

Diminuição dos níveis de NFκB em NEUROBLASTOMA SH-SY5Y HUMANA DIFERENCIADA por tratamento com ácido retinóico

Centro de Estudos em Estresse Oxidativo, Departamento de Bioquímica
Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, Brasil.

Ivi Juliana Bristot, Steven Richard Niedermeier, Matheus Augusto Bittencourt Pasquali, Rafael Schröder, Daniel Pens Gelain, José Cláudio Fonseca Moreira



Centro de Estudos em Estresse Oxidativo

Introdução

Neuroblastoma é um tipo raro de câncer do sistema nervoso simpático, sendo o câncer mais comum na infância. Sabendo que o aumento da expressão de NF-κβ causa resistência do câncer à agentes quimioterápicos, o uso de um inibidor irá aumentar a eficácia do tratamento. O Objetivo desse trabalho é:

- Determinar o imunocontéudo nuclear de p65 nas células SH-SY5Y proliferativa e indiferenciada;
- Investigar o papel de NF-κβ na resistência de células SH-SY5Y proliferativas e diferenciadas quando desafiadas por H₂O₂.

Material e Métodos

Cultura de células

As células foram incubadas em 5% de CO₂ à 37 °C;

Células proliferativas – mantidas em meio DEMEM:F12 (1:1) com 10% de SFB;

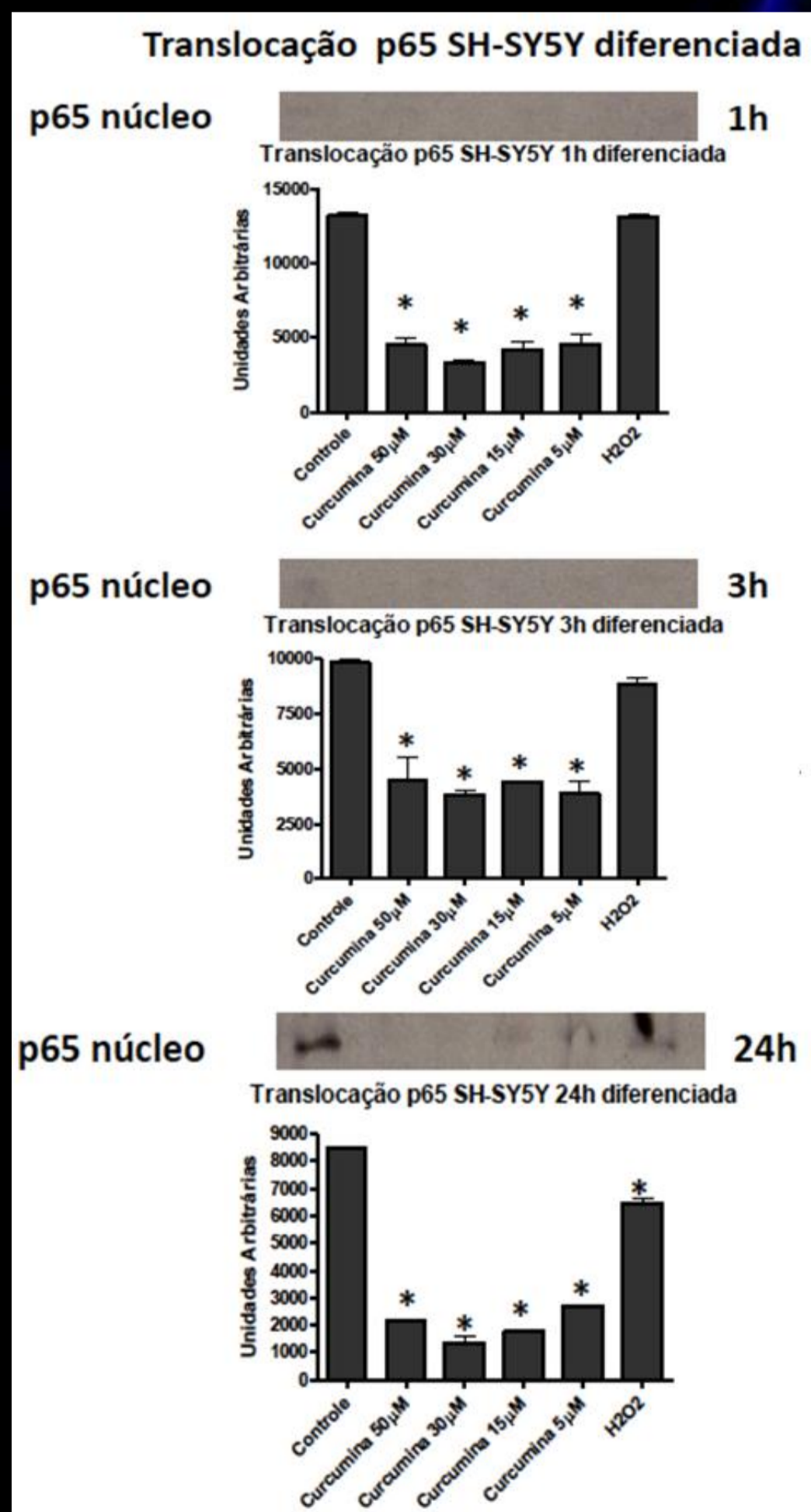
Células Diferenciadas – diferenciação celular: após 24 horas no meio DEMEM:F12 (1:1) com 10% de SFB → o soro foi reduzido para 1% e foi adicionado 10μM de AR (esse meio foi trocado a cada 3 dias);
Tratamentos : (1) controle, (2) apenas 0,1 mM de H₂O₂, (3) 0,1 mM de H₂O₂ mais curcumina nas concentrações: 5 μM, 15 μM, 30 μM, 50 μM.

