



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2013
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Avaliação da expressão de genes envolvidos no processo tumoral e da migração celular em linhagens de câncer gástrico humano expostas a novos quimioterápicos
<b>Autor</b>	LOUISE CAMARGO DE MENDONÇA
<b>Orientador</b>	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 inicial do câncer gástrico é baseado no uso de compostos antitumorais, onde a terapia combinatória tem se mostrado mais efetiva no tratamento dessa doença em seus estágios iniciais. Com base em dados prévios de nosso grupo de pesquisa, foram identificados como novos alvos potenciais para o tratamento de câncer gástrico as proteínas AURORA B (AurkB) e NDC80, que podem ser inibidas pelas drogas experimentais ZM447439 e INH1, respectivamente. O objetivo inicial do trabalho foi a determinação da concentração inibitória de 50% (IC<sub>50</sub>) desses dois compostos em células de câncer gástrico humano cultivadas *in vitro*, assim como a análise da expressão de genes envolvidos no processo tumoral em células tratadas e não tratadas e a avaliação da migração celular em ensaio de fechamento de feridas *in vitro*. Como controle positivo nos ensaios celulares e moleculares foi aplicado o análogo de base 5-fluoracil (5-FU), também amplamente utilizado na terapêutica. Como modelo experimental as linhagens de adenocarcinoma gástrico primário humano (ACP02 e ACP03) foram mantidas em meio RPMI 1640, suplementado com soro bovino fetal 10% (v/v), estreptomicina e penicilina 2% (v/v) e mantidas a 37 °C em estufa de CO<sub>2</sub>. A determinação do IC<sub>50</sub> das drogas 5-FU, ZM447439 e INH1 foi realizada por citometria de fluxo e posterior análise estatística por regressão não linear dos resultados. Para a análise da expressão gênica pela técnica de RT-PCR convencional de NDC80, AurkB, p53, RXRA, CDC2, Bcl2, Bax, Ciclina, VEGF, Cmyc, MMP9, Ras, Telomerase, Stat3 e β-actina foi realizada a extração do RNA total das células tratadas com as doses determinadas pelo IC<sub>50</sub>. Além disso, foi realizado ensaio de migração celular *in vitro* com o objetivo inicial de avaliar a influência do tratamento da placa de cultivo com fibronectina no ensaio de fechamento de cicatriz *in vitro*. Os resultados foram obtidos nos intervalos de 0 h, 8 h e 24 h após a realização do ferimento *in vitro*, seguido da análise da cinética do fechamento do ferimento. Na determinação do IC<sub>50</sub> das drogas 5-FU, ZM447439 e INH1 verificou-se os valores 1,2 μM, 2 μM e 30 μM, respectivamente, após cinco dias de exposição. Quando a expressão gênica das linhagens ACP02 e ACP03 expostas ou não às drogas foi avaliada por RT-PCR, verificou-se que a linhagem ACP02 somente não expressou p53, RXRA, MMP9 e Telomerase, enquanto que a linhagem ACP03 não expressou RXRA, MMP9, Telomerase e Stat3. Esses resultados foram observados igualmente no tratamento com cada uma das drogas e com o controle. No ensaio de migração *in vitro* em placa sem fibronectina não houve alteração significativa no fechamento da cicatriz no intervalo de 0 h a 8 h, para ambas as linhagens. No entanto, foi observado um aumento significativo da cicatrização do ferimento *in vitro* (P<0,001) no intervalo de 8 h a 24 h para as placas tratadas com fibronectina. Interessantemente, observou-se um aumento na taxa transcripcional de MMP9, cujo produto gênico está envolvido na degradação da matriz extracelular, sendo esse produto um componente fundamental da migração e invasão tumoral.