

Potencial da combinação do 5-FU com SMER28 no tratamento de câncer gástrico

Gabrihel S Viegas¹ (IC), Diego Bonatto²

1 Aluno de Iniciação Científica, Ciências Biológicas, UFRGS

2 Centro de Biotecnologia, UFRGS



Introdução

O câncer gástrico (CG) é a quarta malignidade mais frequente e a segunda causa de morte relacionada com câncer mais comum na população mundial. Maus hábitos alimentares, infecções causadas pela bactéria *Helicobacter pylori*, tabagismo, alcoolismo e hereditariedade são apontados como os principais fatores de risco associados ao desenvolvimento do CG. Nesse sentido, considerando a letalidade e o diversificado conjunto de fatores de risco, é importante investigar diferentes maneiras de combater malignidades gástricas.

Evolutivamente conservada em eucariotos, a autofagia é um processo catabólico estresse-induzido baseado no sequestro e no transporte de componentes celulares para a degradação lisossômica. Está descrito que a autofagia participa da proliferação de neoplasias, atuando ora como mecanismo supressor ora como mecanismo promotor tumoral. Dessa forma, a modulação do processo autofágico surge como alternativa para erradicação de tumores. Até o momento, nenhum dos indutores autofágicos estabelecidos obtiveram eficácia satisfatória no tratamento do CG.

Objetivo

Este trabalho teve como objetivo testar o potencial terapêutico da indução autofágica promovida pelo indutor autofágico SMER28, sozinho e combinado com o quimioterápico 5-Fluoracil (5-FU), no combate do CG.

Procedimentos experimentais

As células da linhagem de epitélio gástrico saudável MNP01 e da linhagem tumoral gástrica ACP02 foram cultivadas *in vitro* e tratadas com 5-FU (1,2 μ M), SMER28 (15 μ M) e 5-FU (1,2 μ M) + SMER28 (15 μ M) durante cinco dias. Posteriormente foram analisados os níveis autofágicos de células das linhagens MNP01 e ACP02 usando o marcador laranja de acridina, por meio da técnica citometria de fluxo. Ainda, foi analisada a viabilidade de células das linhagens MNP01 e ACP02 usando os marcadores anexina e iodeto de propídeo por meio da técnica citometria de fluxo.

Resultados

SMER28 aumenta a autofagia induzida por 5-FU

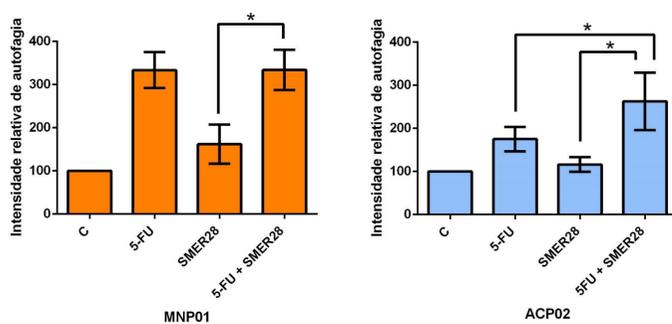


Figura 1 – As células das linhagens MNP01 e ACP02 foram tratadas isoladamente com 5-FU (1,2 μ M), SMER28 (15 μ M) e combinando 5-FU (1,2 μ M) + SMER28 (15 μ M) por 5 dias seguido da quantificação de fluorescência vermelha emitida por LA via citometria de fluxo; $p < 0,001$ em relação às células MNP01 tratadas com SMER28 (15 μ M); $p < 0,001$ em relação às células ACP02 tratadas com 5-FU (1,2 μ M) e SMER28 (15 μ M).

SMER28 não aumenta o número de células autofágicas

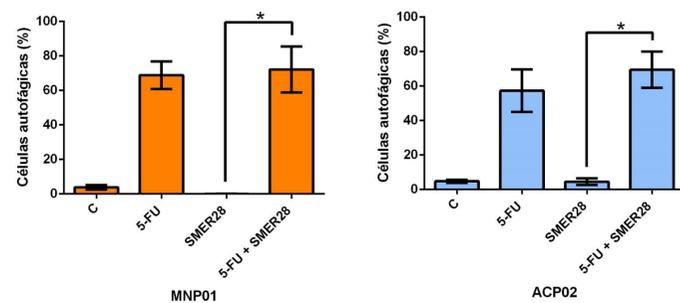


Figura 2 – Células das linhagens MNP01 e ACP02 foram tratadas com 5-FU (1,2 μ M) e SMER28 (15 μ M) por 5 dias seguido da quantificação de células autofágicas via citometria de fluxo; $p < 0,001$ em relação às células MNP01 tratadas com SMER28 (15 μ M); $p < 0,001$ em relação às células ACP02 tratadas com SMER28 (15 μ M).

