

Potencial antitumoral do ditelureto de difenila e combinação com temozolomida em linhagens celulares de glioblastoma multiforme

Soldatelli, Jéssica Silveira ¹; de Oliveira, Iuri Marques ¹; Henriques, João Antonio Pêgas ¹

¹ Departamento de Biofísica/Instituto de Biociências – UFRGS, Porto Alegre, RS/Brasil

Introdução

Os gliomas malignos representam 80% dos tumores cerebrais primários em adultos. São altamente agressivos e proliferativos, raramente são passíveis de ressecção cirúrgica e apresentam altas taxas de mortalidade e recorrência. Além disso, a eficácia do tratamento antitumoral encontra barreiras como efeitos colaterais indesejáveis e resistência quimioterápica. A descoberta de novas substâncias que possam atuar com efeito aditivo ou sinérgico e aumentar a sensibilização das células tumorais à terapia torna-se uma estratégia no campo da oncologia. O ditelureto de difenila (DPDT) é um composto organotelurado utilizado em diversas reações de síntese orgânica e possui interessantes efeitos biológicos *in vitro*, como agente antioxidante, quimioprotetor, citotóxico e antitumoral. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos citotóxicos do DPDT e do agente quimioterápico amplamente utilizado temozolomida (TMZ), em regimes isolados e em associação, após exposição, de células de glioma (U87, M059J e GBM1) e células não tumorais (MRC5).

Casuística e Métodos

Primeiramente, a viabilidade celular após a exposição de células de glioma ao DPDT isolado e em associação com TMZ por 120h foi avaliada usando o Ensaio MTT. Em sequência, a capacidade clonogênica das linhagens celulares foi analisada através do Ensaio Clonogênico após 120h de exposição ao DPDT isolado e associação com TMZ. Em relação à genotoxicidade, verificou-se se o DPDT isolado e em associação com TMZ seria capaz de induzir dano ao DNA através do Ensaio Cometa após 3h de exposição. Por fim, como forma de iniciar a busca do mecanismo de ação subjacente à ação do DPDT isolado e associado ao TMZ após 3h de exposição, a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) em linhagens celulares foi avaliada usando o Ensaio DCFH-DA.

Resultados

No ensaio MTT, observou-se uma diminuição dose-dependente na viabilidade celular quando as células foram expostas a DPDT e TMZ isoladas por 120h em todas as linhagens celulares, sendo evidenciado que essa queda na viabilidade celular ocorreu em doses bem menores de DPDT (0,025nM-250nM). Os valores de IC₅₀ foram estabelecidos em 337,8 nM para MRC5, 508 nM para U87, 1641 nM para M059J e 35,36 nM para GBM1. Após, decidiu-se testar o efeito combinatório das doses de TMZ 50 µM e o IC₅₀ DPDT para cada linhagem celular. Um efeito cumulativo foi observado para 120h de exposição de DPDT em associação com TMZ em U87 e GBM1 com redução para ~20% de viabilidade para ambas as linhagens celulares em comparação aos regimes isolados; por outro lado, a linhagem celular M059J sob exposição de tratamentos associados não apresentou diminuição significativa da viabilidade celular em relação a TMZ (~52%) ou doses isoladas de DPDT (~60%), sendo a viabilidade celular ~56%. Verificou-se que a combinação foi capaz de reduzir significativamente o número de colônias em todas as linhagens celulares.

Resultados

Além disso, o efeito foi mais proeminente nos gliomas em comparação com as linhagens celulares não tumorais, sendo as taxas de sobrevivência celular para MRC5, U87, M059J e GBM1, 40,5 %, 30,6 %, 28 % e 33,6 %, respectivamente. Observou-se que o regime de combinação aumentou significativamente a indução de quebras de fita de DNA em células MRC5, M059J e GBM1 em comparação aos regimes isolados. Mas em células U87, o DPDT em associação com TMZ pareceu proteger as células dos danos induzidos por TMZ, uma vez que a combinação induziu um nível mais baixo de índice de dano ao DNA em comparação com TMZ isolada. Nem o DPDT isolado nem em associação com TMZ foi capaz de aumentar significativamente a geração de EROs nas linhagens MRC5, U87 e M059J após DPDT+TMZ após 3h de exposição; mas foi capaz de induzir a geração de EROs na linhagem GBM1, principalmente sob a dose TMZ + IC₅₀ de DPDT testada, sugerindo que, na linhagem GBM1, a morte celular pode ser causada pelo aumento da produção de EROs, que com o tempo leva a níveis de sinalização das vias apoptóticas e necróticas.

