



AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO COM 5-FLUOROURACIL E IRINOTECAN NO CÂNCER COLORRETAL

Lucas Umpierre Conter¹, Felipe Umpierre Conter², Ivana Grivicich³

¹Aluno do Curso de Biomedicina da Universidade Luterana do Brasil - Bolsista FAPERGS – lconter@hotmail.com; ²Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde da Universidade Luterana do Brasil – lipebtbf@gmail.com, ³ Professora do Curso de Medicina e do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde da Universidade Luterana do Brasil – grivicich@terra.com.br

INTRODUÇÃO

O câncer colorretal é um dos tumores humanos mais frequentes e a terceira causa de morte relacionada ao câncer no mundo. Apesar de importantes progressos terapêuticos, os resultados na doença avançada ainda são muito modestos. Isto deve-se ao fato de que a droga mais utilizada nesta neoplasia, o antimetabólito 5-fluorouracil (5-FU), foi desenvolvido a mais de 40 anos produzindo taxas de respostas de somente 10-15%.

Muitos estudos têm sido realizados no intuito de avaliar a combinação do Irinotecan (CPT-11)/5-FU quanto a sua eficácia terapêutica no carcinoma de cólon. Evidências in vivo e in vitro sugerem uma interação de citotoxicidade dependente da sequência de administração do 5-FU e CPT-11. Porém, não está bem elucidado o mecanismo que isso ocorre. A combinação do 5-FU e CPT-11 pode representar uma opção importante, no tratamento do carcinoma colorretal avançado.

Neste estudo, avaliamos a combinação CPT-11/5-FU quanto ao aumento da inibição do crescimento celular quando comparada com os agentes sozinhos nas linhagens celulares de carcinoma de cólon humano e o efeito nas enzimas topoisomerase I e carboxil esterase.

MATERIAL E MÉTODOS

As linhagens SW620, HT-29 e SNU-C4 de carcinoma de cólon humano foram tratadas:

- Por 24 h com IC₅₀ do 5-FU ou IC₅₀ do CPT-11;
- Por 24 h com IC₂₀ do CPT-11 simultaneamente com IC₅₀ do 5-FU e vice-versa;
- Por 2 h com IC₂₀ CPT-11, seguido por 22 h de IC₅₀ do 5-FU e vice-versa.

O efeito citotóxico foi avaliado pelo ensaio colorimétrico de SRB, imediatamente após o tratamento. As absorvâncias no comprimento de onda de 515 nm foram utilizadas para derivar os valores de IC₂₀, IC₅₀ e IC₈₀, isto é, a concentração de droga necessária para inibir 20%, 50% e 80% do crescimento celular.

A atividade catalítica da topoisomerase I foi determinada através da capacidade da enzima, presente nos extratos nucleares, converter o DNA superenrolado em DNA relaxado usando um Kit para determinação de Topoisomerase I (Topoisomerase I Assay Kit; TopoGEN, Columbus, OH, EUA),

A atividade da carboxil esterase foi determinada na fração microsomal das células através da conversão do acetato de para-nitrofenil no seu metabólito para-nitrofenol. As atividades da enzima foram expressas em mU/mg proteína.

RESULTADOS

A linhagem HT-29 demonstrou menor sensibilidade ao 5-FU (IC₅₀ 8,2 µM), enquanto que a linhagem SNU-C4 apresentou maior sensibilidade a esta droga (IC₅₀ 2,2 µM). As 2 linhagens apresentaram sensibilidade comparável ao CPT-11 (IC₅₀ 2,5 e 3,8 µM) (Tabela 1).

