

APOPTOSE TUMORAL INDUZIDA POR COMPLEXO RUTÊNIO-NITROSILO CONJUGADOS A ANTICORPOS

*Loyanne Carla Barbosa Ramos (PG)¹ *loycar@fcrp.usp.br, Fernando Postalli Rodrigues (PG)¹, Tassiele Andréa Heinrich (PG)¹, Roberto Santana da Silva (PQ)¹.

1. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Av. do Café, s/n CEP: 14040-903 – Ribeirão Preto -São Paulo- Brazil.

Palavras Chave: Óxido Nítrico, Anticorpo, Especificidade.

Introdução

O óxido nítrico (NO) é um mensageiro biológico extremamente importante em inúmeros processos fisiológicos e muitos estudos tem apresentado evidências das propriedades antitumorais do óxido nítrico e utilização de complexos doadores de NO no tratamento de tumores^[1]. Assim, é crescente o interesse no desenvolvimento de sistemas que atuem como agentes doadores de NO, de forma controlada, no sistema biológico e dentre essas possibilidades estão os complexos nitrosilos de rutênio (Ru{NO}). Para viabilizar o uso desses complexos como metalo-drogas, é necessário compreender o comportamento químico e mecanismo de ação em sistemas biológicos. A interação entre Ru{NO} com um alvo biológico em particular parece ter importância fundamental para que se alcance uma liberação específica de NO em células tumorais. Neste sentido, esse trabalho visa contribuir para o conhecimento, descrição das propriedades físico-químicas e compreensão de mecanismos que possibilitem uma liberação mais específica desses complexos.

Resultados e Discussão

Nestes estudos foram sintetizadas as espécies A) [Ru(terpy)(dcbpy)NO](PF₆) (dcbpy = 4,4'-dicarboxilato-2,2'-bipiridina; terpy = terpiridina), (B) [Ru(bpy)(dcbpy)₂] (C) cis-[RuCl₂(dcbpy)₂] e (D) cis-[Ru(Cl)(dcbpy)₂(NO)]²⁺. A caracterização química e cinética destes sistemas foi avaliada por técnicas espectrofotométricas e eletroquímicas. Os espectros IV dos complexos nitrosilos apresentam bandas na região de 1900 a 1950 cm⁻¹ relacionadas ao estiramento de ν_{NO}. Todas espécies quando irradiadas no comprimento de onda apropriado liberaram NO (Fig. 1). O complexo (C) foi incorporado em lipossoma e conjugado ao anticorpo IgG. A mistura reacional filtrada (Shepadex G-25), as frações coletadas e a viabilidade celular avaliada através do método MTT. Para tanto foram utilizadas células HepG2 e B16/F10 tratadas com o complexo cis-[Ru(Cl)(dcbpy)₂(NO)]²⁺ incorporado ou não ao lipossoma (Fig. 2 e 3). A possibilidade de ligação entre complexo nitrosilo e anticorpo IgG foi confirmada por alterações nos espectros de absorção das frações obtidas quando comparadas ao espectro do composto e detecção do anticorpo por Western Blotting (Fig. 4).

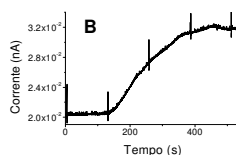


Figura 1. Cronoamperograma do complexo [Ru(terpy)(dcbpy)NO] em solução aquosa; λ_{irr} = 477 nm.

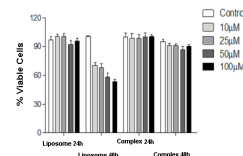


Figura 2. Efeito de cis-[Ru(Cl)(dcbpy)₂(NO)]²⁺ em células B16/F10, em solução e incorporado ao lipossoma.

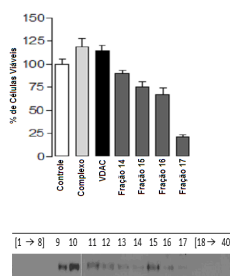


Figura 3. Efeito citotóxico de IgG (0,15 mg/mL) e cis-[Ru(Cl)(dcbpy)₂(NO)]²⁺ (50 Mm); Frações 14-17 em células B16/F10.

Figura 4. Detecção da proteína mitocondrial VDAC nas frações por Western Blot.

Conclusões

Os complexos nitrosilos de rutênio sintetizados foram caracterizados quanto suas propriedades físicas e químicas e analisados quanto à citotoxicidade. Estão sendo realizados estudos a fim de definir o efeito responsável pela ação citotóxica. Estudos de viabilidade celular demonstram que a interação entre o anticorpo--[cis-[Ru(Cl)(dcbpy)₂(NO)]²⁺] propicia uma ação citotóxica mais específica e que a incorporação do complexo em sistema lipossomal proporciona um aumento da atividade biológica quando comparado ao complexo nitrosilo em solução. Análises de biologia molecular e ensaios de microscopia serão realizados, o que possibilitará avaliar os efeitos dessa liberação de NO em um sítio específico.

Agradecimentos

FAPESP, CAPES e CNPq.

[1] Ignarro, L. J.; Buga, G. M.; Wood, K. S.; Byrns, R. E.; Chaudhuri, G.; Proc. Natl. Acad. Sci. USA., v. 84, p. 9265-9269, 1987.