

Porfirinas Catiônicas: relação entre hidrofobicidade, complexação com zinco e indução de apoptose

Christiane Pavani (PG)^{1*}, Yassuko Iamamoto (PQ)¹, Mauricio S. Baptista (PQ)²; *christp@usp.br*

¹Departamento de Química – FFCLRP-USP – Ribeirão Preto – SP; ²Instituto de Química – USP - São Paulo-SP

Palavras Chave: Terapia Fotodinâmica, Porfirinas catiônicas, Apoptose.

Introdução

A Terapia Fotodinâmica (TFD) é uma modalidade terapêutica para tratamento de doenças, inclusive câncer. TFD envolve 3 componentes: oxigênio, luz e um fotossensibilizador (FS). Neste processo de destruição tumoral a morte celular pode ocorrer por necrose ou apoptose. Diversas terapias de câncer, inclusive a TFD, têm tentado estabelecer maneiras de iniciar a apoptose em tecidos cancerígenos.¹

Porfirinas catiônicas (Figura 1) mostraram ser eficientes FS para TFD² e a presença de cadeia alquílica (hidrofobicidade) e quelação com zinco mostraram ser fatores importantes na eficiência fotodinâmica por influenciarem a incorporação e localização celular destes compostos.

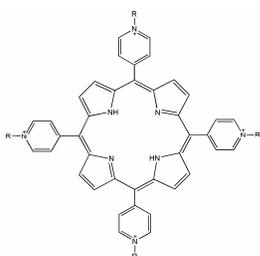


Figura 1. Esquema das estruturas das porfirinas catiônicas estudadas. TMePyP: R=CH₃, TC8PyP: R=C₈H₁₇.

O objetivo deste trabalho é se verificar estas porfirinas catiônicas levam à morte celular por apoptose, caracterizando o efeito da hidrofobicidade e da inserção de zinco na indução de núcleos sub-diplóides.

Resultados e Discussão

As células HeLa, após passarem pelo tratamento utilizando cada uma das porfirinas no escuro e também irradiadas (base-livre com laser em 650 nm e zinco porfirinas em 532 nm, 175 mJ.cm⁻²), foram fixadas segundo protocolo estabelecido na literatura³ e marcadas com iodeto de propídeo. As amostras foram lidas em um citômetro de fluxo. Foram obtidos os histogramas, como o apresentado na Figura 2.

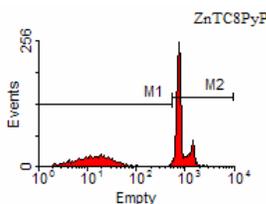


Figura 2. Histograma de citometria de fluxo de células HeLa tratadas com a porfirina ZnTC8PyP.

Dois regiões foram demarcadas nos histogramas: M1 região contendo fragmentação de DNA (núcleos sub-G1 ou subdiplóides) e M2 região contendo os picos característicos das fases celulares (M, G1, S e G2). Observa-se em todos os casos a presença de 2 picos (região M2): O pico da

esquerda corresponde às células na fase G1, o segundo corresponde às células nas fases G2+M e a região entre os picos corresponde às células na fase S. Com o auxílio do software WinMDI, calculou-se a porcentagem de células na região M2 (células viáveis) e na região M1 (núcleos sub-diplóides) para cada uma das porfirinas e os resultados estão apresentados na Figura 3.

Como pode ser observado a incubação das células com as porfirinas mesmo sem irradiação, leva a um pequeno aumento na porcentagem de núcleos sub-diplóides. Apenas a irradiação do controle não aumenta a porcentagem de M1, significando que só o contato com as porfirinas ou a irradiação lesiona de maneira pouco intensa as células. As porfirinas alquiladas (TC8PyP e ZnTC8PyP), mais fototóxicas que as metiladas (TMePyP e ZnTMePyP),² induzem à formação mais intensa de núcleos sub-G1. Estes resultados não mostram diferença significativa na indução de núcleos sub-diplóides entre as porfirinas base-livre e zinco porfirinas, apesar das zinco porfirinas serem mais fototóxicas que as base-livre.²

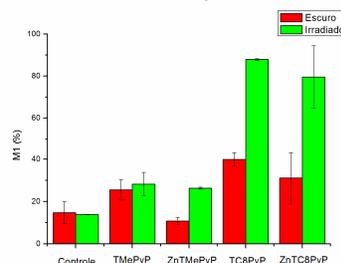


Figura 3. Porcentagem de núcleos subdiplóides em células HeLa tratadas com as porfirinas e porfirinas + irradiação.

Conclusões

A partir destes resultados conclui-se que essas porfirinas catiônicas induzem a formação de núcleos sub-diplóides sendo que as porfirinas alquiladas o fazem com maior intensidade. A presença de zinco não mostrou ter influência na indução de núcleos sub-G1. Conclui-se, portanto, que a alquilação das porfirinas é uma alteração estrutural mais importante que a inserção de zinco na obtenção de fotossensibilizadores que levam à morte celular por apoptose.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq e CAPES.

¹Klaus, M.D.; Cancer Immunol. Immunotherapy, 53(3), 153-159, 2004.

²Pavani, C.; Fernandes, A.U.; Oliveira, C.S.; Iamamoto, Y.; Baptista, M.S.; Photochem. Photobiol.Sci., 2009, DOI: 10.1039/b810313e.

³Zamai, L; Falcieri, E.; Marhem, G.; Vitale, M.; Cytometry (23) 303-311, 1996.