

6 INIBIÇÃO DA VIA DE SINALIZAÇÃO MEK5-ERK5 AUMENTA A APOPTOSE INDUZIDA PELO 5-FLUOROURACILO EM CÉLULAS DE CANCRO DO CÓLON

Pereira D.M. 1 , Simões A.E.S. 1 , Gomes S.E. 1, Castro R.E. 1,2 , Borralho P.M. 1,2, Rodrigues C.M.P 1,2

A sinalização aberrante via MEK5-ERK5 encontra-se descrita em vários tipos de cancro, tendo sido implicada no processo de carcinogénese e na resistência aos mecanismos de apoptose induzidos pela ação citotóxica de diversos agentes antitumorais. No cancro do cólon (CC), demonstrámos recentemente que MEK5 e ERK5 se encontram sobre-expressas em adenomas e adenocarcinomas do cólon e que o silenciamento *in vitro* de ERK5 aumenta a resposta ao 5-fluorouracilo (5-FU). No presente estudo foram desenvolvidos dois modelos celulares de CC com ativação diferencial da via MEK5-ERK5, por forma a avaliar a sua contribuição na proliferação celular e na resposta ao 5-FU. Desta forma, utilizando células HCT116 e SW620 de CC, foram produzidas linhas celulares com sobre-expressão estável de MEK5, constitutivamente ativa (CA-MEK5) ou dominante negativa (DN-MEK5), após transdução lentiviral e seleção por citometria de fluxo. Os nossos resultados demonstram que, em células HCT116 e SW620, CA-MEK5 aumenta a proliferação celular ($p<0,05$) e a expressão de KRAS ($p<0,01$). Por sua vez, no modelo HCT116, DN-MEK5 aumentou a expressão de p53 ($p<0,05$) e dos seus alvos transcripcionais, p21 e Puma ($p<0,01$), assim como a morte celular após exposição ao 5-FU ($p<0,05$). Esta sensibilização mostrou estar associada a um aumento de atividade das caspases-3/7 e dos níveis de apoptose ($p<0,05$). Em contrapartida, CA-MEK5 reduziu a citotoxicidade e a apoptose induzida pelo 5-FU ($p<0,05$). Mais ainda, a exposição ao 5-FU reduziu os níveis endógenos de expressão e ativação de MEK5 e ERK5 ($p<0,05$). Por fim, o estado de ativação de MEK5 mostrou estar inversamente relacionado com a expressão dos miRNAs supressores de tumores miRNA-143, -145 e -34a ($p<0,05$). Coletivamente, os nossos resultados sugerem a inibição específica da via MEK5-ERK5 como uma abordagem terapêutica promissora na sensibilização e tratamento do CC.

Financiado por SPG e FCT (PTDC/SAU-ORG/119842/2010; SFRH/BD/96517/2013; SFRH/BD/88619/2012; SFRH/BD/79356/2011).

1 Instituto de Investigação do Medicamento (iMed.Ulisboa); 2 Departamento de Bioquímica e Biologia Humana, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Portugal