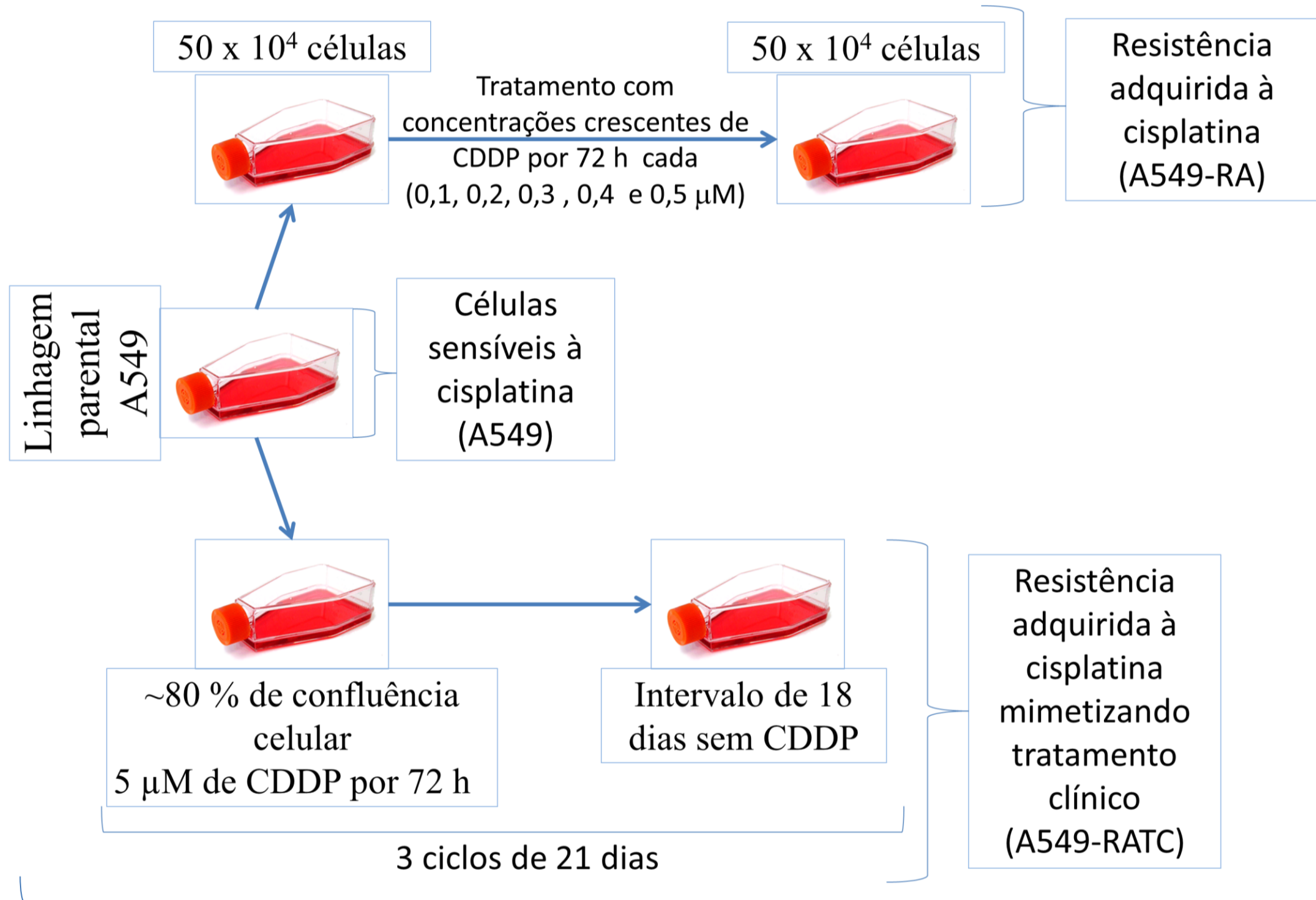


Introdução

Câncer de pulmão é o segundo tipo de câncer mais prevalente no mundo e a principal causa de mortes relacionadas ao câncer, com a maioria dos pacientes apresentando a doença avançada no momento do diagnóstico¹. O tratamento padrão da doença avançada consiste na quimioterapia com agentes alquilantes derivados de platina, sendo a cisplatina (CDDP) o mais comumente utilizado. Contudo, a alta incidência de resistência tumoral à cisplatina limita o sucesso do tratamento com essa droga². Portanto, estudos de processos