

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO TRATAMENTO COM NANOESFERAS EM CÉLULAS TUMORAIS E NÃO TUMORAIS HUMANAS

Kelly Todescatto (PIBIC/CNPq), Cátia dos Santos Branco, Valeria Weiss, Mirian Salvador (Orientadora)
Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil



Introdução

Os sistemas nanoparticulados constituem uma importante alternativa para a vetorização de substâncias ativas no organismo, no entanto, sua possível toxicidade pode comprometer sua aplicação farmacológica. Considerando a importância do emprego desta tecnologia na veiculação de substâncias ativas, estudos como este são muito úteis para a determinação da faixa segura a ser utilizada.

Objetivo

Avaliar os efeitos da administração de uma formulação de nanoesferas de policaprolactona *per se* em cultura de células tumorais (HEp-2) e não tumorais (MRC5) humanas.

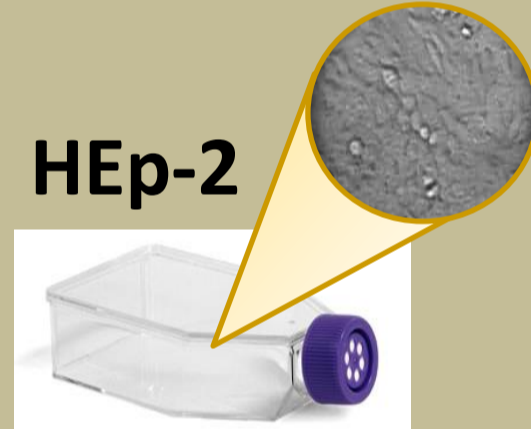
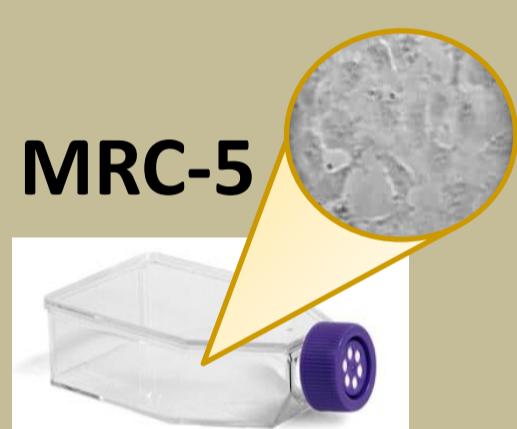
Metodologia

Solução de nanoesfera



- As NE foram preparadas pelo método de nanoprecipitação, utilizando poli-epson caprolactona como polímero e caracterizadas quanto a morfologia, pH e tamanho de partícula.

Linhagens celulares



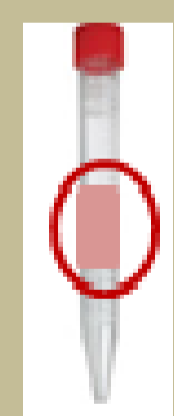
Viabilidade celular

Ensaio de MTT (3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio)

Foram feitos 5 ensaios utilizando diferentes concentrações (0,0001; 0,001; 0,01; 0,1; 1; 2,5; 5; 7,5; 10) da solução de nanoesferas durante 24 horas, nas linhagens HEp-2 e MRC5.



Dano oxidativo



✓ TBARS
Determinação da peroxidação lipídica através dos produtos de reação do ácido tiobarbitúrico

✓ Proteínas carboniladas

Determinação do conteúdo carbonil em proteínas oxidavelmente modificada.



Atividade antioxidante

✓ Sulfidril

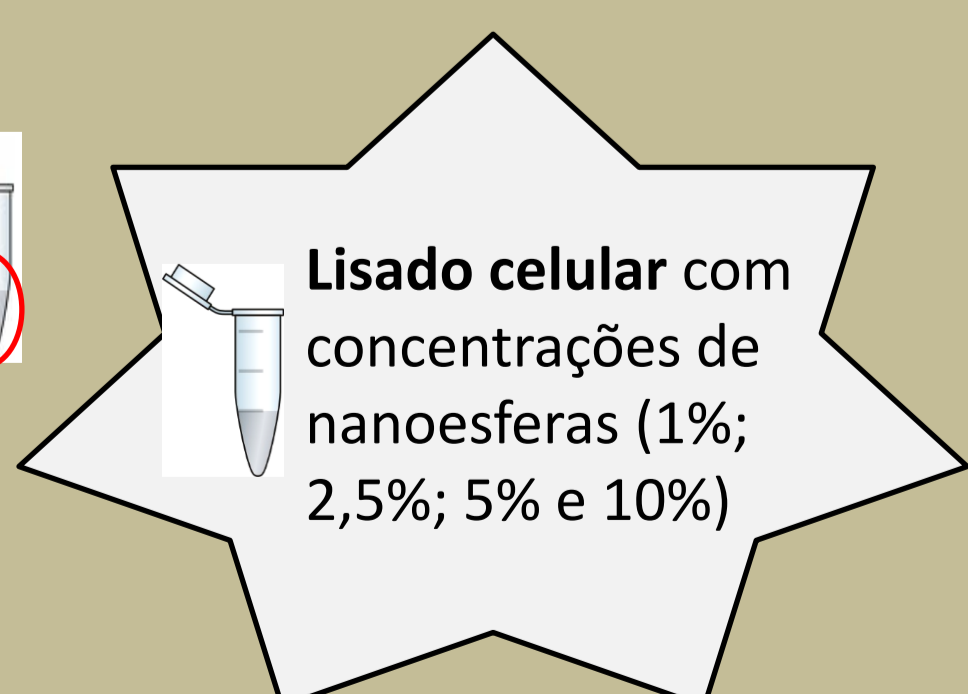
Determinação de grupamentos sulfidrila (SH) totais, baseado na redução de 5,50-ditio-bis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB)

