

## Introdução

A mitoxantrona (MXT) é um antineoplásico amplamente utilizado no tratamento de diferentes tipos de câncer. É uma droga que atua como inibidora da enzima topoisomerase II causando lesões do tipo quebras de cadeia, bem como adutos, pontes intercadeias e espécies reativas de oxigênio. Sabe-se que o reparo de DNA pode estar envolvido nos mecanismos de resistência tumoral e, além disso, que proteínas da via de Reparo por Excisão de Nucleotídeos (NER) estão envolvidas na remoção das lesões induzidas por agentes inibidores de topoisomerase II, como a MXT. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a contribuição do NER em uma linhagem de leucemia resistente ao tratamento com MXT em comparação a uma linhagem não resistente do mesmo tumor.

## Métodos e Resultados

### Linhagens celulares:

Leucemia Promielocítica Aguda:

Linhagem celular	Tipo Celular	Característica
HL-60	Promieloblasto	Sensível ao tratamento com MXT.
HL-60/MX2	Linfoblasto	Resistente ao tratamento com MXT.

As linhagens celulares foram adquiridas da ATCC. O cultivo foi realizado em meio RPMI com 10% de SBF, em uma atmosfera com 5% de CO<sub>2</sub> a 37° C.

### Linhagem HL-60/MX2 apresenta perfil de resistência ao tratamento com MXT

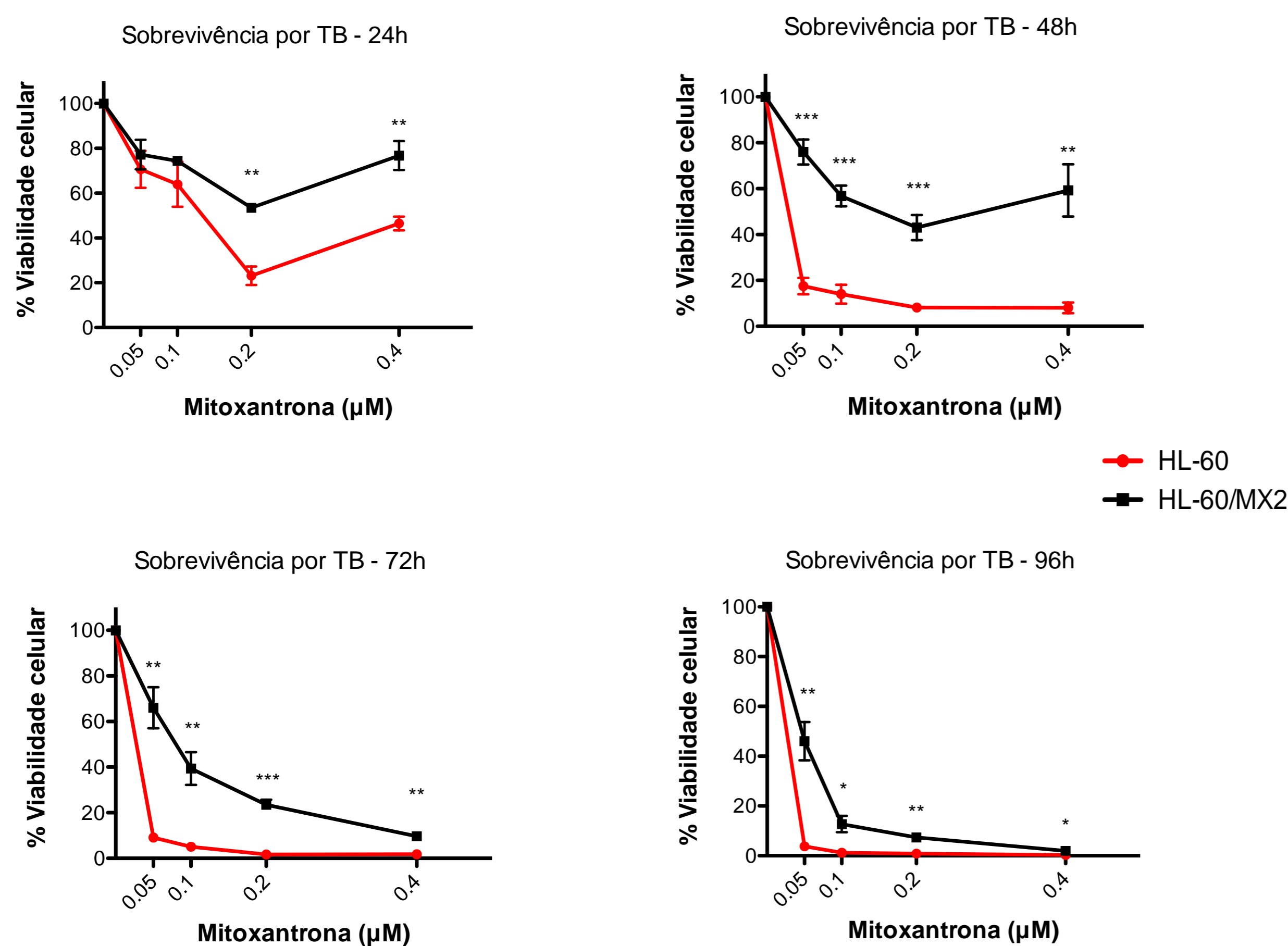


Figura 1. As células foram expostas a diferentes doses e tempos de tratamento com MXT. A viabilidade celular foi determinada através do método de exclusão por Azul de Tripán. Todos resultados foram realizados em triplicata e a análise estatística foi feita pelo programa Prism 5.0 utilizando teste T, sendo considerado significativo um p<0,05.

### Linhagem HL-60/MX2 apresenta perfil de resistência ao tratamento com Etoposido

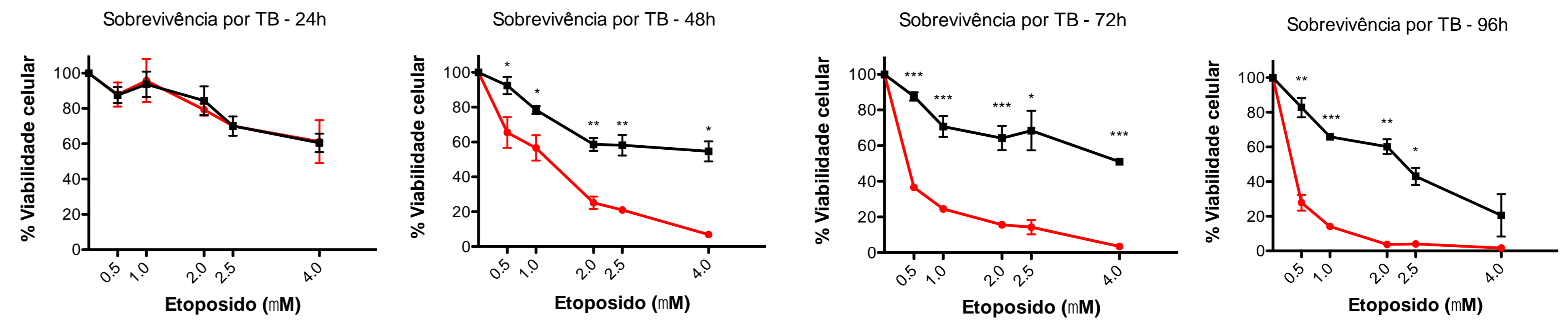


Figura 2. As células foram expostas a diferentes doses e tempos de tratamento com Etoposido. A viabilidade celular foi determinada através do método de exclusão por Azul de Tripán. Todos resultados foram realizados em triplicata e a análise estatística foi feita pelo programa Prism 5.0 utilizando teste T, sendo considerado significativo um p<0,05.

