



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Análise de novos compostos no tratamento de células de câncer gástrico humano: avaliação dos efeitos em células-tronco tumorais e no ciclo celular
Autor	DIEGO BERTOLINI
Orientador	DIEGO BONATTO

O câncer gástrico é o terceiro tipo de tumor com maior incidência no Brasil e a segunda causa de morte por câncer no mundo. O tratamento clínico convencional para essa doença envolve cirurgia, quimioterapia e radioterapia. A quimiorresistência prevalece como o maior desafio no tratamento de câncer gástrico e estudos já demonstraram que células-tronco tumorais possivelmente são as responsáveis pela resistência a diferentes quimioterápicos. Células-tronco tumorais são células capazes de gerar tumores por meio de auto-renovação e diferenciação, semelhantes àqueles realizados por células-tronco normais, sendo, desse modo, responsáveis pelo crescimento do tumor e pela formação de metástases. Nesse sentido, é de grande importância a prospecção de novos quimioterápicos no tratamento dessa patologia. Um estudo feito pelo nosso grupo de pesquisa identificou como novos alvos potenciais no tratamento quimioterápico de câncer gástrico as proteínas AURORA B (AURKB) e NDC80, inibidas pelas drogas experimentais ZM447439 e INH1, respectivamente. O objetivo desse trabalho foi, primeiramente, verificar a presença de células tumorais com características tronco em linhagens celulares de câncer gástrico para, em seguida, avaliar o efeito dos compostos experimentais nessas células. Outro objetivo foi avaliar o ciclo celular das linhagens estudadas expostas a essas drogas. Para isso, foram utilizadas as linhagens de adenocarcinoma gástrico primário humano ACP02 e ACP03 e de epitélio gástrico normal MNP01. Foi incluído no trabalho o análogo de base 5-fluorouracil (5-FU), já utilizado na terapêutica, como controle positivo nos ensaios celulares. Os valores de IC₅₀ das drogas utilizadas foram determinados previamente para as linhagens ACP02 e ACP03, sendo eles 1,2 µM, 2 µM e 30 µM para 5-FU, ZM447439 e INH1, respectivamente. Foi realizada a análise de expressão gênica por RT-PCR convencional dos marcadores de células-tronco tumorais LGR5, CD24, CD44 e CD133, para a qual foi extraído o RNA total das linhagens de câncer gástrico. Além disso, foi realizado um ensaio de formação de esferas nas células tratadas com 5-FU e ZM447439. Considera-se esferas um conjunto de pelo menos 4 células em diferentes focos na avaliação microscópica. O teste foi realizado numa placa de 96 poços tratada para não aderência, utilizando-se meio de cultivo sem soro e fazendo acompanhamento durante 15 dias. Também foi realizado um teste de ciclo celular, para avaliar de que forma as drogas utilizadas interferem no ciclo das células tumorais. Para esse fim, células das linhagens ACP02 e ACP03 passaram por fixação com etanol, marcação com iodeto de propídio e posterior citometria de fluxo para determinar a quantidade de DNA presente nas células em cada tratamento, sendo, assim, possível determinar em qual fase do ciclo celular as células se encontram. Como resultados para a análise por RT-PCR, verificou-se que ambas as linhagens de câncer gástrico expressam os marcadores LGR5 e CD24. No ensaio de formação de esferas, verificou-se que as células não tratadas apresentaram maior número de esferas que as tratadas. O teste de ciclo celular demonstrou que, nas células da linhagem ACP02, houve uma redução de células nas fases G1 e S e um aumento de células poliplóides quando utilizado ZM447439 e INH1. Em ACP03 houve uma redução de células em G1 e um aumento de células poliplóides quando tratadas com ZM447439 e INH1. Novos experimentos serão realizados para confirmação dos resultados obtidos no ensaio de formação de esferas e de ciclo celular.