

# AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DO CIS-TETRAAMINOXALATORUTÊNIO(III) SOBRE SARCOMA-180 EM CAMUNDONGOS SWISS

BARBOSA, Carlos Eduardo Silva\*; SILVEIRA-LACERDA, Elisângela de Paula  
Universidade Federal de Goiás, pós-graduação em Biologia.

\*E-mail: filosofarma@hotmail.com

Palavras-chave: Câncer. Quimioterapia. Rutênio.

## INTRODUÇÃO

Os compostos de Rutênio (Ru) são sais metálicos cujo mecanismo de ação parece estar relacionada à sua estrutura octaédrica: uma das hipóteses sugere que os compostos de Rutênio(III) servem de prodrugas que são reduzidas, *in vivo*, pelas condições citoplasmáticas das células tumorais: baixas concentrações de O<sub>2</sub>; pH baixo; e à presença de glutathiona em níveis tipicamente altos. Essas alterações no ambiente citoplasmático das células tumorais podem favorecer a conversão em Rutênio(II) a partir do Rutênio(III), intensificando ligações ao DNA, com toxicidade seletiva às células tumorais. Outra hipótese propõe que a baixa toxicidade comumente observada nos compostos de rutênio decorre da mimetização do ferro, de forma que o composto se liga prontamente à albumina e à transferrina no sangue: as células tumorais, que requerem mais nutrientes que as células normais (demanda que é satisfeita pela angiogênese) seqüestram mais transferrina circulante, que libera o grupo - neste caso, o composto de rutênio (Clarke, 2003; Silveira-Lacerda, 2003). A *Medical Marketing International* (MMI), em 28 de janeiro de 2005, divulgou em seu site que detém a patente sobre alguns aspectos da terapia com rutênio.

## MATERIAL E MÉTODOS

### cis-tetraaminoxalatorutênio(III)

O composto (fig 1) é sintetizado no Laboratório de Química Supramolecular do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia seguindo os procedimentos de Allen (1970) e Marchant (1976), modificados por Pavanin (1989).

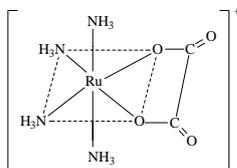


FIGURA 1: Estrutura do íon complexo cis-tetraaminoxalatorutênio(III)

### Animais Experimentais: camundongos (*Mus musculus*) Swiss Brancos.

Foram utilizados camundongos Swiss provenientes da colônia do biotério da Agência Goiana de defesa Agropecuária (Agrodefesa). Em cada gaiola foi mantido o número máximo de 5 animais alimentados com ração para roedores LABINA, e água *ad libitum*. O peso (massa) dos animais foi acompanhado.

### Sarcoma-180 e manutenção da linhagem celular

O Sarcoma 180 (S-180) ou Tumor de Crocker (ATCC-TIB66) foram provenientes do Laboratório de Imunologia da Universidade Federal de

Uberlândia/MG e mantidas segundo Sato & Wal (2002). As inoculações nos camundongos para tratamentos experimentais foram feitas com 1mL intraperitoneal (tumor ascítico) e 0,2mL subcutânea (inoculação da virilha – tumor sólido) (Menezes, 2005).

### Detecção de possível atividade protetora/preventiva do complexo de rutênio.

Os animais foram inoculados com o composto de Rutênio nos dias 1, 3 e 5, seguida de posterior inoculação do tumor (dia 7) via i.p. na dose de 30mg/Kg/animal (fracionada).

### Detecção da Atividade Antitumoral

O estudo dividiu os animais (n=5) segundo o local de inoculação do tumor: intraperitoneal (i.p.) - ascítico, e subcutânea (s.c.) – na virilha – sólido; doses: 3, 10 e 30 mg/kg/animal e (três) formas de tratamento. Tratamento A: Inoculação do tumor, via i.p ou s.c, (dia 1) seguida de posteriores inoculações sucessivas do complexo de Rutênio (dias 7, 9 e 11) via i.p. na dose de 3, 10 e 30mg/Kg/animal (fracionada). Tratamento B: Inoculação do Tumor, via i.p ou s.c, (dia 1) seguida de posteriores inoculações em dose única do complexo de Rutênio (dia 7) via i.p. na dose de 3, 10 e 30mg/Kg/animal. Tratamento C: Inoculação do Tumor, via i.p ou s.c, e do complexo de Rutênio (ambos no dia 1) via i.p. na dose de 10 e 30mg/Kg/animal.

Os animais foram marcados individualmente e pesados durante os dias de teste. No 14<sup>o</sup> dia após a inoculação do tumor os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. O grupo com tumores i.m. tiveram as massas neoplásicas retiradas e medidas para cálculo do volume. Foi feito um controle negativo inoculando-se solução fisiológica (0,9% NaCl) no mesmo volume do composto de Rutênio inoculado.

### Análise Estatística

Os valores obtidos foram representados por gráficos e analisados quanto à significância e quanto à variância (ANOVA). Foi utilizado o software GraphPad-Prism V3.02 e considerados como diferença significativa valores  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos gráficos a seguir representados, as linhas pontilhadas referem-se à inoculação do composto de Ru ou solução fisiológica (no caso dos controle negativos). As linhas verticais cheias, apontado os dias, se referem à inoculação de células tumorais.

