



Voltar

Avaliação do efeito genotóxico da combinação entre radiação gama (^{60}Co) e um inibidor do óxido nítrico sintase (aminoguanidina) em culturas de linhagem tumoral humana (MCF7).

**Ivette Zegarra Ocampo e Daniel Perez Vieira
Instituto de Pesquisas Energia e Nucleares - IPEN**

INTRODUÇÃO

O óxido nítrico (NO) é um radical livre presente no meio intracelular, cuja presença ou ausência regula uma variedade de respostas fisiológicas importantes incluindo vasodilatação, respiração, migração celular, resposta imune e apoptose [1]. É difícil identificar o papel específico do NO na carcinogênese, pois é dependente da sua concentração e interação com outros radicais livres, íons metálicos e proteínas, o tipo celular e a base genética. O NO pode ainda tanto causar danos ao DNA quanto proteger da citotoxicidade, inibir e estimular a proliferação celular e pode ser tanto pró quanto anti-apoptótico [2]. Foi realizada a inibição da produção de NO em células de tumor mamário humano (MCF7) na tentativa de alterar o equilíbrio que existe entre a quantidade de NO produzido e os rumos metabólicos possíveis a estas células.

METODOLOGIA

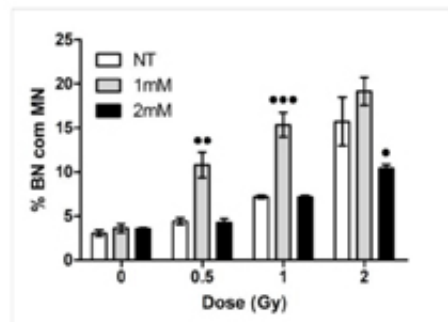
O ensaio do micronucleo foi realizado em células tumorais de mama semeadas na densidade 6×10^5 células/mL em lâminas colocadas em placas de Petri. As células aderentes foram mantidas com meio RPMI 1640, suplementado com soro fetal bovino a 10%, 1% antibióticos e incubados a 37°C , na presença de 5% CO_2 por 72h. As células foram pré-tratadas com 1mM e 2mM de aminoguanidina, um inibidor da óxido nítrico sintase, durante 24 horas antes da irradiações. Após irradiações a 0, 0.5, 1, 2Gy, foi adicionado meio de cultura contendo $2\mu\text{g/mL}$ de citocalasina B por 72 h. Depois do tempo de incubação, as lâminas com as células aderentes foram fixadas com paraformaldeído (4%), secas ao ar e logo coradas com laranja de acridina ($100\mu\text{g/mL}$) e examinadas com um microscópio de fluorescência. A fluorescência do corante

metabólitos possíveis a estas células, avaliando as frequências de micronúcleos (dano genotóxico) de MCF7 cultivadas *in vitro*, tratadas ou não com um inibidor (aminoguanidina) da expressão gênica da enzima óxido nítrico sintase indutível (NOS2) [3] e irradiadas a 0, 0,5, 1 e 2Gy, reproduzindo situações de doses radioterápicas.

OBJETIVO

Avaliar o potencial radiomodificador da inibição do óxido nítrico em células de tumor mamário humano (MCF7) verificando possíveis ações da aminoguanidina em mecanismos de genotoxicidade.

significante em relação aos controles não tratados, quando irradiadas nas doses de 0,5 e 1Gy. Culturas tratadas com 2mM e irradiadas na dose de 2Gy, apresentaram diferença significativa de redução em relação aos controles não tratados.



fluorescência. A fluorescência do corante permitiu rápida identificação entre os núcleos (verde claro), micronúcleo (verde) e citoplasma (vermelho).

RESULTADOS

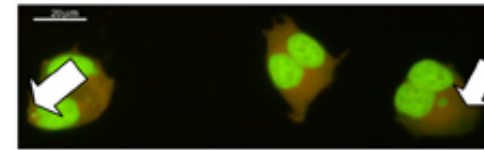


Figura 1. Visualização de células MCF7 cultivadas em lâminas histológicas e coradas com laranja de acridina. Setas indicam micronúcleos presentes nas células binucleadas apresentadas.

Na figura 2. As culturas tratadas com 1mM de aminoguanidina apresentaram aumento

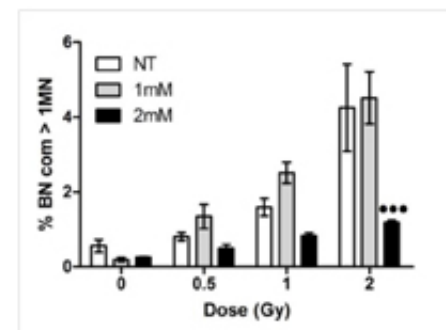


Figura 4. Porcentagem de células binucleadas com apenas um micronúcleo (MN) em culturas de MCF7, não-tratadas (NT) e tratadas com 1mM e 2mM de aminoguanidina e irradiadas com doses 0.5, 1, 2 Gy. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Figura 2. Porcentagem de células binucleadas com micronúcleo (MN) em culturas de MCF7, não-tratadas (NT) e tratadas com 1mM e 2mM de aminoguanidina e irradiadas com doses 0, 0.5, 1, 2 Gy. • p<0,05, •• p<0,01, ••• p<0,001.

Na figura 3, culturas tratadas com 1mM mostraram diferença significativa de aumento de micronúcleos nas doses de 0.5, 1 e 2Gy.

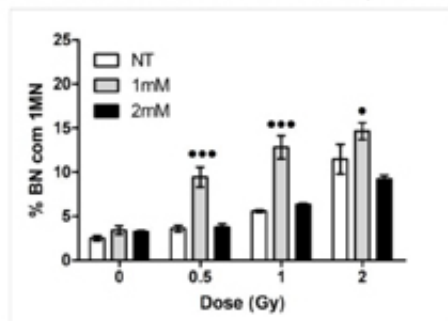


Figura 3. Porcentagem de células binucleadas com apenas um micronúcleo (MN) em culturas de MCF7, não-tratadas (NT) e tratadas com 1mM e 2mM de aminoguanidina e irradiadas com doses 0.5, 1, 2 Gy. • p<0,05, •• p<0,01, ••• p<0,001

A figura 4. mostra redução significativa de porcentagem de células binucleadas com mais de um micronúcleo em culturas tratadas com 2 mM nas doses de 2Gy.

CONCLUSÕES

As culturas tratadas com 1mM de aminoguanidina apresentaram maior radiosensibilidade em relação aos controles e as tratadas. O tratamento com 2mM do mesmo inibidor mostraram radioresistência comparadas às culturas não-tratadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Muntané J. and la Mata M.D., (2010), Nitric oxide and cancer. *World J Hepatol.* 27;2(9):337-44.
- [2] Wang Y, Chen C, Loake GJ, Chu C. Nitric oxide: promoter or suppressor of programmed cell death? *Protein Cell.* 2010 Feb;1(2):133-42
- [3] Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J.* 2001 Aug 1;357 (Pt 3) : 593-615.

APOIO FINANCEIRO AO PROJETO

Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica CNPq (152234/2012-8).