

**Resumo para o simpósio “Mitocôndria e Morte Celular” coordenado pelo Dr. Anibal Vercesi (Unicamp) e se realizará durante a 60 Reunião Anual da SBPC em Campinas no período de 13 a 18 de julho de 2008.**

**Tema Central da 60 Reunião da SBPC:  
Energia – Ambiente – Tecnologia.**

**Inibição Diferencial das Vias Produtoras de Energia em Células do Hepatocarcinoma Humano HepG2 pelo 3-Bromopiruvato<sup>¶</sup>**

**Ana Paula Pereira da Silva<sup>a,b</sup>, Tatiana El-Bacha<sup>b</sup>, Nattascha Kyaw<sup>a</sup>, Reinaldo Sousa dos Santos<sup>a</sup>, Wagner Seixas da-Silva<sup>a</sup>, Andrea T. Da Poian<sup>b</sup> and Antonio Galina<sup>a#</sup>**

<sup>a</sup>Laboratório de Bioenergética e Fisiologia Mitocondrial, Programa de Bioquímica e Biofísica Celular, Instituto de Bioquímica Médica - IBqM, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Av. Brigadeiro Trompowsky, s/n, - CCS, Bl. D, ss13, 21941-590, RJ-Brasil. <sup>b</sup>Laboratório de Bioquímica de Vírus, Instituto de Bioquímica Médica - IBqM, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ-Brasil.

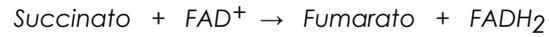
# Correspondência para Antonio Galina: e-mail: [galina@bioqmed.ufrj.br](mailto:galina@bioqmed.ufrj.br)

### **Resumo**

3-Bromopiruvato (3-BrPA) é um agente alquilante de grupos hidroxilas (-OH) e tióis (-SH) de proteínas com uma potente atividade anti-tumoral em carcinomas hepatocelulares. Este composto inibe a produção celular de ATP devido a sua ação depressora do fluxo glicolítico e da fosforilação oxidativa. Recentemente, existem pesquisas em estágio pré-clínico objetivando seu uso terapêutico dadas as potenciais vantagens desta droga no aspecto de morte celular específica e de baixíssima resistência destes tumores comparadas a outros quimioterápicos com o mesmo alvo. Entretanto, as etapas metabólicas específicas e os mecanismos de ação do 3-BrPA em linhagens de carcinomas humanos hepatocelulares, particularmente nos seus efeitos sobre a energética mitocondrial, são ainda desconhecidos. Um dos mecanismos mais considerados no efeito letal da droga sobre o tumor se daria pela inibição da primeira etapa do metabolismo da glicose ao nível da reação catalisada pela enzima hexocinase associada à mitocôndria (mt-HK):



Neste estudo, nós observamos que a incubação das células HepG2 com doses relativamente baixas de 3-BrPA em curtos períodos de tempo (150  $\mu\text{M}$  por 30 minutos) significativamente inibiram tanto a formação de lactato como a função respiratória mitocondrial das células HepG2. Interessantemente, o 3-BrPA foi também capaz de impedir a produção de lactato pelas células HepG2 em um meio livre de glicose, sugerindo que a droga pode atuar em outras etapas da glicólise sem envolver a mt-HK. O consumo de oxigênio das células HepG2 permeabilizadas com digitonina sustentado tanto por substratos ligados à redução de  $\text{NAD}^+$  (piruvato/malato), como de redução de  $\text{FAD}^+$  (succinato) foram inibidas quando as células HepG2 foram pré-incubadas com 3-BrPA por 30 minutos em um meio de cultura livre de glicose. Quando este mesmo tratamento foi realizado em células HepG2 pré-incubadas em meio de cultura contendo glicose, a respiração das células HepG2 permeabilizadas foi bloqueada somente ao nível da oxidação de succinato e não mais ao nível da oxidação de piruvato/malato. Um achado intrigante foi que a respiração independente da presença de oligomicina foi aumentada em, pelo menos, duas vezes em células HepG2 tratadas com 3-BrPA em meio contendo glicose, mas este efeito não foi observado em meio livre de glicose. Estes resultados indicam que 3-BrPA pode levar a indução de um aumento da permeabilidade da membrana interna mitocondrial, aumentando o vazamento de prótons, além do bloqueio no sistema de transporte de elétrons. Ao contrário da inibição proposta do 3-BrPA sobre a atividade mt-HK, em células HepG2 não foi observada uma inibição significativa por 150  $\mu\text{M}$  de 3-BrPA desta atividade. Entretanto, esta mesma concentração de 3-BrPA causou uma inibição de mais de 70% na reação catalisada pela succinato desidrogenase (SDH) *in vitro*:



Estes achados sugerem que a ação combinada do 3-BrPA sobre a atividade da SDH, bem como a inibição da glicólise em uma etapa posterior a da fosforilação da glicose desempenham um papel importante no mecanismo de morte celular das células HepG2. Um modelo de ação da droga em tumores é proposto.

Este trabalho teve o suporte de auxílios financeiros do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ). ¶Este trabalho é dedicado ao Professor Leopoldo de Meis em comemoração ao seu aniversário de 70 anos.