



GRPR REGULA A EXPRESSÃO E SECREÇÃO DE BDNF EM CÉLULAS DE CÂNCER COLORRETAL HUMANAS ATRAVÉS DE UM MECANISMO DEPENDENTE DE EGFR

Rafael P. dos Santos(1, 2, 3, 5); Caroline B. de Farias(2, 3, 4, 5); Denis B. Rosemberg(2); Tiago Elias Heinen(2, 3); Patricia K. dos Santos(2); Ana Lúcia Abujamra(3, 4, 5); Flávio Kapczinski(2, 4, 5); Algemir L. Brunetto(3, 4, 5); Patricia Ashton-Prolla(2); Luise Meurer(2); Maurício R. Bogo(1); Daniel C. Damin(2); Gilberto Schwartzmann(2, 3, 4, 5) Rafael Roesler(2, 3, 4, 5)

(1)Faculdade de Farmácia; (2)Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS; (3)Laboratório de Pesquisas em Câncer- Centro de Pesquisa Experimental- HCPA; (4)Instituto do Câncer Infantil(ICI-RS); (5)Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Translacional em Medicina(INCT-TM); (6)Pontifícia Universidade Católica-Porto Alegre-RS.

INTRODUÇÃO

Compreender a interação entre receptores acoplados a proteína G (GPCRs) e receptores tirosina quinase (RTKs) em câncer pode ter implicações importantes para o desenvolvimento de novas terapias alvo. Tanto o receptor do peptídeo liberador de gastrina (GRPR), um membro da superfamília GPCR, e TrkB, um RTK da família de receptores de neurotrofinas, cujo principal ligante é o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), foram apresentadas como alvos moleculares no câncer. Aqui nós mostramos uma nova relação entre a sinalização de GRPR e BDNF / TrkB em células tumorais. A expressão de GRPR, TrkB e BDNF foi detectada em linhagens celulares humanas de câncer colorretal, HT-29 e SW-620. O antagonista de GRPR, RC-3095, inibiu a proliferação celular e aumentou a expressão e a secreção de BDNF em células HT-29. Coerente com a possibilidade de que o aumento nos níveis de BDNF representa uma resposta compensatória à inibição de GRPR, o tratamento com BDNF humano recombinante (hrBDNF) preveniu o efeito inibitório do bloqueio do GRPR na proliferação celular, enquanto que um inibidor de Trk reduziu a proliferação. Além disso, o aumento nos níveis de BDNF induzido pelo antagonista do GRPR foi anulado pelo tratamento com cetuximabe, um anticorpo monoclonal para o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), mas não na linhagem celular EGFR-negativo, SW-620. Nossos resultados fornecem a primeira evidência de que o GRPR interage com a sinalização BDNF / TrkB influenciando na progressão tumoral, e oferece uma base racional para a investigação dos antagonistas do GRPR, em combinação com BDNF / inibidores TrkB como uma nova abordagem no tratamento do câncer colorretal.

OBJETIVO

Analisar os efeitos antitumorais induzidos pelo antagonista do receptor GRP, RC-3095, em linhagens celulares de câncer colorretal humanas, avaliando possíveis interações entre neurotrofinas e GRPR.

MATERIAIS E MÉTODOS

Através da técnica de RT-PCR foi avaliada a expressão de GRPR, BDNF e TrkB. Avaliou-se também os níveis de secreção basal de BDNF através de um kit de imunoenensaio enzimático e a expressão de mRNA de BDNF após o tratamento com RC-3095.

RESULTADOS

Os resultados demonstraram que HT-29 e SW-620 possuem mRNA para GRPR e BDNF. O RC-3095 teve efeito antiproliferativo nestas linhagens, e induziu um aumento significativo na expressão de mRNA e nos níveis de BDNF secretados pelas células HT-29. Não houve diferença significativa na linhagem celular SW-620 quando comparada ao seu controle.

CONCLUSÕES

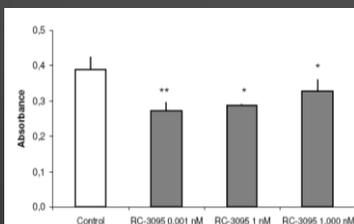
Compreender a relação entre GRPR e BDNF/TrkB e bem como o envolvimento destes na progressão de câncer colorretal poderia proporcionar novas estratégias terapêuticas para este tipo de tumor.

HT-29

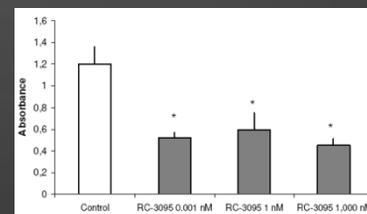
SW620

HT-29

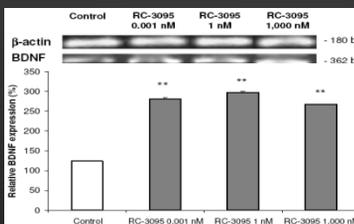
SW620



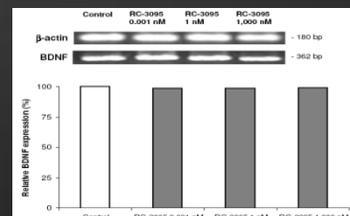
Efeito do tratamento com RC-3095 nas doses de 10⁻³ nM, 1 nM e 1000 nM sobre a viabilidade celular de HT-29 após 48h avaliado pela técnica de MTT.



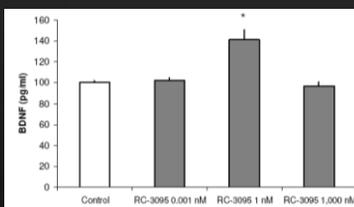
Efeito do tratamento com RC-3095 nas doses de 10⁻³ nM, 1 nM e 1000 nM sobre a viabilidade celular de SW-620 após 48h avaliado pela técnica de MTT.



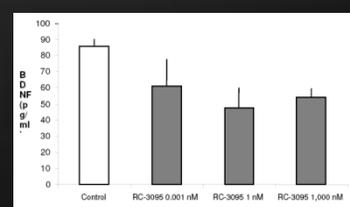
Nível de RNAm de BDNF em HT-29 tratadas por 48h com diferentes doses de RC-3095.



Nível de RNAm de BDNF em SW-620 tratadas por 48h com diferentes doses de RC-3095.



Níveis de secreção basal de BDNF após tratamento com RC-3095 em células HT-29.



Níveis de secreção basal de BDNF após tratamento com RC-3095 em células SW-620.

B-actina
GRPR
Expressão de BDNF e GRPR em HT-29 pela técnica de RT-PCR.

B-actina
GRPR
Expressão de BDNF e GRPR em SW-620 pela técnica de RT-PCR.