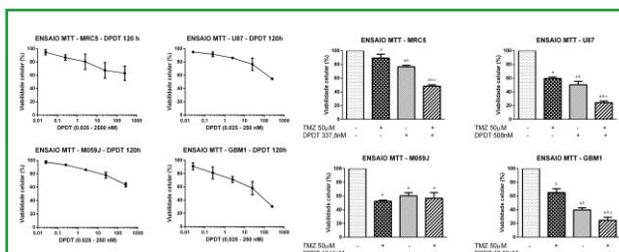


Fig.1. Viabilidade celular das linhagens MRC5, U87, M059J e GBM1 após exposição ao DPDT por 120h. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

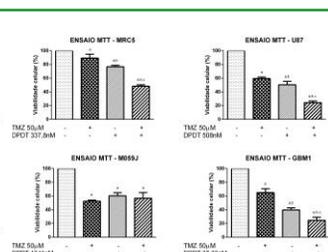


Fig.2. Os dados foram analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey: a em relação ao controle negativo, b em relação ao TMZ e c em relação ao DPDT (a, b, c p<0,0001).

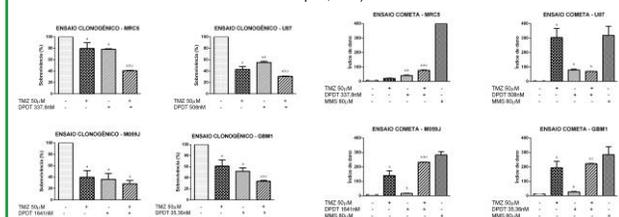


Fig.3. Os dados foram analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey: a em relação ao controle negativo, b em relação ao TMZ e c em relação ao DPDT (a, b, c p<0,0001).

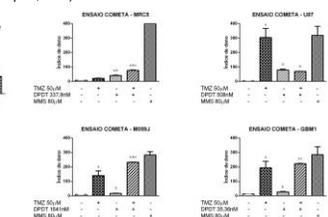


Fig.4. Os dados foram analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey: a em relação ao controle negativo, b em relação ao TMZ e c em relação ao DPDT (a, b, c p<0,0001).

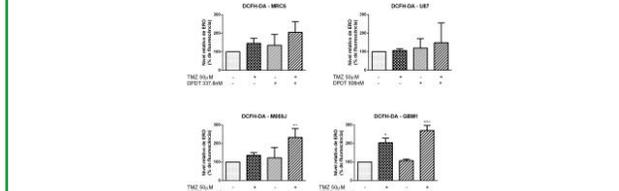


Fig.5. Os dados foram analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey: a em relação ao controle negativo, b em relação ao TMZ e c em relação ao DPDT (a, b, c p<0,0001).

Conclusões

A elucidação do mecanismo de ação de compostos amplamente utilizados, como o TMZ e de novos e potenciais agentes antitumorais, como o DPDT, em regimes isolados e combinados, deve facilitar o desenho racional de novos agentes, constituindo uma nova abordagem na terapia anticâncer. Para este processo é necessário o entendimento de conceitos e a aplicabilidade das técnicas de toxicologia genética e genética do câncer para triagem e descoberta de novos fármacos. O DPDT isolado e em combinação com TMZ diminui a viabilidade celular de células de gliomas; o DPDT isolado e em combinação com TMZ diminui a capacidade clonogênica das células de glioma; e o DPDT em combinação com TMZ induz danos ao DNA em células de glioma. Cada linhagem celular apresentou resultados diferentes frente aos regimes testados, sendo observado que as células U87 e GBM1 foram mais sensíveis ao DPDT em associação com os efeitos biológicos da TMZ, porém, os mecanismos de ação específicos ainda não foram esclarecidos. Em geral, após experimentos adicionais em andamento, pode-se melhor elucidar o correto mecanismo de ação do DPDT e sua associação ao TMZ no tratamento de gliomas, visando reduzir as doses de TMZ utilizadas na clínica e permitir uma diminuição real da dosagens colaterais aos pacientes.

Contato

Ma. Jéssica Silveira Soldatelli
Instituto de Biociências, Departamento de Biofísica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Avenida Bento Gonçalves, 9500, Agronomia, 91501970, Porto Alegre, RS, Brasil.
Caixa Postal 15005 Porto Alegre/RS Brasil.
E-mail: jessicasoldatelli@gmail.com.