

Receptor P2X7 como ferramenta na permeabilidade de fármacos carregados

Guilherme Pegas Teixeira^{1,2*}, Robson Xavier Faria¹

¹Laboratório de Avaliação e Promoção da Saúde Ambiental, Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Avenida Brasil 4365, CEP, Rio de Janeiro Fiocruz 21040-900, Brasil

*E-mail: Guilherme Pegas Teixeira – gpegas67@gmail.com

Introdução: O receptor P2X7 é um canal iônico pertencente ao sistema purinérgico. Tem como seu principal ativador o ATP extracelular e está envolvido em diversos processos do organismo, tais como inflamação. Em decorrência de altos níveis de ATP extracelular, o receptor P2X7 é capaz de induzir a formação de um poro de alta condutância na membrana plasmática. Este poro desencadeia um aumento na permeabilidade da membrana para moléculas de até 900 Da para o meio intracelular, característica marcante deste receptor. Muitas moléculas não permeiam espontaneamente a membrana devido a sua carga e tamanho molecular, como por exemplo alguns corantes fluorescentes. Estudos comprovaram que além do peso molecular, este poro é permeável a moléculas de diferentes cargas (+/-) em sua estrutura. Adicionalmente, alguns fármacos partilham destas características, vindo a ter sua ação diminuída no que concerne atravessar espontaneamente a membrana plasmática. Temos como exemplo a droga anticâncer, doxorrubicina.

Objetivo: Avaliar a permeabilidade do fármaco doxorrubicina mediante a influência do poro associado ao receptor P2X7.

Método: Utilizamos o ensaio de avaliação de viabilidade por liberação de LDH. Para avaliação funcional do receptor P2X7 e subsequente identificação e quantificação da doxorrubicina no citoplasma, utilizamos um leitor de placas com filtros para fluorescência. Realizamos uma curva de fluorescência da doxorrubicina sozinha, na presença do Triton X-100 e na presença do ATP.

Resultados: A doxorubicina obteve um valor de concentração citotóxica que afeta 50% da população dos macrófagos peritoneais de camundongos (CC_{50}) de $59 \pm 8 \mu\text{M}$ após 24 h de tratamento. A maior concentração testada da doxorubicina não teve efeito tóxico após 1 h de tratamento. Realizamos uma curva de calibração da fluorescência emitida pela doxorubicina no citoplasma celular. Para tal, tratamos os macrófagos com o detergente Triton X-100 (0.5%) por 2 minutos na presença de concentrações crescentes da doxorubicina. Em seguida, realizamos um ensaio funcional do receptor P2X7. Adicionamos o ATP por 20 minutos nos macrófagos, na presença do corante fluorescente de 639 Da, o iodeto de propídeo. Assim, asseguramos que nosso modelo estava funcionando adequadamente. Posteriormente, tratamos as células com ATP na presença de diferentes concentrações da doxorubicina. Observamos um aumento dose-dependente da quantidade intracelular da doxorubicina.

Conclusões: Nossos dados mostram que através da estimulação do poro associado ao P2X7, os níveis de doxorubicina intracelular foram aumentados. Desta forma, o receptor P2X7 pode ser promissor no auxílio de drogas carregadas, reduzindo a quantidade administrada e melhorando seu efeito ao organismo.

Palavras-chave: Poro associado ao P2X7, doxorubicina, permeabilidade de membrana.

Financiadores: CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FAPERJ (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro).