



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Influência de Mecanismos de Resposta a Danos no DNA na Resistência de Células de Leucemia ao Antineoplásico Mitoxantrona
Autor	VICTÓRIA PEREIRA VIERO
Orientador	JENIFER SAFFI
Instituição	Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

Influência de Mecanismos de Resposta a Danos no DNA na Resistência de Células de Leucemia ao Antineoplásico Mitoxantrona

Victória Pereira Viero, Jenifer Saffi

Laboratório de Genética Toxicológica, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre;

INTRODUÇÃO: A quimioterapia é uma das principais estratégias no tratamento do câncer e os antineoplásicos que danificam o DNA têm-se mostrado mais eficientes. Entre eles enquadra-se a Mitoxantrona (MXT), análogo estrutural das antraciclina, que atua como inibidor de Topoisomerase II. No entanto, muitos tumores apresentam resistência, prejudicando o tratamento. Este perfil de resistência pode estar relacionado com a presença de características como o transporte da droga através da membrana plasmática, alteração nas enzimas-alvo e aumento da reparação do DNA. Em relação ao reparo de DNA, estudos sugerem que a via de Reparo por Excisão de Nucleotídeos (NER) está envolvida no reparo de lesões causadas pela MXT. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a contribuição dos mecanismos de resposta ao dano no DNA, com ênfase na atuação da via NER, na resistência à MXT da linhagem celular de leucemia HL-60/MX2, em comparação à linhagem sensível (HL-60).

METODOLOGIA: Foram utilizadas linhagens celulares de leucemia (HL-60) e leucemia resistente à MXT (HL-60/MX2), as quais foram cultivadas em meio RPMI com 10% de soro bovino fetal, a 37°C e com 5% de CO₂. Para avaliação da viabilidade celular, as células foram tratadas por diferentes tempos e concentrações de MXT e Etoposídeo (ETO), um outro agente inibidor de Topoisomerase II, e analisadas pela metodologia de exclusão por tripan blue. Na análise do perfil de ciclo celular, as células foram fixadas com etanol 70% após o tratamento, permeabilizadas e coradas com iodeto de propídeo, para posterior análise em citometria de fluxo. Realizou-se a análise da fosforilação da histona H2AX (γ H2AX) com marcação pelo anticorpo anti-H2AX (pS139) conjugado com Alexa Fluor 488 e análise por citometria de fluxo. E para análise de expressão gênica, da via NER e de proteínas de efluxo, foi realizada a extração de RNA das células após o tratamento com MXT e ETO, preparo do DNA complementar por RT-PCR e análise quantitativa por PCR em tempo real.

RESULTADOS: Os resultados indicam um perfil de resposta diferente entre a linhagem resistente e a linhagem sensível frente aos tratamentos com MXT e ETO, observado pelo teste de viabilidade e pelos diferentes perfis de ciclo celular e fosforilação de H2AX. A linhagem HL-60/MX2 demonstrou-se mais resistente aos tratamentos do que a linhagem HL-60, porém esse perfil foi mais característico em baixas doses, uma vez que quando exposta a doses maiores a sua viabilidade diminui. Em doses baixas a linhagem resistente não apresenta alteração no seu perfil de ciclo celular, e não sinaliza dano pela fosforilação de H2AX, enquanto a linhagem sensível apresenta acúmulo em G2 e formação de γ H2AX. Em adição, a análise de expressão gênica demonstra, na linhagem resistente, um aumento na expressão de genes da via NER, como ERCC1 mesmo antes dos tratamentos e XPA após os tratamentos. Estes resultados sugerem o envolvimento desta via de reparo de DNA na resistência tumoral da linhagem HL-60/MX2. Entretanto, mais ensaios são necessários para um melhor entendimento de como e quais mecanismos estão conferindo este perfil de resistência aos quimioterápicos testados.

PERSPECTIVAS: Espera-se ainda verificar a contribuição de outras vias de reparo através da metodologia de expressão gênica. Além disso, analisar a expressão das proteínas codificadas pelos genes que se mostrarem diferentes entre as linhagens, por Western Blotting.

APOIO FINANCEIRO: CAPES, CNPq e FAPERGS.