



AVALIAÇÃO DO EFEITO GENOTÓXICO DA TEMOZOLAMIDA E DEMETOXICURCUMINA EM LINHAGEM DE GLIOBLASTOMA MULTIFORME HUMANO U87MG

Anderson Gottens
Felipe Umpierre Conter
Rafael Rodrigues Dihl
Ivana Grivicich

PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, ULBRA

INTRODUÇÃO

O glioblastoma multiforme (GBM) é um tumor do sistema nervoso central, representando o tipo mais comum de tumores gliais, com alta taxa de malignidade. Ademais, essa patologia se apresenta comumente por dores de cabeça, déficit neurológico e fraqueza. Exames de imagem são o método de diagnóstico escolhido, apesar do GBM não apresentar na maioria dos casos margens claramente definidas. O tratamento de escolha do GBM é a ressecção cirúrgica aliada à radioterapia e ao tratamento adjuvante com o quimioterápico Temozolamida (TMZ), esses dois últimos agindo basicamente pela lesão ao DNA das células. No entanto, os danos no DNA podem ser revertidos pelos mecanismos de reparo de excisão de nucleotídeos (NER) e por excisão de bases (BER), responsáveis pela manutenção da célula e associado a resistência tumoral ao tratamento. Para melhor compreender a resistência tumoral, algumas estratégias utilizam compostos naturais, como a Demetoxicurcumina (DMC), previamente descrita como um composto que induz a morte celular em linhagens de câncer.

OBJETIVOS

O objetivo do trabalho foi determinar a genotoxicidade de TMZ aliado à DMC pelo Ensaio Cometa.

METODOLOGIA

A linhagem de GBM U-87MG, foi mantida em meio de cultivo completo composto por meio DMEM + 15 % soro fetal bovino, em incubadora com 5% de CO₂ e 95% de umidade. Para o Ensaio Cometa, as células foram semeadas em placas de 24 poços, a uma concentração de 1X10⁵ células por poço. A linhagem U87MG recebeu tratamento com TMZ IC₅₀, DMC IC₅₀, TMZ IC₅₀ + DMC IC₅₀ e o controle positivo com H₂O₂. As células a serem analisadas foram homogeneizadas em gel de agarose de baixo ponto de fusão, distribuídas sobre lâminas de vidro. As lâminas, foram mergulhadas em solução de lise e submetidas a um campo elétrico que induz a migração de fragmentos livres de DNA para fora do núcleo. Após a eletroforese em condições alcalinas (pH>13), as lâminas foram coradas com brometo de etídio e os núcleos das células portadoras de quebras de DNA foram visualizadas sob a forma de um cometa. O parâmetro utilizado para a avaliação de danos será a porcentagem de DNA na cauda (*Tail Intensity*).

RESULTADOS

A análise de genotoxicidade permitiu observar uma diferença significativa de todos os tratamentos em relação ao controle negativo (figura 1), nos primeiros tempos (0h e 2h). No entanto, a partir de 12 horas do tempo de recuperação, o tratamento com TMZ demonstrou resultados semelhantes ao controle negativo, demonstrando a presença de algum mecanismo de reparo ativo atuando após esse período. Tratamentos que incorporaram a DMC mantiveram-se diferentes do controle negativo em todos os tempos. A DMC atua de forma a induzir a apoptose modulando a proteína P53 e bloqueando a ação de proteínas chaves para o processo de reparo ao DNA, como PARP1 e PCNA.

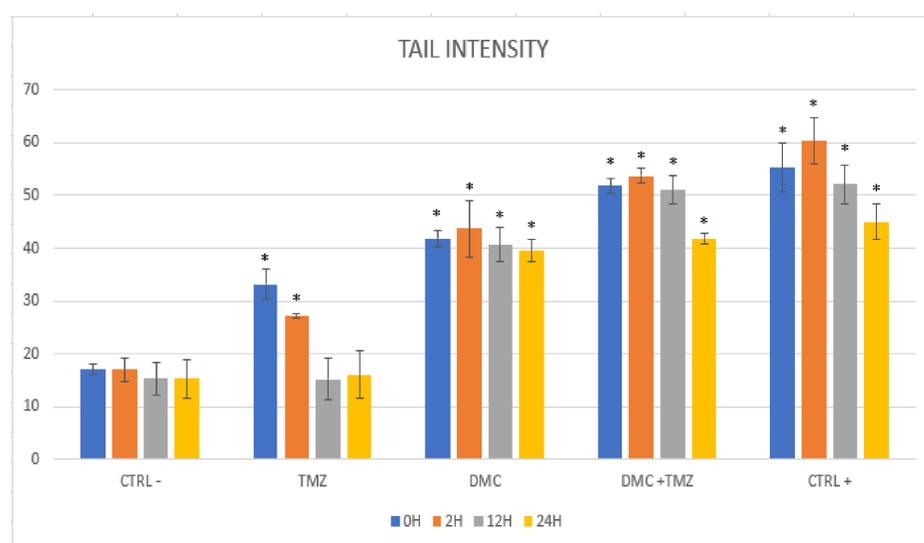


Figura 1: Resultados da avaliação de genotoxicidade por ensaio cometa, representando a quantidade de DNA presente na cauda do cometa. *Estatisticamente diferente do controle negativo, p <0,05 .

CONCLUSÃO

Estes resultados permitem observarmos a manutenção do dano ao DNA em função do tratamento com DMC, quando comparado ao quimioterápico isolado, demonstrando o bloqueio de mecanismos de reparação ativos na linhagem celular U87MG

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dresemann G. Temozolomide in malignant glioma. *Onco Targets Ther.* 2010;3:139-46
Hart MG, Garside R, Rogers G, Stein K, Grant R. Temozolomide for high grade glioma. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;4:1-18
INCA- Instituto Nacional do Câncer. Disponível em <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/estimativa-24042014.pdf>>. Acesso em maio, 2018.