### Detecção de possível atividade protetora/preventiva do complexo de rutênio.

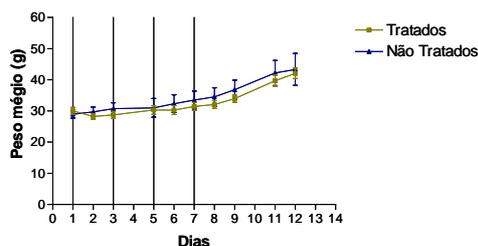


GRÁFICO 1: composto pré-tumor

Inoculações do composto de rutênio, precedendo a inoculação do tumor, para observar possível efeito protetor ou preventivo do composto (MENEZES, 2005), não mostraram diferença estatisticamente significativa do grupo controle.

## Detecção da Atividade Antitumoral

### Tumor Ascítico

Tratamento A: Inoculação do Tumor (dia 1) seguida de posteriores inoculações sucessivas do complexo Ru (dias 7, 9 e 11 – linhas segmentadas):

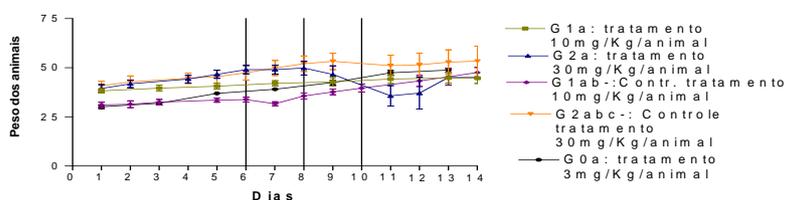


GRÁFICO 2: Tratamento A: tumor i.p

Tratamento B: Inoculação do Tumor (dia 1) seguida de posteriores inoculações em dose única do complexo Ru (dia 7) via i.p.:

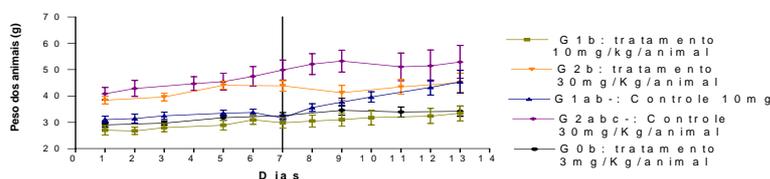


GRÁFICO 3: Tratamento B: tumor i.p

Tratamento C: Inoculação do Tumor e do complexo Ru (ambos no dia 1) via i.p.:

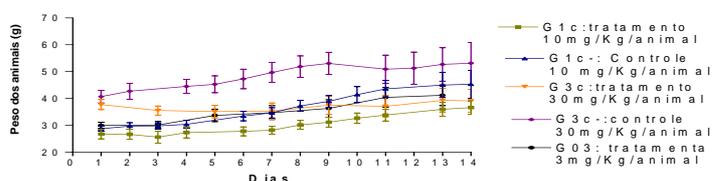


GRÁFICO 4: Tratamento C: tumor i.p

### Tumor s.c. com 30mg/Kg/animal

Tratamento A: Inoculação do Tumor (dia 1 – Linha cheia) seguida de posteriores inoculações sucessivas do complexo Ru (dias 7, 9 e 11 – linhas segmentadas):

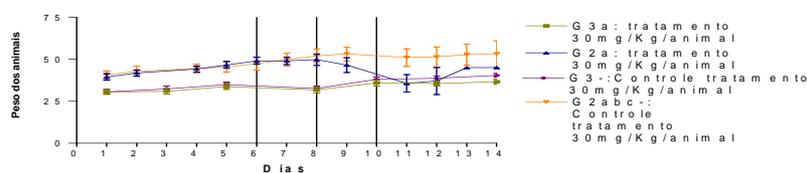


GRÁFICO 5: Tratamento A: 30mg

Tratamento B: Inoculação do Tumor (dia 1) seguida de posteriores inoculações em dose única do complexo Ru (dia 7) via i.p.:

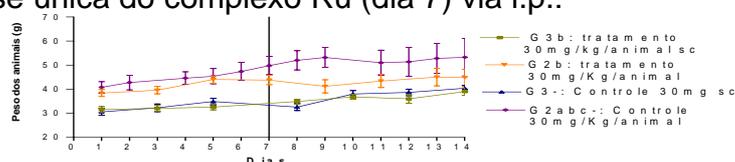


GRÁFICO 6: Tratamento B: 30mg

Tratamento C: Inoculação do Tumor e do complexo Ru (ambos no dia 1) na dose de 30mg/Kg/animal.

