

Título: MicroRNAs 203 e 200c regulam a expressão das bombas ABCB1 na resistência à doxorubicina

Autores: Ana Armada¹, Bruno Gomes², José Rueff², António Sebastião Rodrigues², Miguel Viveiros¹

Afilições: 1 Unidade de Microbiologia Médica, Global Health and Tropical Medicine, GHTM, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, IHMT, Universidade Nova de Lisboa, UNL, Rua da Junqueira 100, 1349-008 Lisboa, 2 Centre for Toxicogenomics and Human Health, Department of Genetics, Oncology and Human Toxicology, Nova Medical School/Faculty of Medical School, Universidade Nova de Lisboa, Rua Câmara Pestana 6, 1150-008 Lisbon, Portugal

Introdução

A glicoproteína-P (ABCB1) é um transportador de efluxo de células eucarióticas associado à resistência a fármacos. A resistência a múltiplos fármacos (MDR) está relacionada com o aumento da expressão e atividade das bombas ABCB1. Estas bombas são responsáveis por falhas quimioterapêuticas nos casos de cancro. Em células do cancro da mama com resistência adquirida à doxorubicina (DOX), estudos de análise funcional mostraram que os microRNAs (miR) podem modular genes associados à resistência através da alteração da expressão de transportadores ABCB1.

Objectivos

O presente estudo tem como objetivo analisar o efeito modulador do miR-200c e do miR-203 na funcionalidade das bombas ABCB1 na linha celular humana de carcinoma mamário resistente à DOX.

Métodos

Linhas celulares humanas de carcinoma mamário, sensível à DOX e sem bombas ABCB1 (MCF-7) e resistente à DOX com sobreexpressão de bombas ABCB1 (KCR), foram utilizadas na avaliação dos níveis expressão dos miR-200c e miR-203 por PCR quantitativo em tempo real. O efeito da alteração da expressão transitória dos miRNAs 200c e miR-203 nas células KCR e MCF-7 foi verificado através de ensaios funcionais *in vitro*. A atividade das bombas ABCB1 foi analisada por microscopia de fluorescência e citometria de fluxo através de

ensaios de retenção de substrato fluorescente (DiOC2) na presença de um inibidor de bombas ABCB1 (verapamil).

Resultados

As células MCF-7 e KCR apresentaram diferentes padrões de expressão dos miRNAs: As células KCR evidenciaram reduzida expressão do miR-200c e miR203 enquanto que a presença das bombas ABCB1 apenas foi observada nas células KCR. A inserção do pré-miR-200c e do pré-miR-203 durante 48 h permitiu observar maior retenção do DiOC2 no interior das células KCR. A quantificação da fluorescência intracelular confirmou a existência de acumulação significativa do DiOC2 nas células KCR após inserção do pré-miR-203. Elevada acumulação intracelular do substrato associada a menor capacidade de efluxo aponta para a existência de menos bombas ABCB1 ativas em consequência da inserção do pré-miR-203. Os ensaios com o verapamil evidenciaram a eficiência da modulação negativa do miR-203.

Conclusões

O presente estudo demonstra que o miR-200c, e em particular o miR-203 exercem efeito modulador negativo na actividade das bombas ABCB1 associadas á resistência à DOX nas células do cancro da mama. Este efeito pode ser também revertido por inibidores de efluxo.