

Indução de apoptose em B16-F10 com aumento da expressão gênica de caspases e FAS por um novo composto de Rutênio (II).

Hellen Karine Paes Porto¹ (PG), Cesar A. S. T. Vilanova-Costa¹ (PG), Alzir Azevedo Batista² (PQ)**, Elisângela de Paula Silveira-Lacerda¹ (PQ)*

¹Universidade Federal de Goiás; ²Universidade Federal de São Carlos.

*silveira-lacerda@gmail.com; **daab@ufscar.br

Palavras Chaves: Rutênio, apoptose, caspases, FAS, citotoxicidade, B16-F10.

Introdução

Embora o sucesso com a quimioterapia da platina seja real, os complexos de platina apresentam pontos negativos, como a resistência de vários tipos de cânceres e alta toxicidade da terapêutica. Na tentativa de reduzir os efeitos tóxicos e aumentar a eficácia da terapia contra o câncer, compostos a base de metais de transição estão sendo desenvolvidos e estudados atualmente. Dentre os diversos compostos, os complexos de Rutênio se destacam por sua seletividade para células tumorais e baixa toxicidade^{1,2}. Com base nessa busca por novos compostos que sejam eficientes na terapia contra o câncer, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a indução de morte celular pelo composto [Ru(Ala)(dppb)(bipy)]PF₆ (RuAla) na linhagem B16-F10 (ATCC® # CL-6475™) através de marcadores moleculares para a cascata de apoptose.

Resultados e Discussão

A avaliação do potencial citotóxico do composto [Ru(Ala)(dppb)(bipy)]PF₆ foi realizada através do ensaio de redução do MTT, em tempo de exposição ao tratamento de 48 horas. O valor de IC₅₀ frente à linhagem tumoral B16-F10 foi estimado em 16,17µM (Figura 1). Essa avaliação determina a inibição do crescimento celular na presença do composto, o valor de IC₅₀ encontrado demonstra que o composto apresenta relevante potencial citotóxico. Após, a avaliação inicial de triagem pelo ensaio de redução do MTT, foram avaliados três diferentes marcadores de morte celular, caspase 3, caspase 9 e FAS. A análise da expressão gênica foi realizada em tempo de exposição ao tratamento de 3 e 6 horas, com concentração próxima ao valor de IC₅₀ estimado. O composto [Ru(Ala)(dppb)(bipy)]PF₆ induz aumento na expressão gênica de caspase 3 e 9 no tempo de 6 horas e induz aumento de FAS no tempo de 3 horas (Figura 2). O marcador FAS é receptor de membrana celular, sendo um dos desencadeadores da cascata de apoptose, assim sua expressão em menor tempo de exposição é esperada. Já os outros dois marcadores, caspase 3 e 9, são enzimas responsáveis pelo mecanismo de morte celular por apoptose.

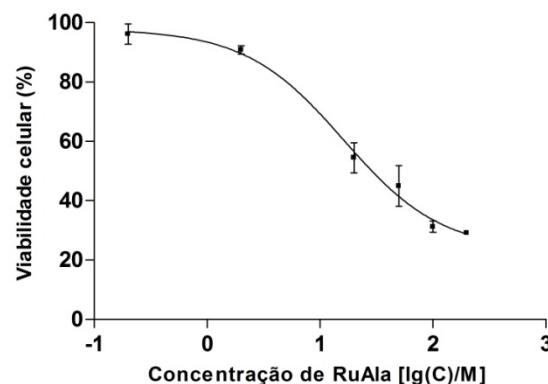


Figura 1. Curva Concentração-Resposta para determinação do valor de IC₅₀. Avaliação da viabilidade celular da linhagem B16-F10 frente ao tratamento com [Ru(Ala)(dppb)(bipy)]PF₆ (Concentrações: 0,2 – 200µM) em 48 horas de tratamento.

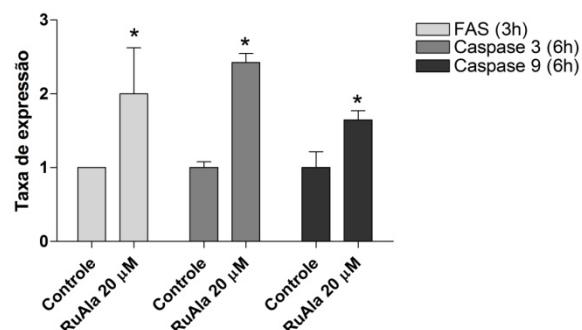


Figura 2. Avaliação da expressão gênica de FAS, Caspase 3 e Caspase 6 frente ao tratamento com o composto [Ru(Ala)(dppb)(bipy)]PF₆ (Concentração: 20µM) em 3 e 6 horas de tratamento.

Conclusões

Embassados nos resultados obtidos, podemos concluir que o composto [Ru(Ala)(dppb)(bipy)]PF₆ apresenta atividade citotóxica e desencadeia morte celular por apoptose, através do aumento dos níveis de expressão gênica de Caspase 3, Caspase 9 e FAS.

Agradecimentos

CAPES, CNPq, Finep, FAPEG, UFG, UFSCar.

¹Alama, A.; Tasso, B.; Novelli, F.; Sparatore, F. Organometallic compound in oncology: implications of novel organotin as antitumor agents. *Drug Discovery Today* 14, 500-508. 2009.

²Kostova, I. Ruthenium complexes as anticancer agents. *Current Medicinal Chemistry*. v. 13, p. 1086-1107. 2006.