SMER28 aumenta a apoptose induzida por 5-FU na linhagem ACP02

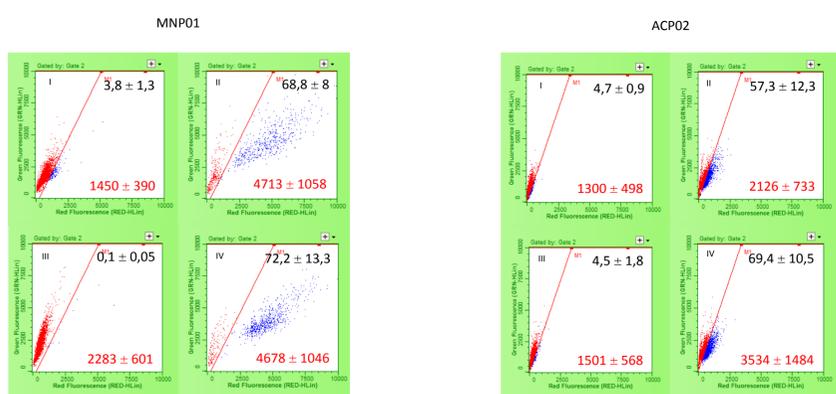


Figura 3 - Citometrias mostrando as médias da porcentagem de células positivamente marcadas com laranja de acridina (LA) (preto) ± 2 erros padrão (2EP) e da intensidade de fluorescência vermelha oriunda da marcação com LA (vermelho) ± 2 EP de três experimentos independentes; Tratamentos: I (Controle), II (5-FU), III (SMER28) e IV (5-FU + SMER28).

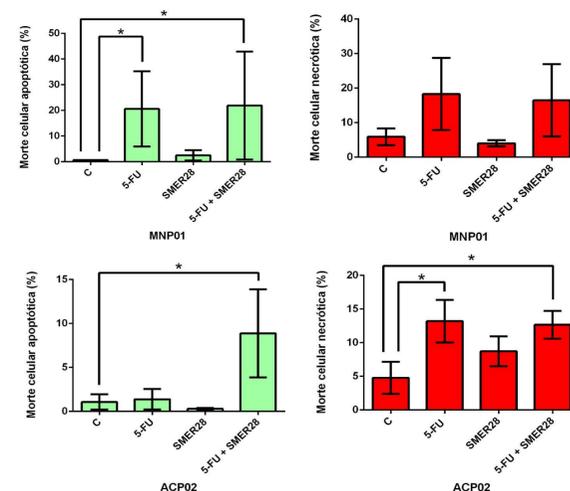


Figura 4 - As células das linhagens MNP01 e ACP02 foram tratadas isoladamente com 5-FU (1,2 μ M), SMER28 (15 μ M) e combinando 5-FU (1,2 μ M) + SMER28 (15 μ M) por 5 dias seguido da avaliação da marcação com anexina e iodeto de propídeo via citometria de fluxo; $p < 0,05$ em relação às células MNP01 do controle; $p < 0,05$ em relação às células ACP02 do controle.

Discussão e conclusão

Este trabalho mostrou que o tratamento com 5-FU induz um leve aumento nos níveis autofágicos, enquanto que o tratamento combinando 5-FU e SMER28 induz um aumento acentuado nos níveis autofágicos em células ACP02 *in vitro*. A autofagia é um processo fisiológico protetivo que favorece a adaptação ao estresse e, nessa perspectiva, o aumento dos níveis autofágicos sugere uma intensificação na formação de autofagossomos. Da mesma forma, o tratamento combinando 5-FU e SMER28 induziu um aumento da morte celular por apoptose em ACP02. Coordenadamente, a indução do processo autofágico favorece eventos apoptóticos ATP-dependentes como a exposição de fosfatidilserina, fragmentações de membranas intracelulares e a formação de corpos apoptóticos. Neste sentido, o tratamento combinando 5-FU e SMER28 parece indicar que a autofagia coopera com a apoptose.

Por fim, esses resultados sugerem que o efeito crônico *in vitro* da combinação 5FU e SMER28 é tóxico para as células ACP02, embora tenha sido mais nocivo para as células MNP01. Está descrito que a toxicidade do 5-FU afeta células saudáveis de pacientes com câncer gástrico e isso implica em diferentes efeitos colaterais atrelados ao tratamento quimioterápico. Assim, é possível que a combinação 5-FU e SMER28 tenha potencializado a toxicidade do quimioterápico, resultando no número elevado de morte das células MNP01 *in vitro*.