

## Complexos de cobre-peptídeos como indutores de proliferação celular

Andreza C. Matias (PG), Nathália Villa dos Santos (PG), Larissa C. C. Lago (IC), Paula M. C. Simionato (PG), Lucimari Bizari (PG), Cassiana S. Nomura (PQ), Giselle Cerchiaro (PQ)\*  
 giselle.cerchiaro@ufabc.edu.br

Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André, SP.

Palavras Chave: proliferação celular, células tumorais, cobre no meio biológico, cobre, glicina.

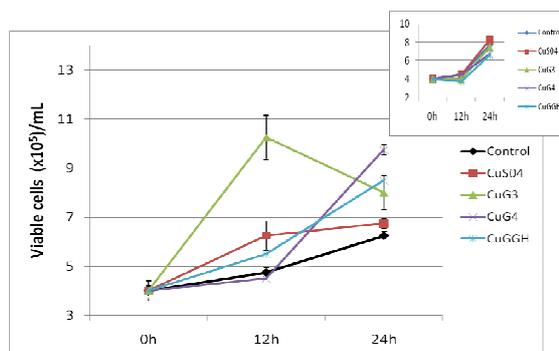
### Introdução

Estresse Oxidativo é definido como um desbalanço na atividade anti-oxidante e pro-oxidante de um sistema biológico, tendendo para o último caso (1). O objetivo deste estudo é determinar como a atividade pro-oxidante do íon cobre(II) – um metal bioessencial importante e presente no sítio ativo de muitas metaloproteínas – afeta o ciclo celular, usando para tal estudo cobre complexado com peptídeos derivados da glicina com baixo peso molecular. Esta se mostrou uma forma eficaz de carrear o cobre no interior da célula, causando um distúrbio na geração de espécies reativas e radicais livres.

Nos últimos anos o grupo de Bioquímica de Radicais Livres em Sinalização Celular da UFABC vem trabalhando na investigação de como a homeostase alterada de metais de transição com atividade redox como o cobre altera o ciclo celular e os efeitos de sinalização deste processo.

### Resultados e Discussão

Foram utilizadas as células de câncer mamário MCF-7 (receptor de estrogênio positivo) e MCF10-A (receptor de estrogênio negativo) obtidas da ATCC (USA), e cultivadas em meios adequados. Medidas de absorção atômica da quantidade de cobre inserido foram feitas em 0, 3, 6 e 12 h após o tratamento com os complexos de cobre(II) com os ligantes: GlyGlyHis (GGH), GlyGlyGly (G3) e GlyGlyGlyGly (G4) à 10-200  $\mu$ M, preparados imediatamente antes do uso. O teste de viabilidade por exclusão com o Azul de Tripiano (TB) foi realizado em todas as culturas (Figura 1), e também em outras culturas celulares para comparação. A geração de ROS de cada complexo isoladamente foi comparada pelo método TBARS (2-thiobarbituric acid reactive species). Iodeto de propídeo (PI) e 2',7'-Dichlorofluorescina diacetate (DCFH-DA) foram usados em citometria de fluxo para avaliação do ciclo celular (Tabela 1) e geração de ROS (espécies reativas de oxigênio) intracelular, respectivamente. A citometria de fluxo mostra um aumento na fase S do ciclo celular em relação ao controle, especialmente para os complexos CuG4 e CuGGH, os que mais causam proliferação celular.



**Figura 1.** Teste de exclusão por TB para contagem de células viáveis, CuL e CuSO<sub>4</sub> = 50 $\mu$ M. Inseto: Teste de viabilidade similar para a MCF10-A (ER-). n=5, t < 0,05.

**Tabela 1.** Experimentos de citometria de fluxo nas células MCF-7, com PI, n=3.

Tratamento	sub G1 %	G1 %	S %	G2/M %
Cu(G4) 50 $\mu$ M 24h	0.12 ( $\pm$ 0,04)	45.03 (2,30)	( $\pm$ 34.43 (2,44)	( $\pm$ 20.53 (1,22)
Cu(G4) 50 $\mu$ M 48h	0 ( $\pm$ 0)	41.5 ( $\pm$ 1,46)	30.91 (2,43)	( $\pm$ 27.59 (2,99)
Cu(GGH) 50 $\mu$ M 24h	0.115 (0,04)	( $\pm$ 46.51 (3,12)	( $\pm$ 38.62 (3,33)	( $\pm$ 14.87 (0,71)
Cu(GGH) 50 $\mu$ M 48h	0.18 ( $\pm$ 0,02)	56.17 (1,46)	( $\pm$ 26.815 (1,32)	( $\pm$ 17.01 (0,88)
Control 24h	0.02 ( $\pm$ 0)	58.68 (2,10)	( $\pm$ 27.10 (2,77)	( $\pm$ 14.21 (0,17)
Control 48h	0.345 (0,04)	( $\pm$ 58.31 (1,23)	( $\pm$ 23.77 (1,88)	( $\pm$ 17.915 (0,64)

### Conclusões

Nossos resultados mostram que os complexos de cobre-peptídeo aumentam a proliferação da MCF-7 em 12 e 24h em relação ao controle, afetando o ciclo celular na fase S e havendo provavelmente envolvimento da ativação das ciclinas E e A. O cobre entra na célula durante as 3 primeiras horas de incubação e permanece por 12 h em alta concentração em seu interior. Esta inserção gera ROS após 6-12h nas células tratadas, mostrando a relação destas espécies com a proliferação celular.

### Agradecimentos

FAPESP (Projeto JP 07/50765-2), CNPq, Fundação UFABC e CAPES.

<sup>1</sup> Halliwell B and Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 2007, 4ª edição.