

Natália Damário (IC) ⁽¹⁾; Carmen Veríssima Ferreira (PQ) ⁽¹⁾

Curso de Farmácia – DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA/IB/UNICAMP ⁽¹⁾

Palavras-chave: LMC – etoxzolamida - anidrase carbônica – resistência a quimioterápicos

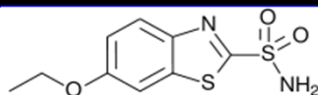
INTRODUÇÃO

A resistência múltipla a fármacos é a principal barreira a ser vencida no tratamento de pacientes com câncer. Múltiplos fatores são responsáveis pelo desenvolvimento da resistência, porém sabe-se que um dos principais é o aumento da expressão da P-glicoproteína (PGP), que atua como uma bomba de efluxo de fármacos. Pouco se sabe sobre as vias de sinalização correlacionadas com a Pgp. Neste contexto, nosso grupo de pesquisa tem utilizado diferentes abordagens metodológicas para obter o mapeamento metabólico de células leucêmicas resistentes e, portanto identificar alvos para intervenção farmacológica. Recentemente, através da análise proteômica, observamos que as células da leucemia eritrocítica humana resistentes à vincristina (Lucena) apresentam alta expressão da enzima anidrase carbônica I. Assim, nosso objetivo foi avaliar o potencial da utilização da enzima anidrase carbônica I (AC) para a intervenção farmacológica da leucemia mielóide crônica, através do emprego de inibidores da mesma, e subsequente análise da taxa de proliferação das células leucêmicas, bem como a sensibilidade ao quimioterápico vincristina.

MÉTODOS

Cultura das células - as células foram cultivadas em meio RPMI, contendo 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de sulfato de estreptomicina e suplementado com 10% de soro fetal bovino. As células foram semeadas na densidade de 1×10^5 células/mL e cultivadas em atmosfera umidificada, 5% CO₂ a 37°C.

Análise da atividade da anidrase carbônica - utilizou-se um meio de reação contendo manitol (225 mM), sacarose (75 mM) e tris-fosfato (10 mM), pH 7,4. A 12 ml desta solução foram adicionados 250 µl do lisado celular e 1,5 ml de água MilliQ saturada com CO₂ à 2,5°C. A redução do pH foi monitorada por 2 minutos com pHmetro.



Estrutura química da etoxzolamida (ETZ) - inibidor da anidrase carbônica

RESULTADOS

As células resistentes a quimioterápico apresentam maior atividade da anidrase carbônica (Fig. 1A). Células leucêmicas tratadas com a ETZ por 24h apresentaram menor atividade da AC (Fig. 1B). Constatou-se queda significativa da taxa de proliferação das células K562 em presença do ETZ cujo valor de IC₅₀ foi em torno de 200 µM (Fig. 2). Para as células Lucena foi atingido o mesmo valor de IC₅₀ somente após o pré-tratamento com verapamil (inibidor clássico da PGP). De forma interessante, o tratamento das células com a ETZ causou um aumento da sensibilização das células Lucena frente à vincristina (Fig. 3).

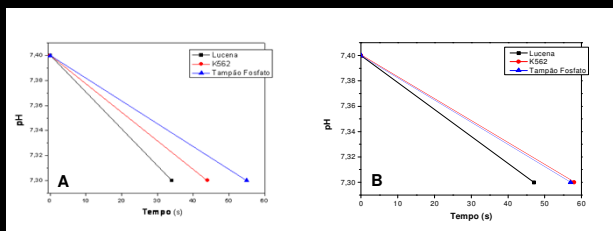


Figura 1 - Taxas da reação catalisada pela anidrase carbônica das células K562 e Lucena. A - células não tratadas e B - tratadas com o inibidor da anidrase carbônica etoxzolamida.

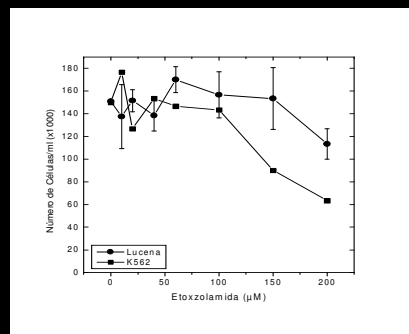


Figura 2 - Efeito da etoxzolamida na viabilidade das células leucêmicas. As células leucêmicas foram tratadas por 24 h e em seguida a viabilidade das mesmas foi determinada pela exclusão do tripan blue.

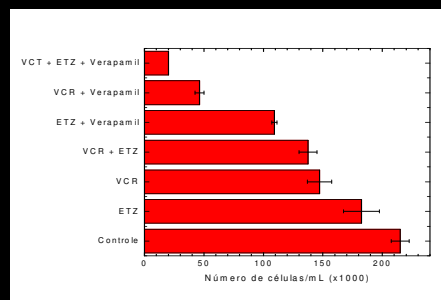


Figura 3 - Influência do inibidor da P-glicoproteína na sensibilidade das células Lucena frente à etoxzolamida. As células Lucena foram tratadas com verapamil 50 µM, etoxzolamida 200 µM, vincristina (VCR) 250 nM e suas combinações, como mostrado no gráfico. Após tratamento por 24 h, a viabilidade das células foi determinada pela exclusão do tripan blue.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

- ✓ As células resistentes a quimioterápicos (Lucena) apresentam maior atividade da anidrase carbônica;
- ✓ A ETZ é um promissor agente antileucêmico, pois afetou negativamente a taxa de proliferação de ambas as linhagens leucêmicas;
- ✓ A ETZ aumenta a sensibilidade das células Lucena à vincristina;
- ✓ Nossos dados apontam de forma inédita, a AC como um alvo promissor para combater a resistência de células leucêmicas. Portanto, o desenvolvimento de inibidores mais potentes desta enzima pode ter grande potencial farmacológico.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP e ao CNPq pelo apoio financeiro. Agradece-se também à FAPESP pela concessão de Bolsa de IC.