



Avaliação de viabilidade celular, degradação proteica e estresse oxidativo em cultura de cardiomioblastos H9c2, suplementada ou não com leucina, em resposta aos efeitos do fator Walker, mimetizando caquexia cardíaca

Maiara Caroline Colombara*, Maria Cristina Cintra Gomes Marcondes.

Resumo

O mecanismo de catabolismo proteico no músculo esquelético induzido pelo fator de indução de proteólise (PIF; efeito similar ao Fator Walker), na vigência do câncer, tem sido amplamente estudado no processo de caquexia. Nossos estudos mostram que há aumento da degradação e diminuição da síntese proteica em miotúbulos C2C12 expostos ao fator Walker (FW), processos que podem ser modulados na presença de leucina, aminoácido que, tem papel importante no estímulo da síntese e inibição da degradação proteica em modelos experimentais de caquexia. Assim, considerando os fatores nutricionais envolvidos nas vias de sinalização e alterações do metabolismo proteico celular, produzidos pelo câncer, é de suma importância elucidar pontos-chaves do processo de caquexia, principalmente no tecido cardíaco. Desse modo, como resultados preliminares, avaliamos em modelo *in vitro* (H9c2), os efeitos modulatórios da suplementação com leucina sobre os efeitos do FW na proliferação/morte celular em cardiomiócitos.

Palavras-chave: Caquexia, leucina, cardiomioblastos.

Introdução

Pacientes com câncer e, associado ao estado de caquexia, apresentam intensa perda da massa muscular, que pode ser ativada pelo fator indutor de proteólise (PIF), que é uma glicoproteína, produzida por tumores humanos e murinos. Recentemente, isolamos e purificamos proteína de peso molecular 24 kDa, imunologicamente análoga ao PIF, a partir de ratos portadores do carcinossarcoma de Walker 256, sendo nomeada fator Walker (FW)^[1]. O FW apresenta efeitos *in vitro*, em células C2C12, similares ao músculo esquelético, induzindo aumento de atividade da via proteolítica ubiquitina-proteossomo, da via lisossomal e da via dependente de cálcio em miotúbulos C2C12. Verificamos que a presença do câncer causa, também, intenso prejuízo do músculo cardíaco^[2]. Paralelamente, para o tratamento do câncer-caquexia, os aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA), principalmente a leucina assume importante papel regulatório no metabolismo proteico, aumentando a síntese proteica e diminuindo a proteólise muscular esquelética, e também modulando os danos encontrados no miocárdio de animais com câncer^[2]. Assim, objetivando a elucidação dos possíveis mecanismos de sinalização celular envolvidos nos efeitos do Fator Walker modulados pela leucina *in vitro*, avaliamos a proliferação de células H9c2 (cardiomioblastos), tratadas com 10% de líquido ascítico (FW) no meio de cultura (DMEM com 10% Soro Fetal, 1% penicilina, 1% glutamina e 1% piruvato, em 37°C a 5% de CO₂) e submetidos a suplementação 50µM de leucina, por 24hs comparados com o grupo controle e com a inativação do FW (líquido ascítico fervido).

Resultados e Discussão

Resultados preliminares: No período de 24hs de tratamento, verificou-se proliferação nas células tratadas com FW, e com leucina (L e LW), porém no aspecto morfológico as células do grupo W apresentaram características de sofrimento celular, que foi parcialmente modulado com leucina. Ensaio adicional nos períodos de 48 e 72hs serão realizados. Detalhes relevantes da metodologia podem ser descritos neste item.

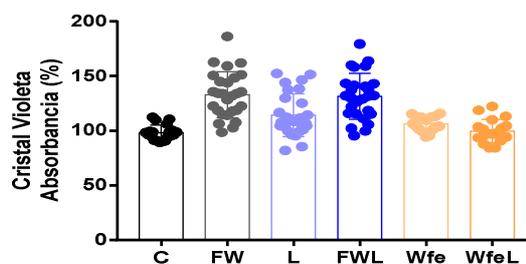


Figura 1. Proliferação celular em tratamento de 24h.

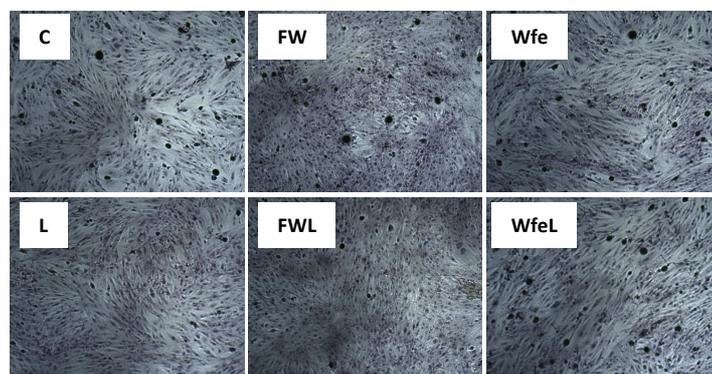


Figura 2. Aspectos morfológicos dos diferentes grupos.

Conclusões

Até o presente momento as células H9c2 tratadas com líquido ascítico (que contem FW, mas também outros fatores humorais) houve proliferação celular no período de 24hs, contrapondo aos resultados encontrados com células C2C12, porém a alteração da proliferação também se contrapõe às características da microscopia celular.

Agradecimentos



(2017/02739-4)



¹ Yano et al. Metabolic and morphological alterations induced by proteolysis-inducing factor from Walker tumour-bearing rats in C2C12 myotubes. BMC Cancer (2008), doi: 10.1186/1471-2407-8-24.

² Toneto et al. Nutritional leucine supplementation attenuates cardiac failure in tumour bearing cachectic animals. J Cachexia Sarcopenia Muscle (2016), 7(5):577-586