

Mecanismos Associados à Perda da Regulação da Nox1 NADPH Oxidase pela Dissulfetoisomerase Proteica em Células com Ativação Sustentada da Via Ras

TIPHANY CORALIE DE BESSA

Orientador: Prof. Dr. Francisco Rafael Martins Laurindo
Programa de Cardiologia

RESUMO

de Bessa TC. *Mecanismos associados à perda da regulação da Nox1 NADPH oxidase pela dissulfetoisomerase proteica em células com ativação sustentada da via ras [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.*

Dissulfetoisomerase proteica como a PDIA1 tem sido implicada na progressão do câncer, porém os mecanismos envolvidos ainda não foram claramente identificados. Previamente, nós demonstramos um importante efeito da PDIA1 induzindo a superexpressão da Nox1 NADPH oxidase, associada à geração de espécie reativas de oxigênio (ROS). Uma vez que a perda na regulação de ROS envolve o crescimento tumoral, nós propusemos que a PDIA1 atua como um mecanismo regulador proximal na produção de ROS em tumores. No presente estudo, nós focamos no câncer colorretal (CRC) com distintos efeitos na ativação de KRas. Resultados provenientes de bancos de dados de RNAseq e validação direta, indicam um significativo aumento na expressão de PDIA1 em CRC com alta ativação constitutiva da Kras (HCT116) vs. ativação intermediária (HKE3) ou basal (Caco2). A PDIA1 sustenta a produção de superóxido dependente da Nox1 em CRC; entretanto, observamos pela primeira vez uma ação dupla da PDIA1 correlacionada ao nível de ativação da Ras: em células Caco2 e HKE3, experimentos de perda de função indicam que o PDIA1 sustenta a produção de superóxido dependente de Nox1; no entanto, em células HCT116, PDIA1 limita a produção de superóxido pela Nox1. Este comportamento da PDIA1 é associado ao aumento da expressão / atividade da Rac1. A transfecção do mutante constitutivamente ativo Rac1G12V em células HKE3 faz com que a

PDIA1 se torne restritiva a produção de superóxido dependente de Nox1, paralelamente, em células HCT116 tratadas com inibidor da Rac1, PDIA1 se torna favorável à produção de superóxido. Um screening em importantes vias de sinalização celular em HKE3 mostrou que a perda de função da PDIA1 promove inativação da GSK 3 β em paralelo à diminuição da ativação de Stat3; em HCT116 em estado basal, GSK3 β é inativada enquanto Stat3 está ativa, já o silenciamento da PDIA1 não resulta em nenhum efeito adicional. As implicações funcionais do silenciamento da PDIA1 incluíram uma diminuição da proliferação e migração celular em HKE3, não detectável em HCT116. Além disso, a PDIA1 parece sustentar a transição epitélio-mesenquimal (EMT), uma vez que após o silenciamento da PDIA1, observamos um aumento da expressão da E-caderina em HKE3 e uma diminuição em HCT116. Assim, a superativação da Ras se associa a uma alteração no padrão de regulação da Nox1 pela PDIA1. A supressão do efeito regulador da PDIA1 pela Kras é provavelmente devido a uma ativação sustentada da Rac1. Portanto, PDIA1 pode exercer um papel redox-dependente adaptativo crucial relacionado à progressão tumoral.

Descritores: 1- isomerase de dissulfetos de proteínas; 2- NADPH oxidase; 3- proteínas ras; 4- espécies de oxigênio reativas; 5- neoplasias; 6- superóxidos; 7- inibidores da dissociação do nucleotídeo guaninarho-específica; 8- proto-oncogenes; 9- estresse oxidativo.