moleculares envolvidos na resistência à cisplatina em câncer de pulmão podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais efetivas. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é o cultivo e desenvolvimento de modelos celulares sensíveis e resistentes à cisplatina para o estudo dos mecanismos moleculares envolvidos na resistência à droga no câncer de pulmão.

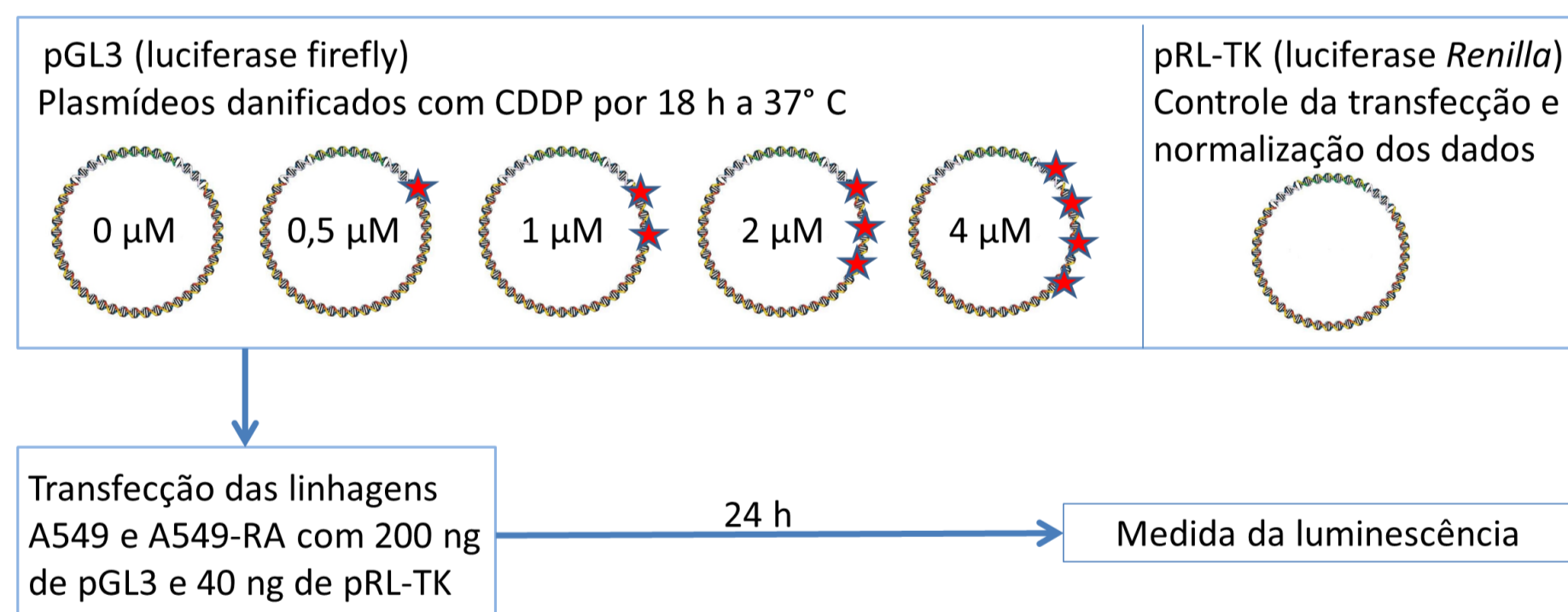
Metodologia

- As linhagens celulares foram mantidas em meio RPMI 1640 contendo 10% de soro fetal bovino com penicilina-estreptomicina 1X a 37°C e 5% de CO₂.



