

EFEITOS DA INIBIÇÃO DA SÍNTESE DE ÓXIDO NÍTRICO EM MODELO “IN VITRO” DE TUMOR MAMÁRIO

Danielle Cabral Fonseca, Kayo Okazaki e Daniel Perez Vieira
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN

INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o segundo tipo de tumor mais frequente no mundo e o mais comum entre as mulheres, respondendo por 22% dos casos novos a cada ano [1]. Em 61% dos tumores mamários humanos foi relatada a presença da iNOS (óxido nítrico sintase indutível, NOS2). Pacientes cujos tumores mamários apresentavam expressão significativa de NOS2 intra-tumoral mostraram reduzida sobrevida em relação a aqueles cuja natureza do tumor não apresenta a expressão de NOS2.

É difícil identificar o papel específico do NO nos processos de crescimento tumoral e metastatização, pois seu efeito é dependente de concentração, interação com outros radicais livres, íons metálicos e proteínas além do tipo celular e fatores genéticos [2]. Além disso, o radical NO tem vida média muito curta no meio intracelular, dificultando ainda mais sua mensuração.

Foi verificado que altos níveis de NO são genotóxicos através da formação de nitrosaminas carcinogênicas e peroxinitrito (ONOO) ou por modificação direta no DNA, ou ainda nas proteínas de reparo de DNA [3]. Neste estudo, foram utilizados um inibidor específico da NOS2, Aminoguanidina, e um inibidor inespecífico (L-NAME) a fim de se verificar o efeito do NO sobre o crescimento das células tumorais MCF7.

OBJETIVO

Avaliar efeitos da inibição da produção de óxido nítrico na viabilidade celular de modelo *in vitro* de tumor mamário para

pesquisa de potencial agente radiosensibilizador para uso em radioterapia.

METODOLOGIA

Células MCF7 foram cultivadas em garrafas contendo meio RPMI 1640 com 10% de Soro Fetal Bovino em atmosfera umidificada (95%O₂ / 5%CO₂). As células foram tratadas por 24 horas com aminoguanidina (100 a 10mM) e L-NAME (25 a 2,5mM) solubilizados em RPMI. Após o tratamento, o meio de cultura foi retirado e adicionado 200µL de meio fresco, e MTS, solução colorimétrica em que é possível se observar a proporção de proliferação celular [4]. Foram feitas leituras de absorbância a 490nm 2 horas após a adição da solução colorimétrica. Os valores provenientes das células não-tratadas (controles) foram considerados como representações de 100% de proporção de viabilidade, e as medições provenientes das outras amostras variaram em relação a esta. Os dados obtidos foram analisados para se obter as concentrações inibitórias de 50% das culturas (IC50).

RESULTADOS

Valores estatisticamente iguais aos controles não-tratados (ANOVA e posterior teste de múltiplas comparações de Dunnett) foram observados nas concentrações 2,5, 5 e 7,5mM para L-NAME (Figura 1a) e 10 e 20mM para aminoguanidina (Figura 1b). Os valores de IC50 encontrados foram 22,54mM para L-NAME (Figura 2a) e 53,87mM para aminoguanidina (Figura 2b).

Valores estão indicados no canto esquerdo superior dos gráficos.

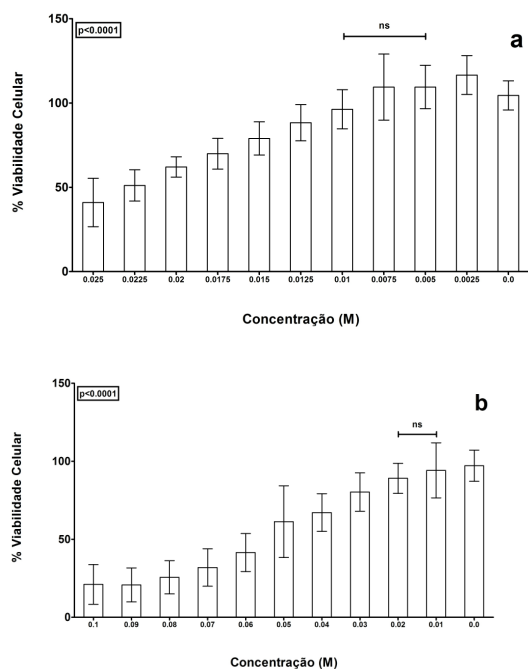


Figura 1: Citotoxicidade das concentrações testadas de L-NAME (a) e aminoguanidina (b).

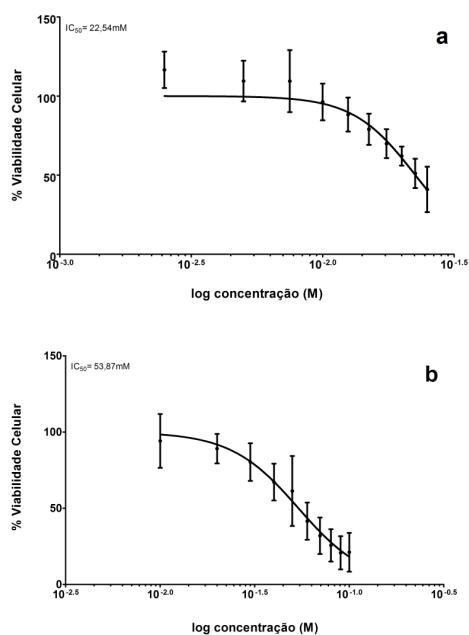


Figura 2: IC₅₀ de L-NAME (a) e aminoguanidina (b).

CONCLUSÕES

Os experimentos mostraram que há faixas de concentrações de cada um dos inibidores que mostram baixa toxicidade (estatisticamente iguais aos controles) nas células MCF7, indicando limites que, embora não sejam deletérios à linhagem tumoral testada, podem ser importantes pontos de partida na pesquisa de radiosensibilizadores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Instituto Nacional do Câncer – INCA (2009), Estimativa 2010 – Incidência de Câncer no Brasil. Publicação eletrônica em: http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/controle_cancer.

[2] Muntané J. and la Mata M.D., (2010), Nitric oxide and cancer. **World J Hepatol.** **27;2(9):**337-44.

[3] Abdelmagid S.A. and Too C.K., (2008), Prolactin and estrogen up-regulate carboxypeptidase-d to promote nitric oxide production and survival of mcf-7 breast cancer cells. **Endocrinology.**, **149(10):**4821-8.

[4] Catalano, J.G.; Valdes, J.J.; Menking, D., (2006), Standardization of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, inner salt (MTS) assay for the SK-N-SH, KYSE-30, MCF-7, AND HeLa cell lines. **ECBC-TR-458.** U.S. Army Research, Development and Engineering Command.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

FAPESP CNPq-PIBIC