



**Universidade:  
presente!**

**UFRGS**  
PROPEAQ



**XXXI SIC**

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2019
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	DINÂMICA MITOCONDRIAL EM MODELO IN VITRO DE AGRESSIVIDADE DE MELANOMA HUMANO
<b>Autor</b>	CAMILA KEHL DIAS
<b>Orientador</b>	FABIO KLAMT

# DINÂMICA MITOCONDRIAL EM MODELO *IN VITRO* DE AGRESSIVIDADE DE MELANOMA HUMANO

Aluna: Camila Kehl Dias  
Orientador: Prof. Dr. Fábio Klamt  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Introdução:** O câncer se forma a partir do acúmulo de inúmeras mutações em genes específicos, que são selecionadas pelo microambiente tumoral de forma a desenvolver-se em um tumor maligno. Assim, essa massa tumoral é constituída de populações heterogêneas de células com diferentes níveis de adaptações metabólicas; o que dificulta ainda mais estratégias de tratamento e eliminação completa do câncer. A função da rede mitocondrial está altamente relacionada com a sobrevivência de cânceres; quando inibida a fosforilação oxidativa, se observa um efeito citotóxico em melanomas. Mitocôndrias em rede podem ser mais efetivas na produção de ATP; já a fragmentação mitocondrial está relacionada ao aumento de mitofagia. Assim, além do metabolismo, a morfologia e dinâmica mitocondriais são fatores que devem ser estudados e explorados em tumores. A linhagem A375 de melanoma maligno humano foi transfectada com cDNA de catalase no vetor pCDNA3 dando origem às linhagens A7 e G10, e à linhagem PCDNA3 transfectada com o vetor vazio. A linhagem A7 apresenta mais características benignas e fenótipo mais glicolítico, enquanto a linhagem G10 apresenta mais características malignas e fenótipo mais oxidativo. Além disso, a linhagem G10 apresentou maior nível de desdiferenciação, maior capacidade de migração. Sendo assim, esse modelo foi utilizado para estudar a dinâmica mitocondrial de acordo com fenótipo de diferentes agressividades de melanoma.

**Materiais e Métodos:** As linhagens A375, PCDNA3, A7 e G10 foram mantidas em meio DMEM/F12 suplementado com ácido ascórbico, ácido pirúvico, galactose e insulina em estufa à 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. A dinâmica mitocondrial foi determinada por métodos morfométricos (*Mitogenie software*) e por citometria de fluxo de células incubadas com *Mitotracker Red* e *Mitotracker Green*. *Western blot* será realizado com amostras de cada linhagem para avaliar o imunoconteúdo de proteínas de fissão (Drp1, Mfn1, Mfn2) e fusão mitocondrial (Fis1, Opa1). Taxa respiratória foi modulada com KCN e FCCP para inibir e aumentar, respectivamente, em 50% a respiração mitocondrial, por Oximetria de Alta Resolução. A expressão dos genes das proteínas de fissão e fusão será avaliada por *Real Time PCR*, nas condições basal, respiração mitocondrial modulada em 50% a mais e a menos.

**Resultados:** A concentração média de KCN que inibe a respiração mitocondrial em 50% para as linhagens de melanoma é de 0.8585 mM. A concentração média de FCCP que aumenta a respiração mitocondrial em 50% por sua vez é de 0.1 µM. Resultados preliminares indicam que

**Conclusão:** Foi possível obter concentrações de KCN e FCCP que modulem a respiração mitocondrial. Além disso, foi possível obter amostras de cada linhagem para o ensaio de *Western blot* e amostras basais e de respiração mitocondrial moduladas com KCN e FCCP para realizar o ensaio de RT-PCR. Foi possível obter as imagens em microscópio confocal da rede mitocondrial de todas as linhagens. Resultados preliminares indicam que a linhagem G10 apresenta diferença na razão das fluorescências de *Mitotracker Red* e *Mitotracker Green*. Além disso foi possível identificar diferenças no imunoconteúdo das proteínas de fissão e fusão mitocondriais.

**Perspectivas:** Quantificar o imunoconteúdo das proteínas de fissão e fusão mitocondriais. Analisar diferenças na expressão gênica dos genes das mesmas proteínas de fissão e fusão mitocondrial. Aplicar a análise do *software Mitogenie* nas imagens em microscópio confocal com a sonda *Mitotracker Red*.