- Ensaio de Sulforodamina B (SRB)³: Análise de citotoxicidade da cisplatina. A partir do ensaio de SRB é obtido o valor da concentração de cisplatina para inibição de 50% do crescimento celular (GI₅₀).

- Ensaio de Reativação pela Célula Hospedeira⁴ (HCR, Host Cell Reactivation).



Resultados e discussão

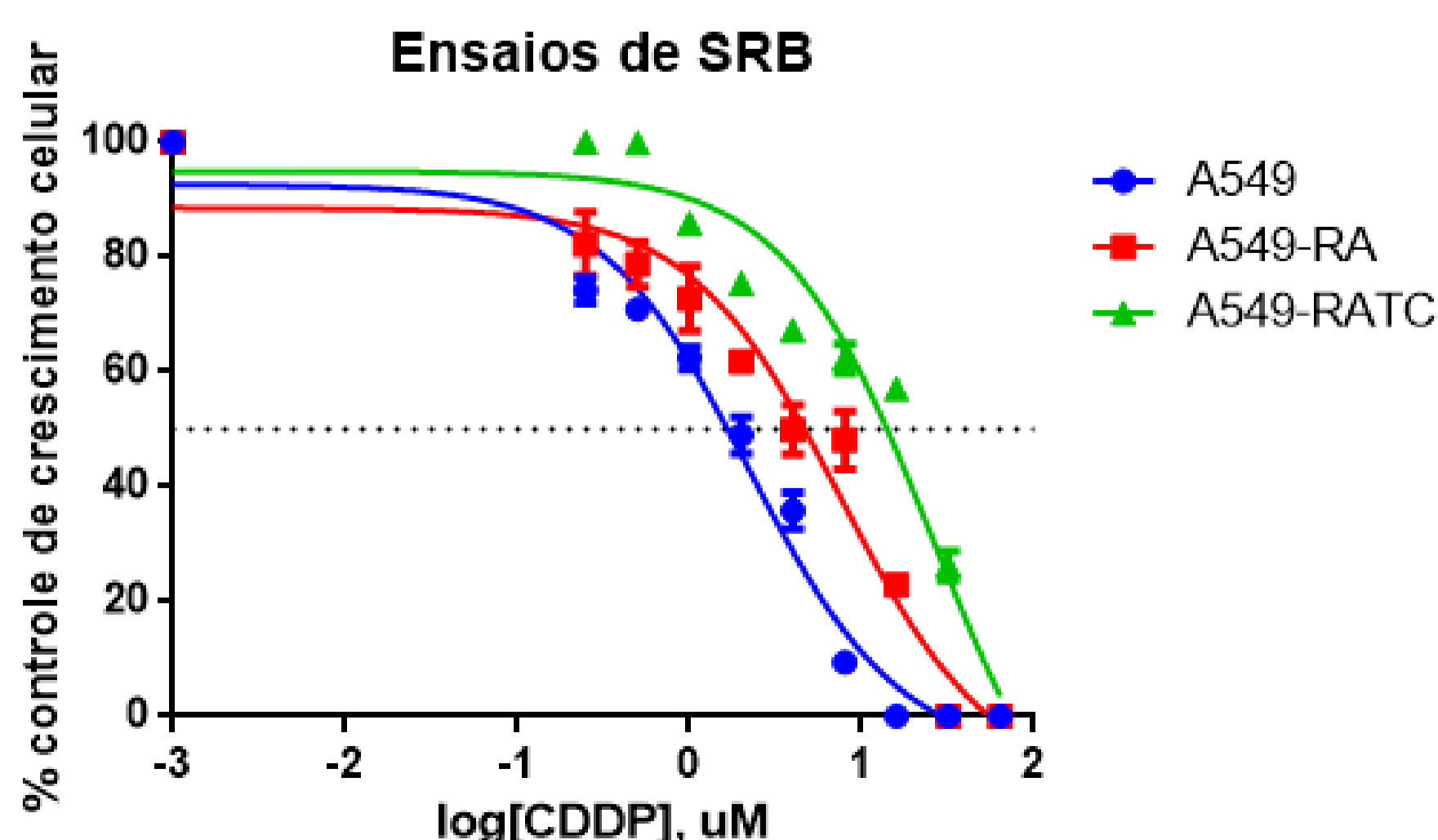


Figura 1: Ensaio de SRB com as linhagens A549, A549-RA e A549-RATC. Curvas do ensaio de SRB das linhagens celulares A549 (GI₅₀ = 2,233), A549-RA (GI₅₀ = 7,507) e A549-RATC (GI₅₀ = 26,43).

As linhagens celulares A549-RA e A549-RATC apresentaram valores de GI₅₀ aproximadamente 3 e 13 vezes maiores que o da linhagem parental A549, respectivamente. No entanto, as resistências se mostraram instáveis, diminuindo ao longo do tempo. Os protocolos utilizados para o desenvolvimento das linhagens resistentes e os níveis de resistência obtidos sugerem modelos clinicamente relevantes. Acredita-se que esses modelos celulares possam simular os mecanismos que ocorrem durante o tratamento clínico do câncer⁵.

