

ATIVIDADE CITOTÓXICA DE AMIDAS GRAXAS SINTÉTICAS EM LINHAGENS LEUCÊMICAS E DE MELANOMA

Renata Ottes Vasconcelos; Beatriz Spotorno Domingues; Cíntia Duarte Mirco; Ana Paula de Souza Votto; Daza de Moraes Vaz Batista Filgueira; Marcelo Montes D'Oca; Gilma Santos Trindade

Introdução

Amidas graxas endógenas possuem diversas atividades biológicas, sendo consideradas importantes para o conhecimento de vários processos celulares e até mesmo para o desenvolvimento de novos medicamentos (Aloe e cols, 1993). São moléculas nitrogenadas formadas a partir de longas cadeias saturadas ou insaturadas de ácidos graxos (Bezuglov e cols, 1998) encontradas em microorganismos, plantas e animais e recentemente descritas como uma família de lipídios biologicamente ativos (Bezuglov e cols, 2001; Cravatt e cols, 1995).

Considerando a importância da síntese de moléculas sintéticas com possíveis atividades biológicas, tornou-se pertinente avaliar o possível efeito citotóxico de amidas graxas derivadas de fontes renováveis nas linhagens eritroleucêmica humana K562 e de melanoma B16F10.

Metodologia

As células K562 foram mantidas em meio RPMI-1640, β -mercaptoethanol, 10% de soro fetal bovino, 1% de antibiótico e antimicótico, em garrafas de cultura a 37°C. As células B16F10 foram mantidas em meio DMEM, suplementadas como a K562, com exceção do β -mercaptoethanol.

Para cada experimento, K562 e B16F10 foram centrifugadas, lavadas com PBS e suspensas em meio sem β -mercaptoethanol para a concentração final de 5×10^5 células/ml.

As células foram tratadas em meio com diferentes concentrações (10, 100 e 1000 $\mu\text{g/ml}$) das amidas graxas estearil pirrolidil amida (EPA), ricinoleil pirrolidil amida (RPA), palmitoil pirrolidil amida (PPA) e oleil pirrolidil amida (OPA) para K562, e ricinoleilbenzilamida (RIBA) e oleilbenzilamida (OBA) para B16F10. No grupo controle, o mesmo volume de álcool (5%) e água estéril.

A viabilidade celular foi avaliada pela técnica de exclusão por azul de Trypan para K562 e pelo ensaio MTT para B16F10, imediatamente, 24, 48 e 72 h após incubação.

Cada experimento foi repetido em três independentes ocasiões usando trélicas das amostras. Dados apresentados como médias + erro padrão, analisados utilizando ANOVA, pós-teste de Tukey. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Resultados e Discussão

Para K562 a concentração de 1000 µg/ml de EPA foi citotóxica em 24 h e a de 100 µg/ml inibiu proliferação em 72 h. Para amidas graxas endógenas, atividades de inibição de proliferação em células tumorais foram descritas por Bisogno e cols (1998) e De Petrocellis e cols (1998). Para RPA e PPA, a de 1000 µg/ml foi citotóxica imediatamente, já a de 100 µg/ml, em 48 h, para PPA e, em 72 h, para RPA. Para OPA, a de 1000 µg/ml foi citotóxica em 24 h e em 48 h para a de 100 µg/ml.

Para B16F10 a concentração de 1000 µg/ml foi citotóxica em 48 e 72 h para RIBA. OBA apresentou morte celular em 48 e 72 h para a concentração de 1000 µg/ml, apresentando citotoxicidade com 100 µg/ml em 48 h.

Para K562 e B16F10 a menor dose não apresentou diferença significativa com relação ao controle para as amidas testadas.

Conclusões

As amidas graxas testadas apresentaram efeito citotóxico de maneira dose-dependente para K562, sendo que a amida EPA inibiu proliferação celular.

RIBA e OBA apresentaram efeitos citotóxicos significativos na B16F10, de forma dose/dependente.

Estes resultados demonstram que amidas graxas sintéticas são capazes de provocar citotoxicidade em ambas as linhagens.

Referências Bibliográficas

ALOE, L.; LEON, A.; LEVI-MONTALCINI, R. A proposed autacoid mechanism controlling mastocyte behaviour. **Agents Action** 39: 145-147, 1993.

BEZUGLOV, V.V.; BOBROV, M.Y.; ARCHAKOV, A.V. Bioactive amides of fatty acids. **Biochemistry – Moscow** 63: 22-30, 1998.

BEZUGLOV, V.; BOBROV, M.; GRETSKAYA, N.; GONCHAR, A.; ZINCHENKO, G.; MELCK, D.; BISOGNO, T.; Di MARZO, V.; KUKLEV, D.; ROSSI, J.; VIDAL, J.; DURAND, T. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters** 11: 447-449, 2001.

BISOGNO, T.; KATAYAMA, K.; MELCK, D.; UEDA, N.; De PETROCELLIS, L.; YAMAMOTO, S.; Di MARZO, V. Biosynthesis and degradation of bioactive fatty acid amides in human breast cancer and rat pheochromocytoma cells: Implications for cell proliferation and differentiation. **European Journal of Biochemistry** 254, 634-642, 1998.

CRAVATT, B.F.; PROSPERO-GARCIA, O.; SUIZDAK, G.; GILULA, N.B.; HENRIKSEN, S.J.; BOGER, D.L.; LERNER, R.A. Chemical characterization of a family of brain lipids that induce sleep. **Science** 268: 1506-1509, 1995.

De PETROCELLIS, L.; MELCK, D.; PALMISANO, A.; BISOGNO, T.; LAEZZA, C.; BIFULCO, M.; Di MARZO, V. The endogenous cannabinoid anandamide inhibits human breast cancer cell proliferation. **Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)** 95: 8375-8380, 1998.