



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Desenvolvimento de resistência à cisplatina em células humanas de adenocarcinoma de pulmão e análise da capacidade de reparo ao dano no DNA causado pela droga
Autor	NATHAN ARAUJO CADORE
Orientador	KARINA MARIANTE MONTEIRO

Desenvolvimento de resistência à cisplatina em células humanas de adenocarcinoma de pulmão e análise da capacidade de reparo ao dano no DNA causado pela droga

Nathan Araujo Cadore, Karina Mariante Monteiro

Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

O câncer de pulmão é o segundo tipo de câncer mais prevalente no mundo e a principal causa de mortes relacionadas ao câncer. A maioria dos pacientes com câncer de pulmão apresenta doença avançada no momento do diagnóstico, desta forma o tratamento padrão consiste na quimioterapia com agentes alquilantes derivados de platina. Porém, a alta incidência de resistência tumoral à cisplatina limita o sucesso do tratamento com essa droga. Portanto, estudos de eventos moleculares envolvidos na resistência à cisplatina em câncer de pulmão podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas quimiossensibilizantes. Sendo assim, o objetivo desse trabalho é o desenvolvimento de modelos celulares sensíveis e resistentes à cisplatina para o estudo dos mecanismos moleculares envolvidos na resistência do câncer de pulmão a esta droga. Para isso, células humanas de adenocarcinoma de pulmão humano da linhagem A549 foram mantidas em meio RPMI 1640 contendo 10% de soro fetal bovino com penicilina-estreptomicina 1X a 37°C em atmosfera umidificada de 5% de CO₂. Essa linhagem foi utilizada como linhagem parental para desenvolvimento de linhagens com resistência adquirida (RA) à cisplatina. A linhagem celular denominada A549-RA foi desenvolvida a partir da exposição das células parentais a concentrações crescentes de cisplatina (0,1, 0,2, 0,3, 0,4 e 0,5 µM) por 72 h cada. Um protocolo simulando o tratamento clínico do câncer de pulmão foi utilizado para o desenvolvimento da linhagem denominada A549-RATC (TC, tratamento clínico). Esse protocolo consistiu na exposição das células parentais a 5 µM de cisplatina por 72 h, seguido de 18 dias em meio completo sem a droga, resultando em um ciclo de 21 dias que foi repetido três vezes. O valor de GI₅₀ (concentração da droga que inibe 50% do crescimento celular) de cada linhagem foi obtido por ensaio de sulforodamina B (SRB). A capacidade de reparo ao dano no DNA causado pela cisplatina foi investigada nas linhagens A549 e A549-RA por ensaio de Reativação da Célula Hospedeira (HCR, Host Cell Reactivation). Para isso, o plasmídeo pGL3 contendo o gene codificador da luciferase foi danificado com diferentes concentrações de cisplatina (0,5, 1, 2 µM) e transfectado nas diferentes linhagens celulares. O ensaio de luminescência foi realizado 24 h após a transfecção utilizando o kit Dual-Glo (Promega). A linhagem celular A549-RA apresentou valor de GI₅₀ 6 vezes maior que o da linhagem parental A549. Porém, a resistência adquirida se mostrou instável, uma vez que o valor de GI₅₀ das células A549-RA diminuiu quatro vezes após 10 dias do fim do tratamento e apresentou valor muito próximo ao das células sensíveis após 32 dias. Com relação a atividade de reparo ao dano no DNA, as células parentais A549 apresentaram menor atividade quando comparadas com as células resistentes A549-RA, sugerindo que o reparo de DNA é possivelmente um dos mecanismos envolvidos na resistência à cisplatina na linhagem A549-RA. Embora a resistência das células A549-RA tenha se mostrado instável, o nível de resistência apresentado sugere um modelo clinicamente relevante. Acredita-se que esses modelos celulares, ao contrário dos modelos com altos níveis de resistência, simulem melhor os mecanismos que ocorrem durante o tratamento clínico do câncer. O protocolo de desenvolvimento da linhagem A549-RATC encontra-se no final do terceiro ciclo de tratamento com cisplatina e o valor de GI₅₀ das células resultantes será avaliado por ensaio de SRB e sua atividade de reparo ao dano no DNA será determinada por HCR. Posteriormente, as linhagens sensíveis e resistentes à cisplatina serão caracterizadas quanto à taxa de migração e apoptose em ensaios de *wound healing* e citometria de fluxo, respectivamente.