### Linhagem HL-60/MX2 não apresenta alteração no seu perfil de ciclo celular após tratamento com MXT e Etoposido

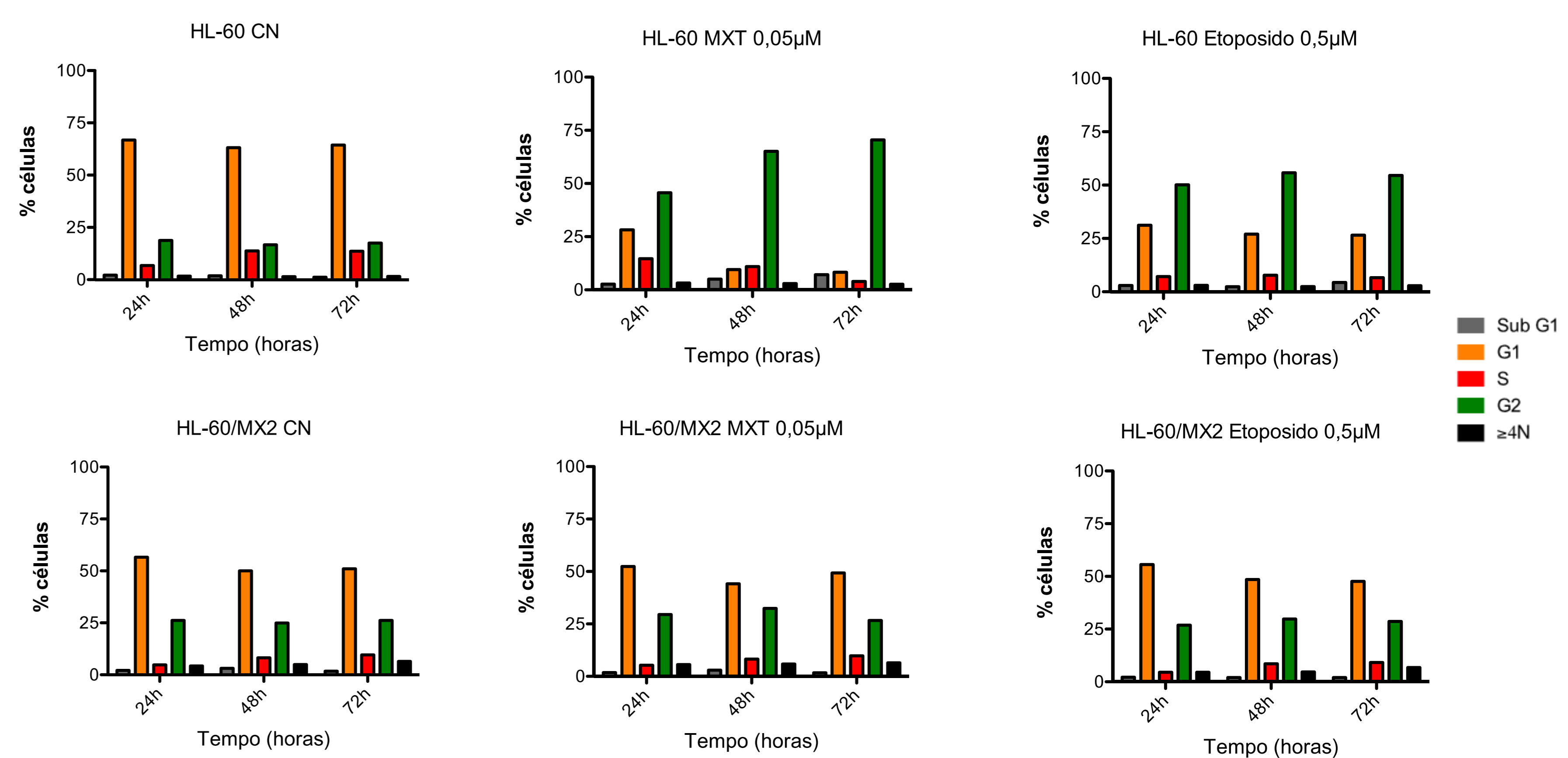


Figura 3. As células foram tratadas com MXT e Etoposido por diferentes tempos. O perfil de ciclo celular foi determinado por citometria de fluxo utilizando a marcação com PI.

