

Menz, M.L.<sup>1</sup>, Henriques, J.A.P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Reparação de DNA de Eucariotos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil;  
E-mail: milenalmenz@gmail.com

## INTRODUÇÃO

O valproato de sódio (NaValp) é um agente antipsicótico amplamente utilizado no tratamento de diferentes doenças psiquiátricas, como transtorno bipolar e esquizofrenia. Além disso, este fármaco também tem apresentado atividade antiproliferativa *in vitro* em diferentes linhagens tumorais como gliomas, neuroblastomas e leucemia. Estes importantes efeitos estão sendo relacionados à ação inibitória do NaValp sobre as enzimas histonas desacetilases (HDAC) e também à influência deste fármaco na expressão de genes relacionados ao ciclo celular e apoptose. Embora o NaValp apresente uma boa eficácia no tratamento antipsicótico, e tenha sido utilizado há mais de 30 anos, a sua alta toxicidade sistêmica acarreta em grande limitação de seu uso pelos pacientes. Assim, o desenvolvimento de fármacos derivados do NaValp que apresentem similar atividade antipsicótica e menor toxicidade em relação ao protótipo NaValp seria de grande importância para o tratamento de doenças psiquiátricas. Neste sentido, o presente trabalho buscou avaliar o potencial mutagênico de um novo composto organometálico derivado do NaValp em células de fibroblasto de pulmão de hamster chinês – linhagem V79. O presente trabalho faz parte de um projeto internacional que está sendo realizado em colaboração entre as Instituições UFRGS, Universidade de Caxias do Sul (UCS) e Université Paris-Sud.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Substâncias

O ácido valproico (NaValp) foi adquirido da Sigma-Aldrich (EUA). O organoderivado Cu(Valp)<sub>2</sub>Phen foi sintetizado pela Prof. Dr. Françoise Dumas (Université Paris-Sud, Paris, França) colaboradora deste projeto. A figura 1 apresenta as estruturas químicas de ambas as substâncias.

