

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC

UFRGS
PROPESQ



múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	Desenvolvimento de resistência à cisplatina em células humanas de adenocarcinoma de pulmão e caracterização celular e molecular das linhagens celulares
Autor	NATHAN ARAUJO CADORE
Orientador	KARINA MARIANTE MONTEIRO

Desenvolvimento de resistência à cisplatina em células humanas de adenocarcinoma de pulmão e caracterização celular e molecular das linhagens celulares

Nathan Araujo Cadore, Karina Mariante Monteiro
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 por câncer. O tratamento padrão para pacientes com cancer de pulmão consiste na quimioterapia com agentes alquilantes derivados de platina, como a cisplatina. Porém, a alta incidência de resistência tumoral à cisplatina limita o sucesso do tratamento. Dessa forma, estudos de eventos moleculares envolvidos na resistência à cisplatina em câncer de pulmão podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas quimiossensibilizantes. Sendo assim, esse trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de modelos celulares resistentes à cisplatina para o estudo dos mecanismos moleculares envolvidos na resistência do câncer de pulmão. A linhagem parental de adenocarcinoma de pulmão A549 foi utilizada para o desenvolvimento de duas linhagens resistentes à cisplatina, uma com resistência adquirida (A549-RA) e outra na qual foi mimetizado o tratamento clínico (A549-RATC). A 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. O desenvolvimento da A549-RATC 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 cinco vezes. Para comprovar a resistência das linhagens desenvolvidas, a concentração de cisplatina necessária para inibir 50% do crescimento celular (GI_{50}) de cada linhagem foi avaliada por ensaio de sulforodamina B. A capacidade de reparo ao dano no DNA causado pela cisplatina foi investigada utilizando o ensaio de Reativação pela Célula Hospedeira (HCR). Para isso, o plasmídeo pGL3 contendo o gene codificador da luciferase foi danificado com diferentes concentrações de cisplatina (0,5, 1, 2 μM), transfectado nas diferentes linhagens celulares e a luminescência foi medida após 24 h utilizando o kit Dual-Glo Luciferase Assay System. A taxa de migração das diferentes células foi avaliada por ensaio de *wound healing*. A análise proteômica das linhagens foi realizada a partir da extração e digestão de proteínas pelo método FASP (*Filter Aided Sample Preparation*) e análise dos peptídeos por espectrometria de massas. As linhagens A549-RA e A549-RATC apresentaram, respectivamente, valor médio de GI_{50} de ~ 9 e 7 μM , enquanto as células A549 apresentaram GI_{50} de 2 μM , confirmando a resistência das linhagens desenvolvidas. Os níveis de resistência apresentados sugerem que os modelos gerados são clinicamente relevantes, pois apresentam valores de GI_{50} de 3 a 5 vezes maiores que a linhagem sensível, resultados semelhantes ao de linhagens celulares estabelecidas a partir de células de pacientes antes e depois da quimioterapia. Os ensaios de HCR demonstraram que as células A549-RA possuem atividade de reparo ao dano no DNA significativamente aumentada em comparação com as linhagens A549-RATC e A549. Considerando que a resistência celular à cisplatina é um processo multifatorial, o reparo ao DNA é possivelmente um dos mecanismos envolvidos na resistência à cisplatina das células A549-RA, enquanto outros mecanismos podem estar envolvidos na resistência das células A549-RATC. No ensaio *wound healing*, as células A549 apresentaram maior capacidade de recolonização da região onde foi realizada a ferida em comparação com as células A549-RA e A549-RATC, sendo possível inferir que a capacidade de migração e mobilidade é maior nas células sensíveis do que nas linhagens resistentes. A análise proteômica identificou aproximadamente 120 proteínas em cada linhagem celular analisada, as quais serão comparadas para a identificação de proteínas diferencialmente expressas e potenciais alvos envolvidos nos mecanismos de resistência à cisplatina.