

Título: A IMPORTÂNCIA DO SISTEMA EGF/EGFR NA MANUTENÇÃO DO STATUS TUMORAL EM SARCOMA DE EWING.

Autores: Nathália Kersting dos Santos¹, Bárbara Kunzler Souza¹, Rafael Pereira dos Santos^{1, 2}, Danielly Brufatto Olguins¹, Lauro José Gregianin³, Algemir Lunardi Brunetto², Rafael Roesler^{1,5}, Caroline Brunetto de Farias^{1,2}, Gilberto Schwartzmann^{1,4}

Instituição: ¹Laboratório de Câncer e Neurobiologia, Centro de Pesquisas Experimentais, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil, ²Instituto do Câncer Infantil, RS, Brasil, ³Serviço de Oncologia Pediátrica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil, ⁴Serviço de Oncologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil, ⁵Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil.

Resumo: A família de tumores Sarcoma de Ewing compreende neoplasias com características neuroectodérmicas, na qual tumores menos diferenciados são denominados Sarcoma de Ewing (SE). O diagnóstico é mais frequente na faixa etária até 10 anos e o índice de cura varia de 50-70%. O fator de crescimento epidérmico (EGF) e seu receptor (EGFR) estão amplamente envolvidos no processo de tumorigênese e metástase em câncer de cabeça e pescoço, pulmão e colorretal. As linhagens SK-ES-1 e RD-ES foram cultivadas conforme protocolo ATTC[®]. Para experimentos de viabilidade, proliferação, clonogenicidade foram expostas ao EGF ou ao inibidor da fosforilação do respectivo receptor (“Tyrophostin - AG1478”) por 72 horas, com doses variando de 0,01–1µg/mL e 5–40 µM, respectivamente. A viabilidade e proliferação celular foram avaliadas a partir do método de exclusão por azul de Tripán. A análise do ensaio clonogênico se baseia em fotos obtidas 13 dias após tratamento, nas quais se avalia as colônias em software ImageJ[®]. Para análise do ciclo celular, as linhagens foram expostas ao AG1478 e, 48hs depois, realizada a marcação com iodeto de propídeo e análise por citometria de fluxo. Avaliação colorimétrica com X-Gal foi feita para analisar a indução de senescência pelo AG1478. A estatística avaliou, primeiramente, os dados quanto a sua normalidade, sendo seguido de teste de ANOVA e pós-teste de Tuckey ou Kruskal- Wallis, considerando significância $p < 0,05$ em software Graph Pad Prisma[®]. A exposição das linhagens ao EGF mostrou significância estatística quanto ao aumento na taxa de proliferação. Na inibição do receptor, a viabilidade e proliferação celular resultou em IC50 de 12,8µM e 9,8µM para SK-ES-1 e RD-ES. Foi observado, ainda, que a inibição da fosforilação de EGFR por AG1478 reduziu significativamente o número e tamanho de colônias celulares, e que a sua ativação reflete em um aumento de ambos parâmetros. Alterações das porcentagens populacionais em todas as fases do ciclo, excetuando-se a S, foram observadas. O ensaio colorimétrico mostrou diferença estatística em ambas linhagens quanto a percentagem de células senescentes quando comparadas ao controle. Esses resultados sugerem que a exposição ao EGF aumenta a proliferação e a capacidade de clonogenicidade de células de SE, bem como a diminuição destes quando da inibição do receptor. Também, a inibição de EGFR resulta em alterações no ciclo celular e fenômeno de senescência. Projeto aprovado pelo CEP-HCPA sob nº14-0690

Palavras-chaves: Sarcoma de Ewing, Fator Epidérmico Humano, Viabilidade.

Agência Fomento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundo de Investimento em Pesquisa-HCPA, Instituto do Câncer Infantil-RS.