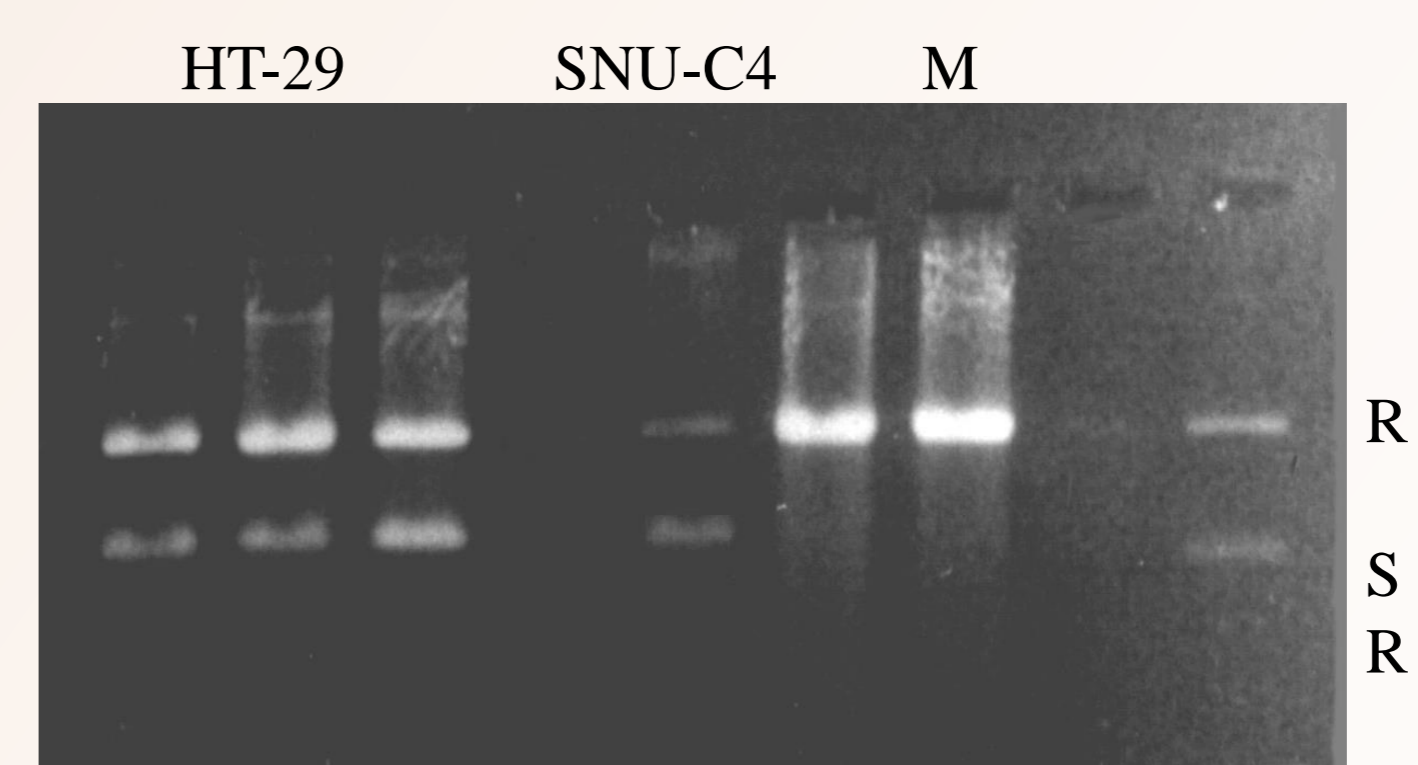
Tabela 1: Valores de IC₅₀ (µM; médias ± DP, n = 6) nas linhagens celulares de carcinoma de cólon humano após tratamento por 24 h com 5-FU ou CPT-11, isolado ou combinado.

	HT-29	SNU-C4
5-FU 24 h	8.2 ± 1.3	2.2 ± 0.7
CPT-11 IC ₂₀ + 5-FU, 24 h simultaneamente	10.9 ± 1.2	5.4 ± 0.9 ^a
CPT-11 IC ₂₀ 2 h, seguidode 5-FU 22 h	1.5 ± 0.5 ^a	1.1 ± 0.2 ^a
CPT-11 alone, 24 h	2.5 ± 0.5	3.8 ± 0.3
5-FU IC ₂₀ + CPT-11, 24 h simultaneamente	2.2 ± 0.4	2.2 ± 0.2 ^b
5-FU IC ₂₀ 2 h, seguido de CPT-11 22 h	5.5 ± 0.7 ^b	18.2 ± 0.6 ^b

CPT-11 IC₂₀ 2 h antes do 5-FU age aditiva ou sinergisticamente nas 2 linhagens celulares (4, 2 vezes nas linhagens HT-29, SNU-C4). 5-FU IC₂₀ 2 h antes do CPT-11 tem efeito antagônico nas 2 linhagens celulares (2, 2, 4 vezes nas linhagens HT-29, SNU-C4). Somente na linhagem SNU-C4 (mais sensível ao 5-FU) o tratamento simultâneo com CPT-11 IC₂₀ antagoniza o efeito do 5-FU (2 vezes), enquanto que a exposição simultânea a 5-FU IC₂₀ aumenta o efeito do CPT-11 (2 vezes) (Tabela 1).

A avaliação da atividade da topoisomerase I revelou valores de 1 e 1,5 unidades arbitrárias, para as linhagens HT-29 e SNU-C4, respectivamente. Estes resultados indicam que a linhagem SNU-C4 apresenta 50% mais atividade desta enzima quando comparada com a HT-29 (Figura 1).

A atividade da carboxil esterase na linhagem SNU-C4 foi cerca de 2,5 vezes menor do que na linhagem HT-29.



M=marker, R=relaxed DNA, S=supercoiled DNA

Figura 1: Conversão do DNA superenrolado (SC) de plasmídeo pHOT1 em DNA relaxado (RE) através de diferentes diluições (1:5, 1:2, 1:1) de extratos nucleares de culturas não tratadas das linhagens HT-29 (colunas 1-3) e SNU-C4 (colunas 5-7). Coluna 9 mostra o relaxamento do DNA de plasmídeo pHOT1 pela topo I purificada.

CONCLUSÕES

Nossos resultados sugerem que a sensibilidade ao CPT-11 foi determinada por um equilíbrio entre as atividades da topoisomerase I e carboxil esterase.