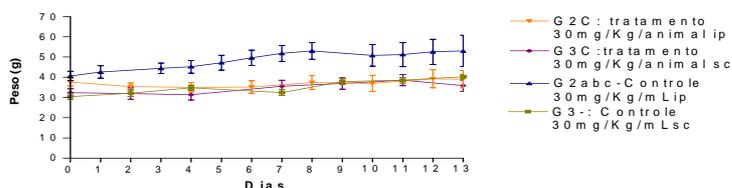


GRÁFICO 7: Tratamento C: 30mg

## Tumores sólidos

Volume médio do tumor



IV 710,96 mm<sup>3</sup>

III 808,832 mm<sup>3</sup>

I 639,58 mm<sup>3</sup>

Contr.(-) 1366,858 mm<sup>3</sup>

Avaliação do desenvolvimento de tumor sólido (s.c.)

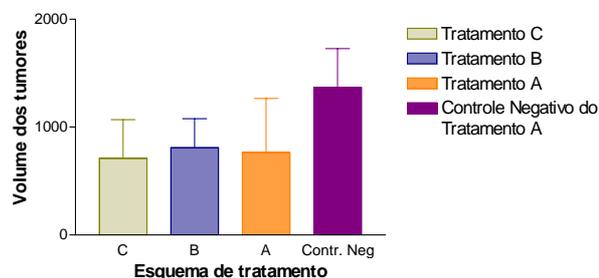


GRÁFICO 8: Comparação de G3 – tumor sólido

Avaliação do desenvolvimento de tumor sólido (s.c.) considerando-se os animais sem desenvolvimento de tumor

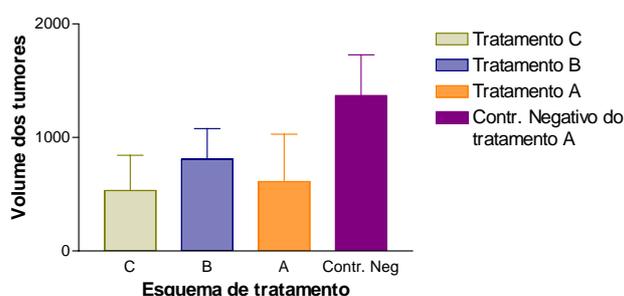


GRÁFICO 9: Comparação de G3 – tumor sólido

O não desenvolvimento do tumor observado em alguns animais, pode ser devido à efetiva ação do complexo de rutênio, ou à remissão ou não desenvolvimento natural do tumor, o que justifica a apresentação dos gráficos nas duas condições (Graf. 8 e 9).

## Metabolismo

Para verificar se o composto de rutênio estaria estimulando a redução de peso dos animais pela redução da massa tumoral ou por outros fatores: alterações metabólicas, redução do consumo de ração, foi avaliada a evolução do peso de dois grupos de camundongos (n=6) avaliados durante 7 dias (gráfico 10), revelando o mesmo padrão de peso em animais inoculados em dose única (3mg/Kg/mL) e em animais sem tratamento.

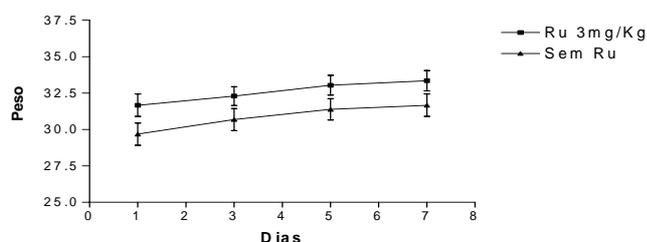


Gráfico 10 – relação ração consumida/peso

O composto de rutênio não mostrou afetar o metabolismo, dos animais, de forma que, sugere-se que os valores das pesagens dos animais reflete também o metabolismo dos mesmos.

## CONCLUSÃO

O composto de rutênio mostrou ação contra o tumor sólido, estatisticamente significativa.

Os animais inoculados com o composto de Ru sucessivamente (dia 1, 3 e 5) seguida de posterior inoculação do tumor (dia 7) via i.p. na dose de 30mg/Kg/animal (fracionada) não mostraram crescimento significativamente menor do tumor que o controle negativo, sugerindo que o composto não apresenta atividade preventiva contra desenvolvimento tumoral, ao contrario de indícios sugestivos de análises *in vitro* (dados não mostrados).

Os resultados permitem sugerir que se prossiga os estudos de fase pré-clínica do composto.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATCC – The Global Bioresource Center. **TIB-66**. Disponível em <<http://www.atcc.org/common/catalog/numSearch/numResulti.mfm?atccNum=TIB-66>>. Acesso em 30 abr. 2006.

MENEZES, Carla da Silva Rodrigues. **Análise da Atividade Antitumoral, Bactericida e Interação com o DNA do Cloreto de cis-tetraaminodiclororutênio (III)**. Dissertação de Mestrado, UFU-MG, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

PAVANIN, L. A. **Estudo das cis-Tetraaminas de rutênio(III) com ligantes heterocíclicos nitrogenados aromáticos**. Tese de Doutorado, USP-RP, Faculdade de Farmácia, São Paulo, 1989.

SATO, D; WAL, R. **Efeito dos medicamentos homeopáticos Método Canova em Camundongos Normais e portadores de tumor Sarcoma-180**. Compilação dos resultados de duas teses de mestrado, realizadas sob a orientação da Profa. Dra. Dorly de Freitas Buchi, no Laboratório de Pesquisas em Células Inflamatórias e Neoplásicas, da Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2002.