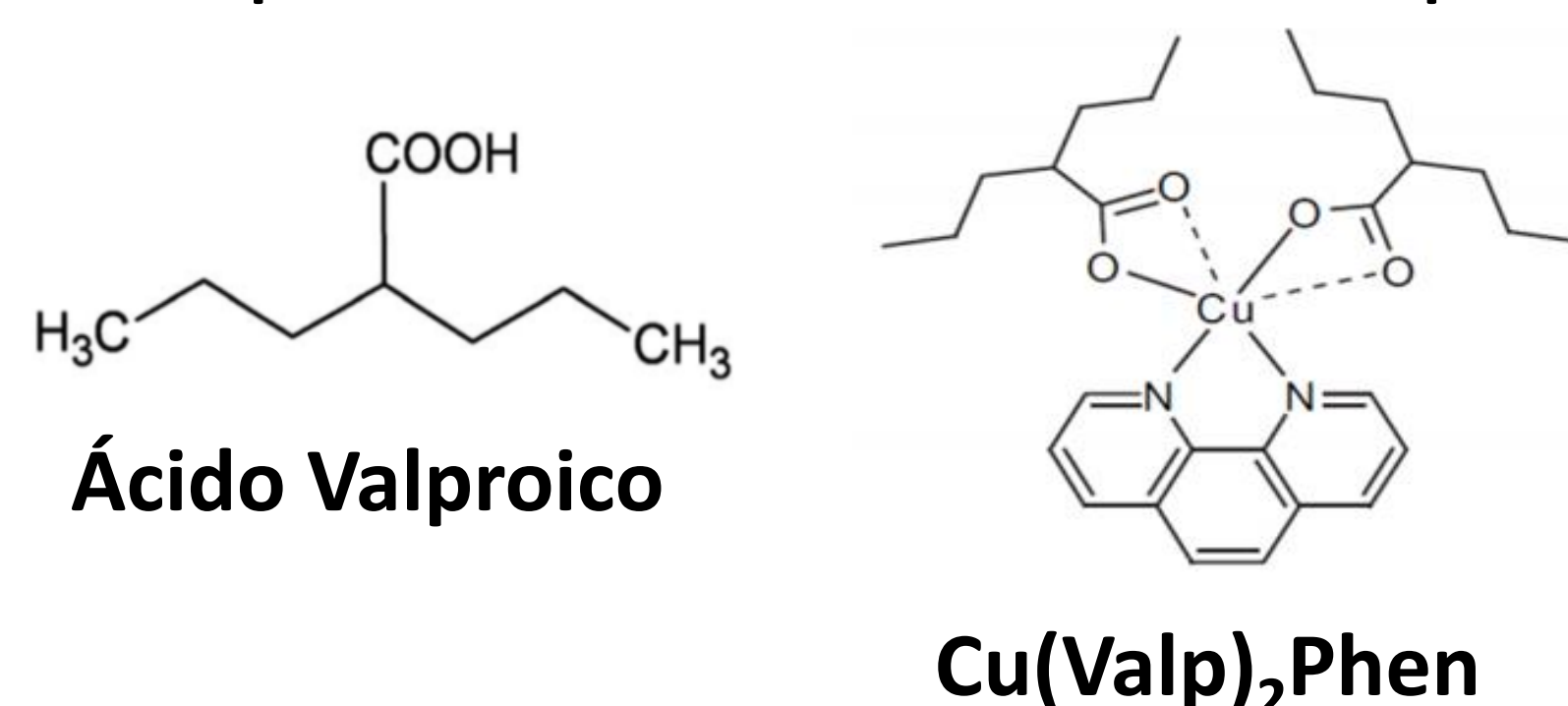


Figura 1. Estrutura química das substâncias teste utilizadas neste estudo.

### Ensaio de Micronúcleos *in vitro*

O ensaio Micronúcleos foi realizado para avaliar o potencial dos compostos em induzir mutações cromossômicas.

O micronúcleo pode ser formado a partir da perda de fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros, conforme mostrado na figura 2.

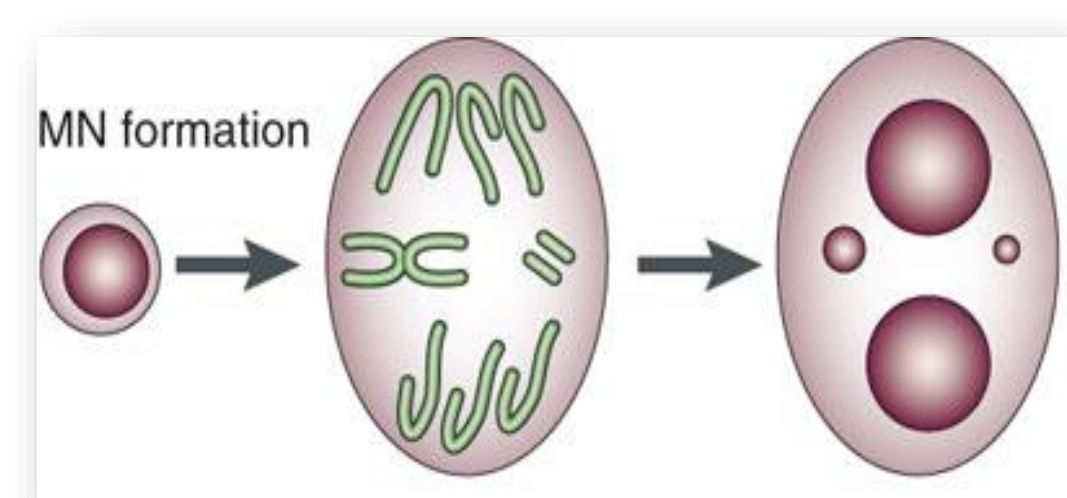


Figura 2. Mecanismos de formação de micronúcleos (adaptado de Fenech, 2007)

O ensaio Micronúcleos foi realizado segundo o protocolo estabelecido por Fenech (2007) com algumas modificações (figura 3).