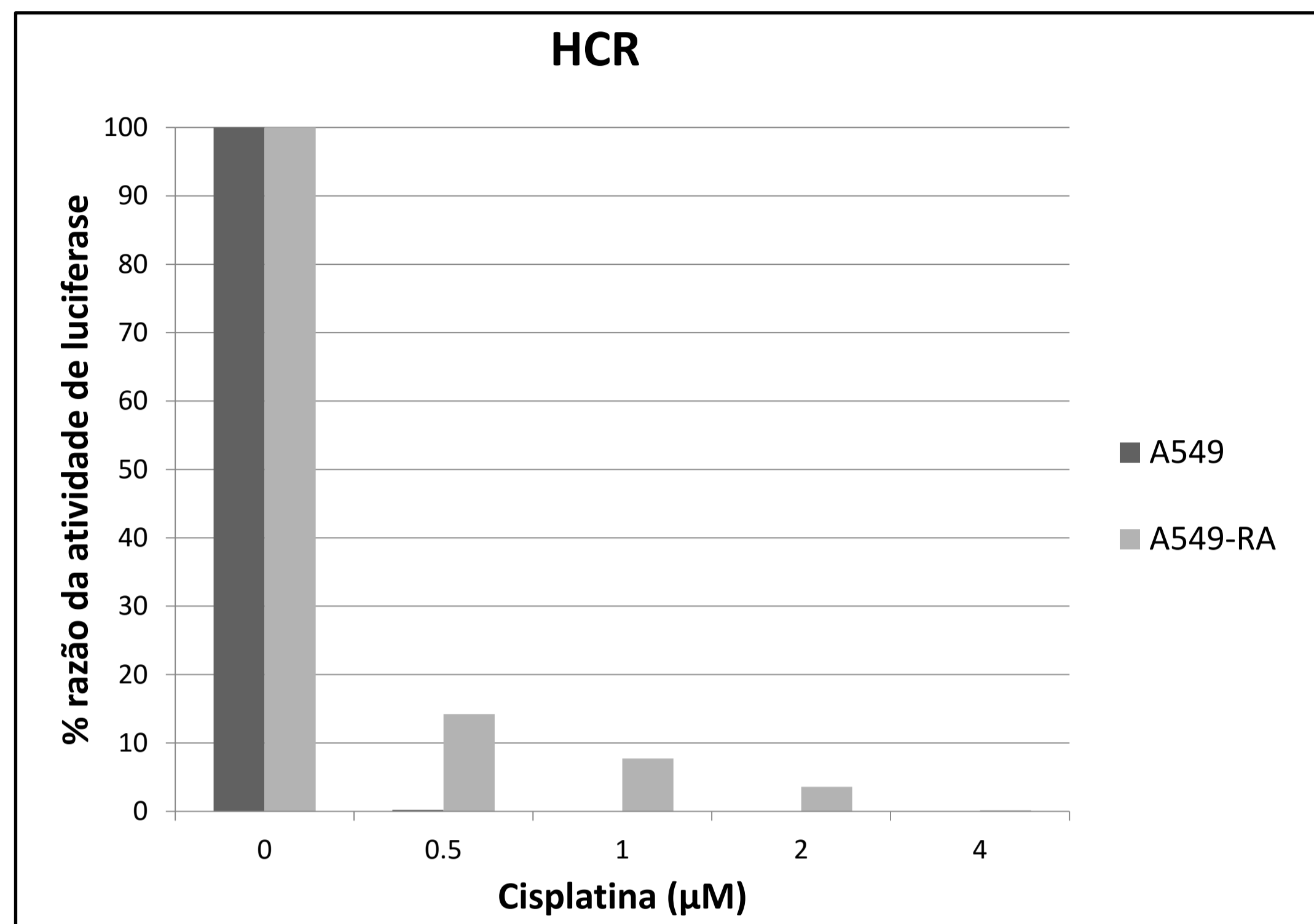


Figura 3: Taxas de atividade de reparo do DNA das linhagens A549 e A549-RA. Comparação da atividade de luciferase nas linhagens A549 e A549-RA a partir dos dados obtidos nos ensaios de HCR.

Os resultados do ensaio de HCR indicaram que as células parentais A549 apresentam menores níveis de atividade de luciferase, sugerindo menor capacidade de reparo ao dano no DNA quando comparadas com as células resistentes A549-RA nas concentrações de cisplatina testadas. Esse resultado sugere que o reparo de DNA é um mecanismo possivelmente envolvido na resistência à cisplatina da linhagem celular A549-RA desenvolvida nesse trabalho. É possível que a prévia exposição à cisplatina durante o desenvolvimento das células A549-RA tenha ativado diversos mecanismos de reparo no DNA e, como consequência, essas células apresentaram maior atividade de reparo ao dano no DNA no ensaio de HCR⁶.

Perspectivas

- Ensaio de HCR com a linhagem A549-RATC;
- Caracterização das linhagens celulares sensíveis e resistentes à cisplatina quanto a taxa de migração em ensaios de *wound healing*;
- Comparação da taxa de apoptose das linhagens celulares A549, A549-RA e A549-RATC por citometria de fluxo.

Referências

- JEMAL, A. *et al.* Global cancer statistics. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 61, n. 2, p. 69–90, Mar-Abr. 2011.
- KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. **Nature reviews. Cancer**, v. 7, n. 8, p. 573–84, ago. 2007.
- VICHAJ, V.; KIRTIKARA, K. Sulfurhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. **Nature protocols**, v. 1, n. 3, p. 1112–6, 2006.
- TAN, X. *et al.* miR-671-5p inhibits epithelial-to-mesenchymal transition by downregulating FOXM1 expression in breast cancer. **Oncotarget**, v. 1, n. 1, p. 293–307, 1 maio 2010.
- MCDERMOTT, M. *et al.* In vitro Development of Chemotherapy and Targeted Therapy Drug-Resistant Cancer Cell Lines: A Practical Guide with Case Studies. **Frontiers in oncology**, v. 4, p. 40, 2014.
- FLOREA, A.-M.; BÜSSELBERG, D. Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects. **Cancers**, v. 3, n. 4, p. 1351–1371, 15 mar. 2011.