### Linhagem HL-60/MX2 não apresenta alteração na expressão da proteína XPA após tratamento com MXT e Etoposido

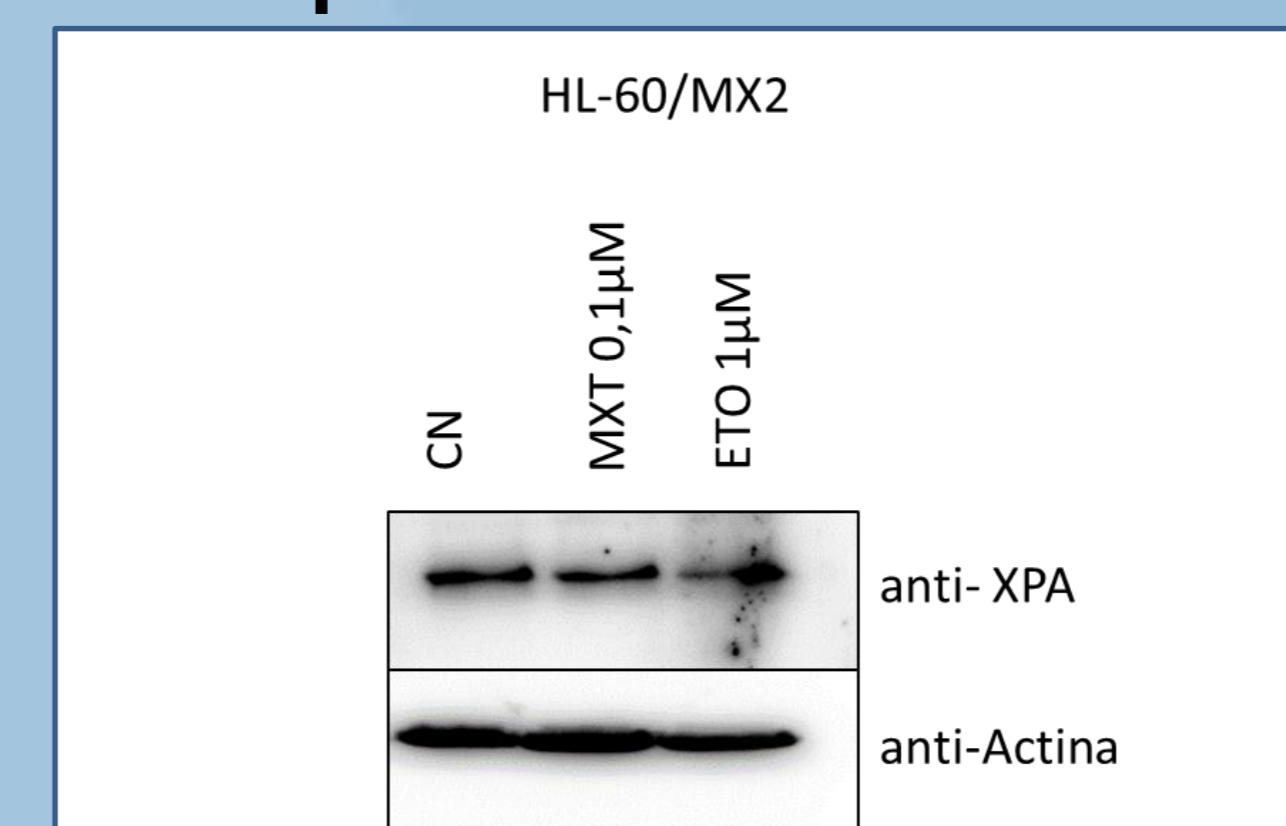


Figura 4. A linhagem HL-60/MX2 foi tratada com MXT e Etoposido em um tempo de 24 horas. A análise da expressão de proteína XPA foi realizada pela técnica imunoenzimática de Western Blotting.

## Discussão e Conclusão

Nossos resultados de viabilidade celular confirmaram a resistência da linhagem HL-60/MX2 à MXT e ao Etoposido, agente que atua exclusivamente como inibidor de topoisomerase II. Os resultados preliminares de ciclo celular demonstram que a linhagem resistente não tem seu perfil de ciclo alterado diante dos tratamentos, enquanto que a linhagem sensível apresenta um acúmulo de células na fase G2, tanto no tratamento com MXT, quanto com Etoposido. Isto pode indicar que entre as duas linhagens há um mecanismo de sinalização de dano no DNA diferente, uma vez que a linhagem sensível pode estar ativando uma parada esperada de checkpoint na fase G2 frente a indução de dano pelos tratamentos. A linhagem HL-60/MX2 não apresenta alteração na expressão de uma das proteínas da via NER a XPA. Nossas próximas etapas incluem a análise de expressão de outras proteínas da via NER em ambas linhagens, assim como de outras vias de reparo e sinalização de dano no DNA, e de proteínas de efluxo, característica de mecanismos de resistência a múltiplas drogas.