidade com Ru(II), é liberado para solução.

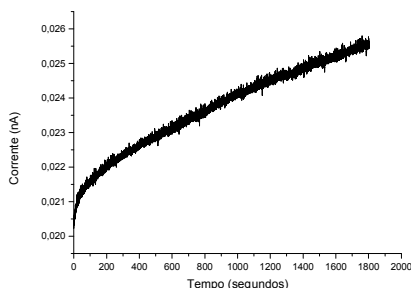


Figura 1. Liberação de NO durante irradiação do cyclam misturado à PpIX (10×10^{-4} M).

O efeito citotóxico destes compostos foi avaliado nas linhagens celulares de melanócitos murinos Melan-A (normal) e B16/F10 (melanoma), utilizando

o método do MTT. Utilizou-se o cyclam, a PpIX e uma mistura equimolar dos dois nas concentrações de 2,5 e 5 μ M. Após o tratamento, as placas foram irradiadas ou não (controle) com luz vermelha.

Nos experimentos com a linhagem normal Melan-A, houve pequena diminuição na viabilidade celular das células ($\pm 10\%$). Nas células B16/F10 (melanoma), o FS isolado mostrou elevada atividade, como era esperado. Entretanto, verificou-se que o tratamento com a mistura dos dois compostos mostrou uma maior atividade, promovendo uma redução da viabilidade celular em torno de 90% após a irradiação (Figura 2).

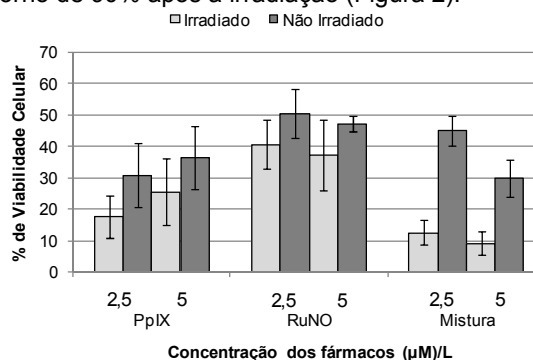


Figura 2. Viabilidade celular das células B16/F10 após tratamento com os fármacos em diferentes concentrações e irradiação com luz vermelha.

A atividade citotóxica significativa da mistura sugere a somatória das atividades dos dois compostos, mediada por espécies citotóxicas de oxigênio no caso da PpIX e pelo NO no caso do cyclam. Os fármacos apresentaram seletividade pelas células tumorais, uma vez que na linhagem normal Melan-A a ação não foi significativa.

Conclusões

Pudemos constatar que a PpIX foi capaz de induzir a liberação de NO do complexo $[RuCl(cyclam)NO]Cl_2$. A mistura dos fármacos mostrou um significativo efeito citotóxico em células de melanoma murino, sugerido a potencial aplicação desta mistura para TFD. Novos ensaios serão necessários para estabelecer a sinalização celular envolvida no efeito citotóxico destes compostos nas células tumorais.

Agradecimentos

FAPESP e CNPq.