

Introdução

O melanoma cutâneo é, atualmente, o tumor que mais cresce em incidência no mundo. Existem evidências de que a **sinalização purinérgica** pode ter **efeitos** sobre o **crescimento, proliferação celular e desenvolvimento de tumores** em diferentes tecidos, inclusive no melanoma cutâneo. As **enzimas degradadoras** dos nucleotídeos também possuem relação, como a **ecto-5' nucleotidase (CD73)**, encontrada em melanoma metastático avançado, que pode estar correlacionada com um **pior prognóstico** da doença.

Metodologia

As linhagens de melanomas, **SK-Mel-103** (mais agressivo), **Sk-Mel-19** (menos agressivo) e **melanócitos** foram cultivados até a confluência e incubados na presença dos nucleotídeos ATP, ADP ou AMP para a determinação das atividades enzimáticas na superfície das mesmas, a qual é realizada baseada no método de Chan (1976), utilizando-se o reagente verde de malaquita. A dosagem de proteínas, realizada pelo método do Comassie blue usando-se como padrão albumina bovina sérica, serve para a obtenção da atividade específica.

Conclusão



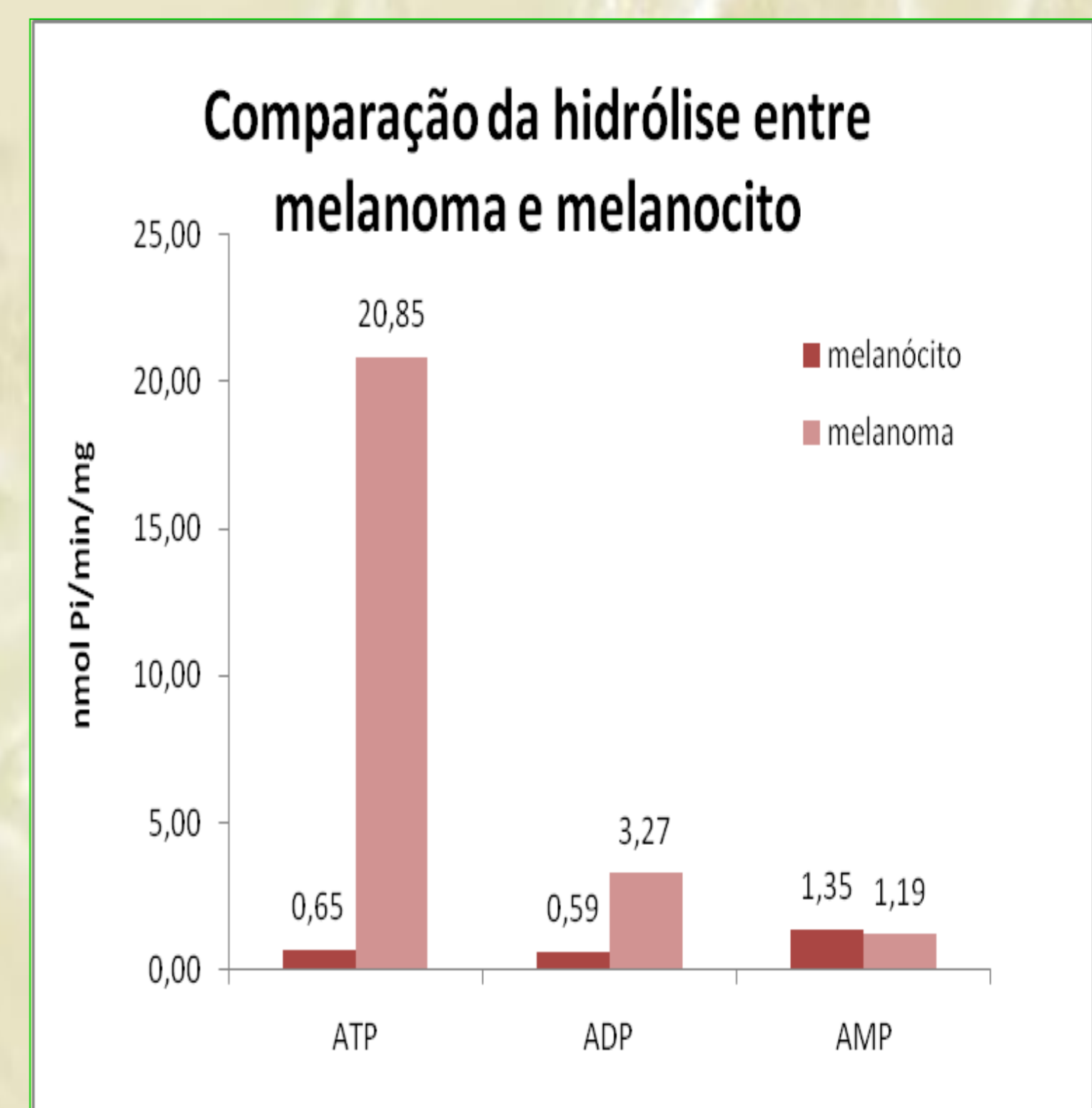
Graf.1 – Curva de tempo SK-Mel_103

A atividade do melanócito foi padronizada no tempo de 30 minutos com concentrações de 1,0 e 2,0 mM para ATP, ADP e AMP. Os valores obtidos nestas atividades para ATP, ADP e AMP estão demonstrados na tabela 2.

Concentração	ATP	ADP	AMP
1 mM	0,89	1,15	2,07
2 mM	0,41	0,04	0,64

Tab.2 – Atividade melanócitos

A comparação entre a atividade dos melanócitos e melanomas, gráfico 2, mostrou que os melanomas hidrolisam o ATP e o ADP mais rápido que os melanócitos, e que essa maior capacidade de degradação possa estar relacionada com a malignidade do tumor.



Graf.2 – Comparação SK-MEL-103 e melanócito.