✓ SOD

Inibição do radical superóxido pela amostra.

✓ CAT

Velocidade de consumo de H₂O₂ na amostra.



Análise estatística: Programa SPSS 21.0

Resultados e discussão

A suspensão de NE apresentou um pH de $5,69 \pm 0,05$ e diâmetro de partícula de $196,3 \pm 0,96$ nm. A análise por microscopia eletrônica revelou que as NE apresentam um formato esférico e oval adequados. O ensaio de MTT mostrou que a partir da concentração de 0.1% houve uma redução na proliferação para ambas as linhagens sendo mais citotóxicas para as células tumorais ($IC_{50} = 3,72\%$ para a linhagem HEp-2 e $9,11\%$ para a linhagem MRC5). A formulação de NE também induziu danos à lipídios e proteínas nas células tumorais (Figura 1 A e B).

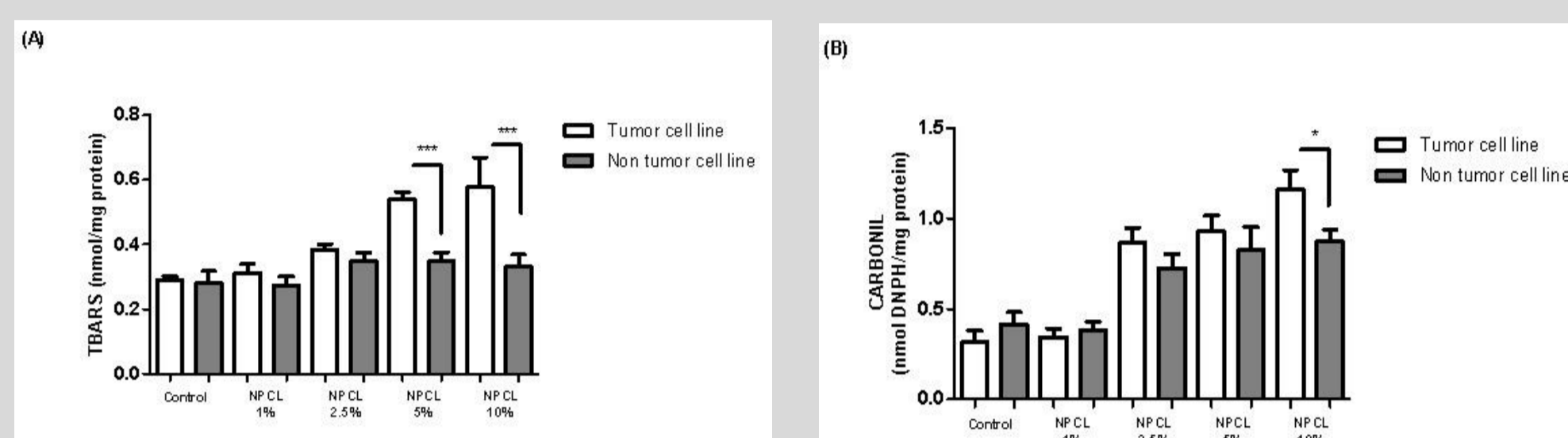


Figura 1. Danos a lipídios (A) e proteínas (B) em células tumorais HEp-2 e não tumorais MRC5 tratadas com nanoesferas em diferentes concentrações. Legenda: Resultados são expressos em \pm DP. Análise estatística ANOVA e post hoc de Tukey's para* ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$) e *** ($p < 0,001$) para cada parâmetro avaliado.

Observou-se que as células não tumorais apresentaram um maior conteúdo de proteína sulfidril em relação às células tumorais, indicando uma concentração maior de grupamentos tióis (SH) livre (Figura 2 A). A dose mais alta de NE foi capaz de aumentar a atividade da enzima SOD nas células tumorais (Figura 2 B). Em relação à atividade de CAT, não foi encontrada diferença estatística entre as linhagens (Figura 2 C).

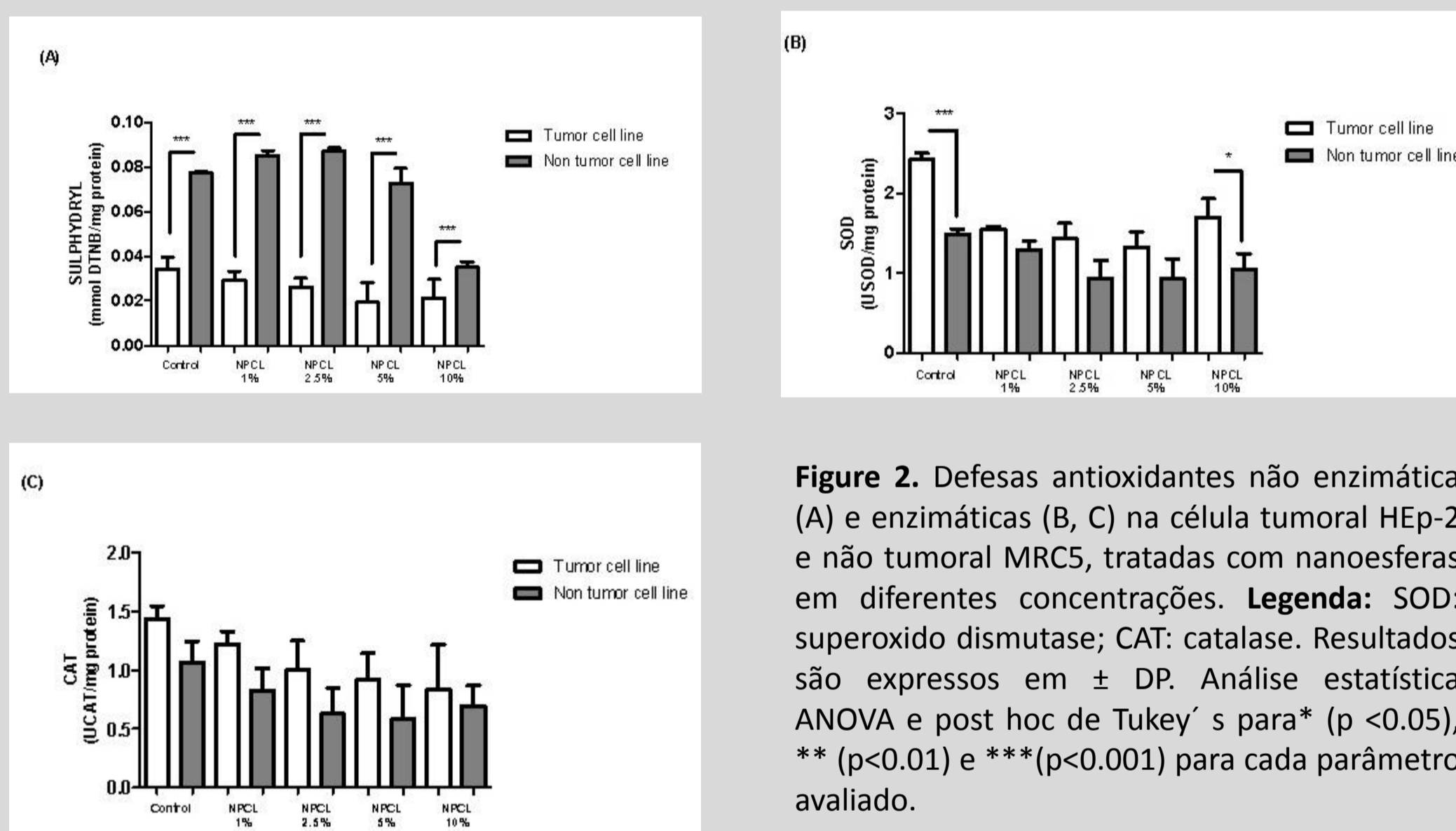


Figure 2. Defesas antioxidantes não enzimática (A) e enzimáticas (B, C) na célula tumoral HEp-2 e não tumoral MRC5, tratadas com nanoesferas em diferentes concentrações. Legenda: SOD: superóxido dismutase; CAT: catalase. Resultados são expressos em \pm DP. Análise estatística ANOVA e post hoc de Tukey's para* ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$) e *** ($p < 0,001$) para cada parâmetro avaliado.

Conclusão

Os resultados demonstram que a formulação de nanoesferas *per se* é capaz de induzir danos oxidativos, além de interferir na modulação redox de células tumorais e não tumorais, em concentrações superiores à 2,5%. Nossos dados também indicam que dependendo do tipo celular este tratamento pode ter maior ou menor citotoxicidade. Estes resultados podem contribuir para o maior entendimento dos mecanismos de resposta celular ao tratamento com nanoesferas.

Referências

- Bannister J, Calabrese L. Assays for superoxide dismutase. Methods Biochem Anal 1987; 32:279-312.
- Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzym 1984; 105:121-126.
- Wills, E. D. Tbars: Mechanism of lipid peroxide formation in animal tissues. Biochem. J, 99 (5) 667-676, 1966
- Levine, R et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins assay and repair of biological damage. Methods in Enzymology. V. 136, 1990.
- Aksenov, N.Y. & Markesbery, W.R. Changes in Thiol Content and Expression of Glutathione Redox in the Hippocampus and Cerebellum in Alzheimer Disease.

Agradecimentos