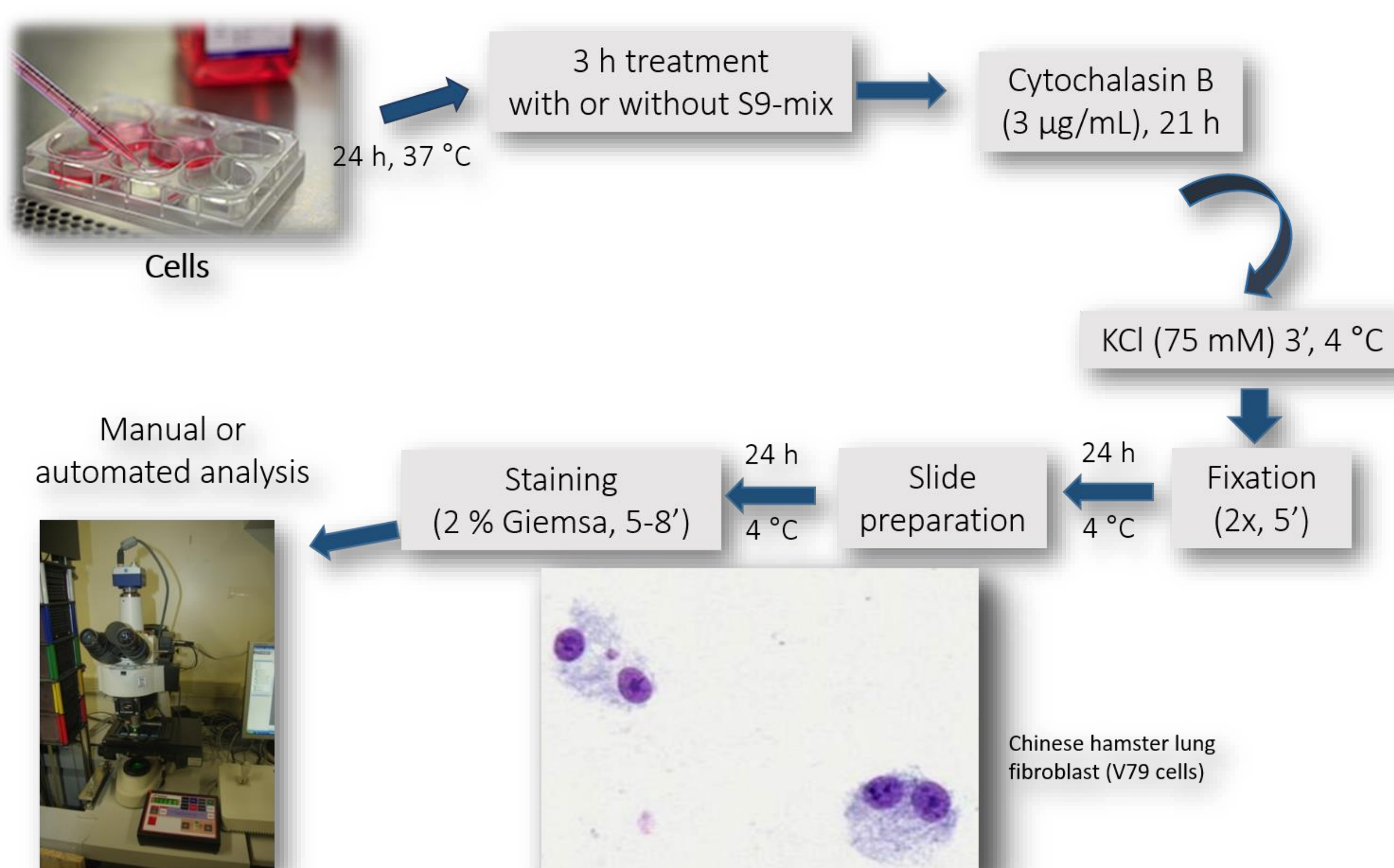


Figura 3. Etapas do Ensaio de Micronúcleos *in vitro*.

### Ensaio de Micronúcleos *in vitro* (continuação)

Como ilustrado na figura 3, basicamente as células V79 (fibroblasto de pulmão de hamster chinês) foram expostas a diferentes concentrações de NaValp (400 - 1600 µM), Cu(Valp)<sub>2</sub>Phen (1,25 - 5 µM) e controles negativo (DMEM 100 % e EtOH 0,35%) e positivo (MMS 40 µM) durante 3 horas. Após a exposição, as células foram incubadas com citocalasina B (3 µg/mL, 21 h) e então processadas para a preparação das lâminas. As concentrações das substâncias teste foram definidas com base na solubilidade e também em experimentos prévios de viabilidade, onde as concentrações máximas não ultrapassaram 55 ± 5 % de citotoxicidade.