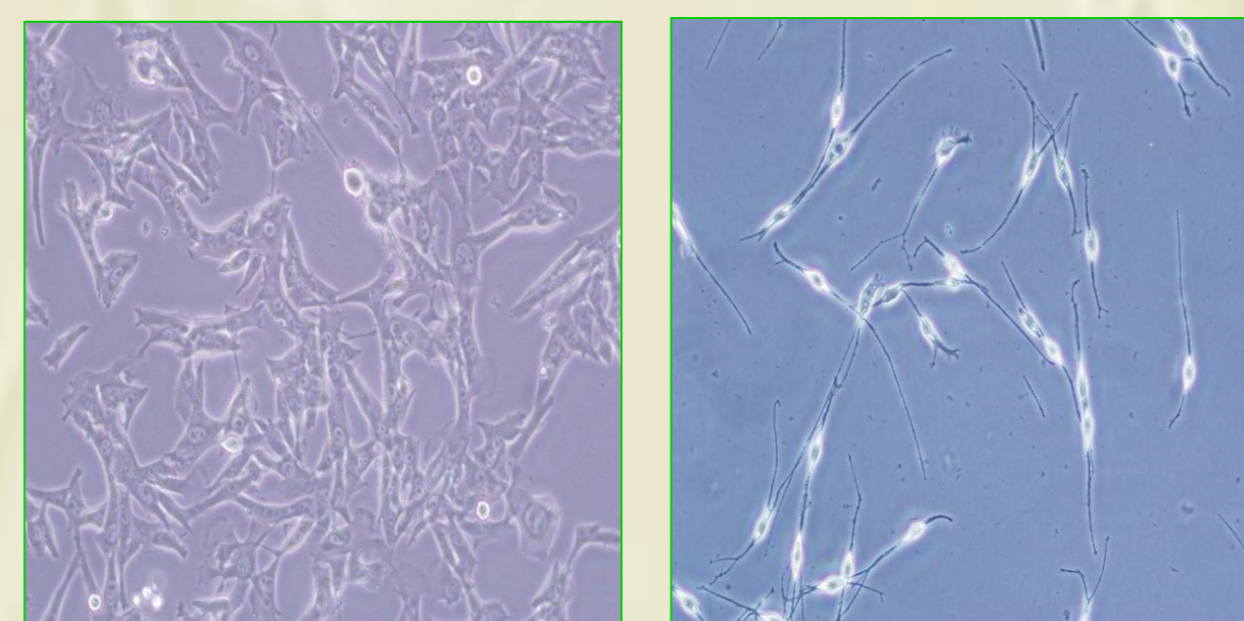


Fig.3 – SK-MEL-103 Fig.4 – Melanócitos

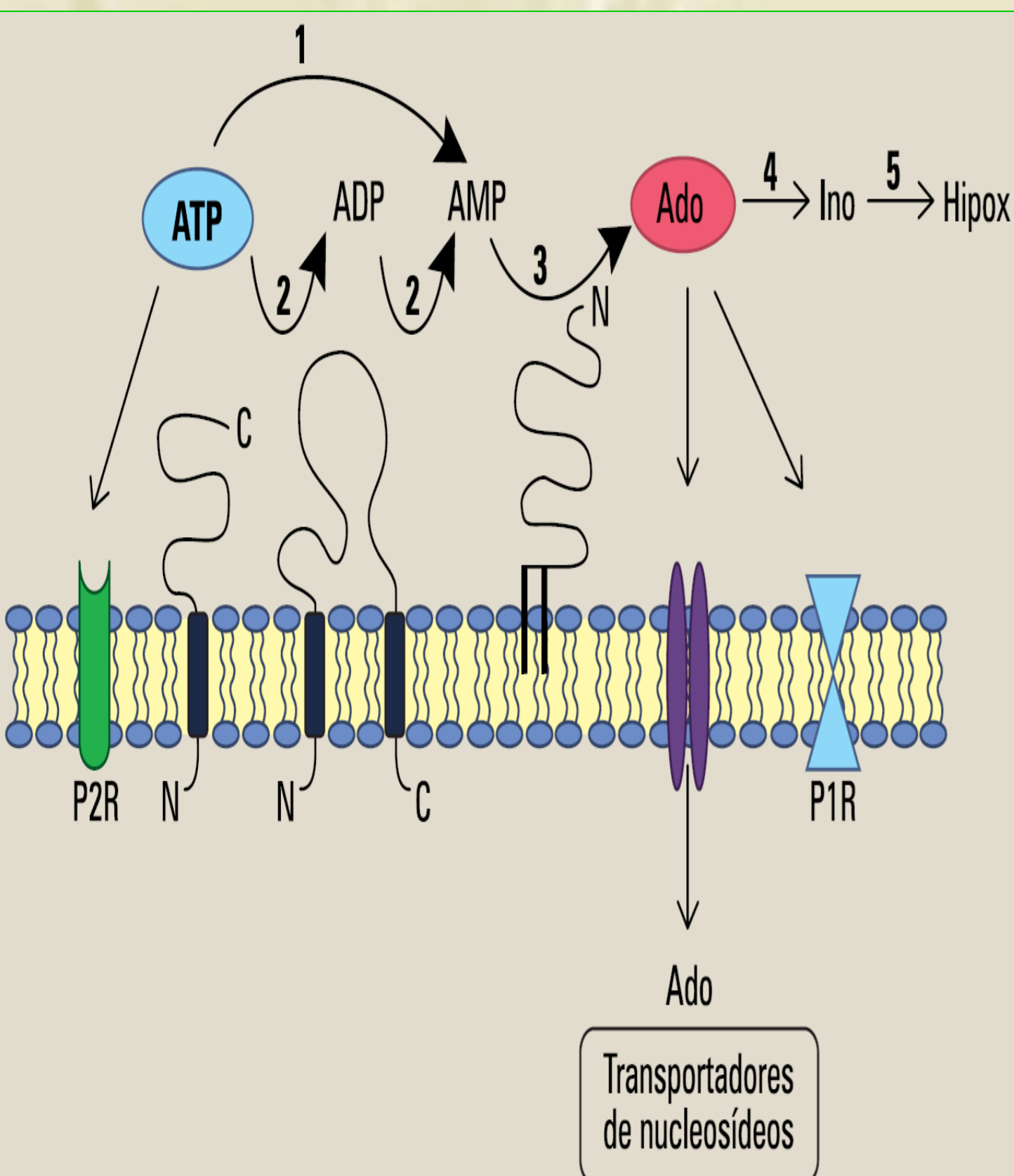
Resultados

Foram realizados curvas de tempo e de concentração dos substratos, para a linhagem SK-Mel-103, assegurando a linearidade da reação. Os valores obtidos para a curva de tempo para o ATP, ADP e AMP estão demonstrados na tabela 1 e no gráfico 1.

Tempo min	ATP	ADP	AMP
10	160,03	259,45	14,327
15	130,60	258,57	17,639
20	330,30	127,19	25,291
30	506,10	194,77	27,204

Tab.1 – Dados da curva de tempo (nmol/Pi/min/mg)

Estes dados demonstram que há atividade das ectonucleotidases na superfície celular. A curva de substrato demonstrou sendo 2,0mM a melhor concentração para o ATP e 1,0mM para o ADP em um tempo de 10min, representando assim, a saturação pela enzima; e para o substrato AMP, estabeleceu-se o tempo de 20 minutos com uma concentração de 1mM.



(Retirado de Battastini et al., Cienc.Cult., 6, 2011)

Fig.1 – Sistema purinérgico

Objetivo

Avaliar a atividade enzimática de degradação de nucleotídeos extracelulares na superfície da linhagem de melanoma SK-MEL-103 (fenótipo agressivo) em comparação com os melanócitos.