As células foram analisadas quanto à viabilidade pela análise do índice de replicação (em 1000 células/cultura) e também quanto à frequência de micronúcleos pela contagem de células binucleadas contendo micronúcleos (em 2000 células binucleadas por cultura).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados preliminares obtidos até o momento mostraram que o fármaco protótipo NaValp não foi capaz de induzir aumento na frequência de micronúcleos (dados não mostrados). No entanto, o derivado Cu(Valp)<sub>2</sub>Phen na menor concentração testada mostrou uma tendência de aumento nos níveis de células binucleadas com micronúcleos (BNm) em relação ao controle negativo (figura 4). No entanto, experimentos adicionais deverão ser realizados para a comprovação destes efeitos.

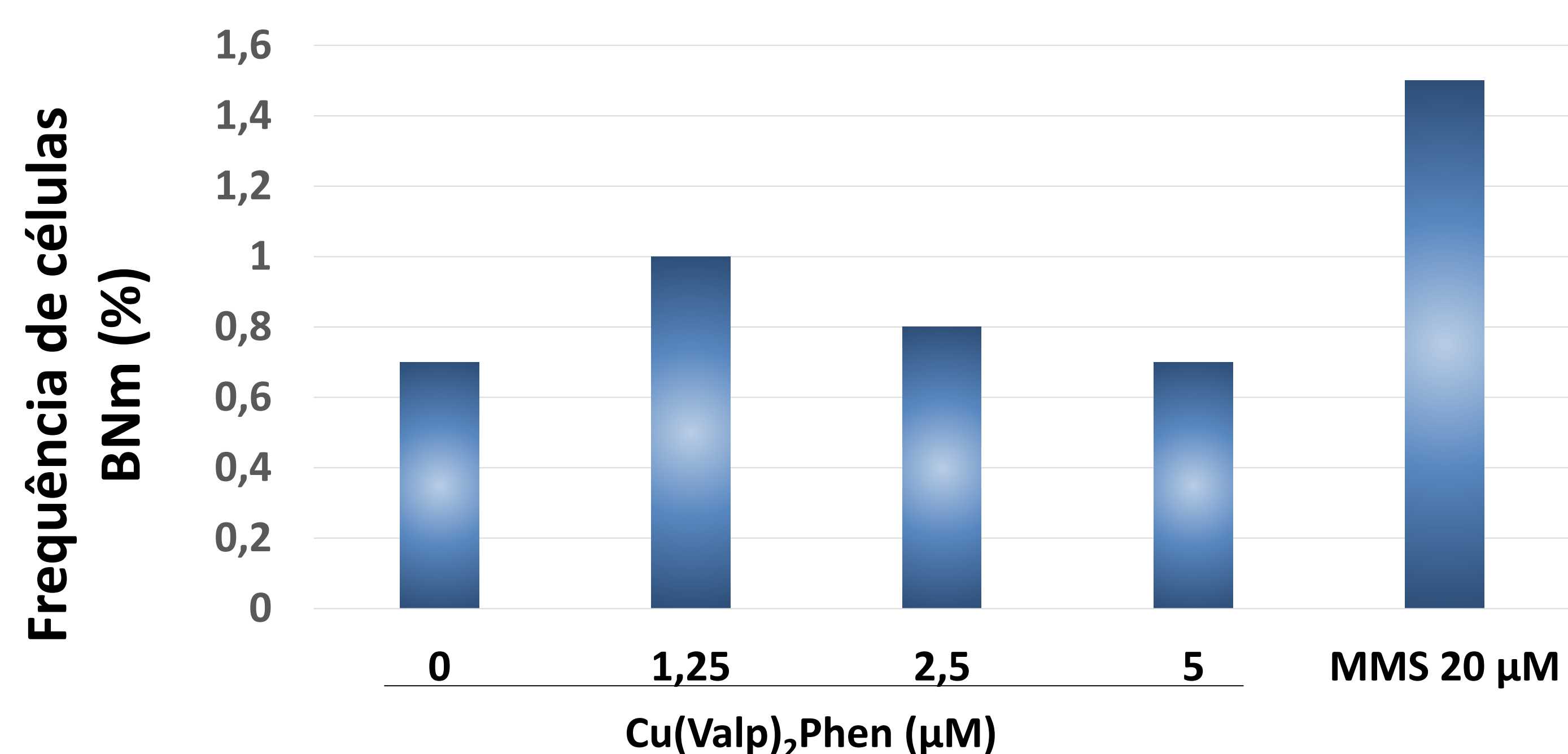


Figura 4. Resultados preliminares do Ensaio de Micronúcleos *in vitro*.