MTT- ensaio para a quantificação de viabilidade celular

Western Blot –determinação do imunocontéudo de p65 (uma das subunidades do NF-κβ)

Resultados

Imunocontéudo de p65 da SH-SY5Y Proliferativa (Western Blot)



Imunocontéudo de p65 da SH-SY5Y Diferenciada (Western Blot)

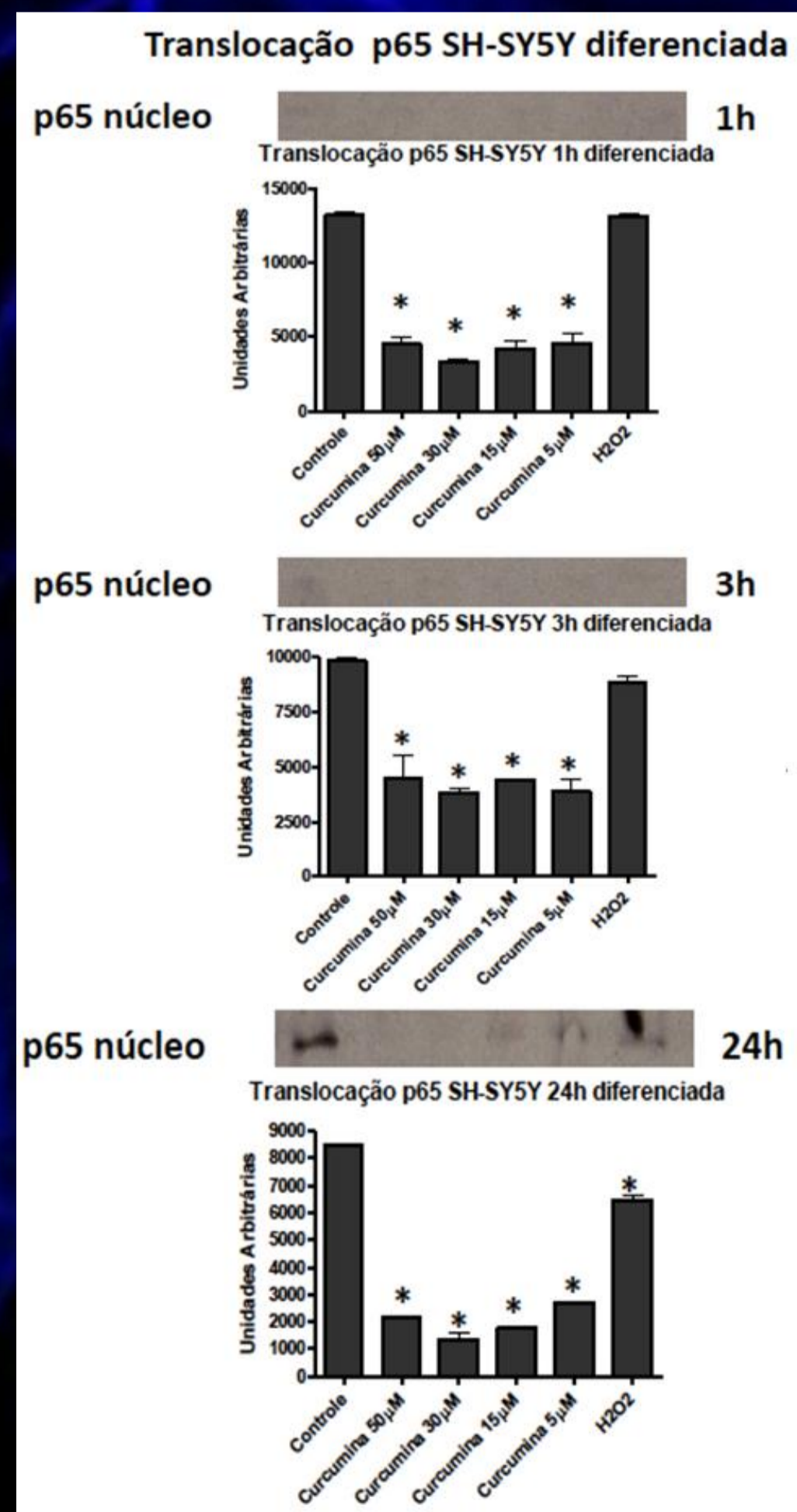
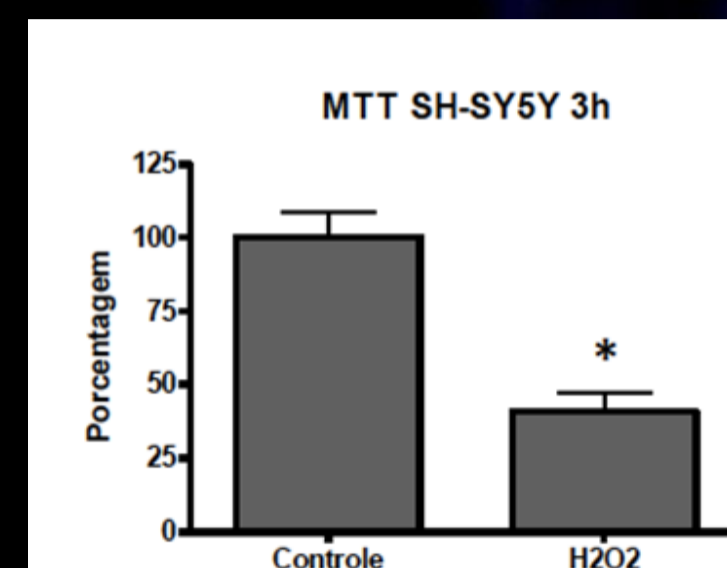


FIG 1. Imunocontéudo do p65 da SH-SY5Y Proliferativa e Diferenciadas. As células foram incubadas por 1, 3, e 24 h com as concentrações da curcumina variadas de 5 – 50 μM, e uma amostra separada tratada com 0,1 mM do H₂O₂. Depois a incubação, os núcleos das células foram isolados e estas amostras foram corridas na eletroforese. Considerado estatisticamente diferente do valor de controle quando p < 0.05 (one-way ANOVA seguido de Duncan's post hoc test).

Viabilidade da SH-SY5Y Proliferativa com H₂O₂ após 3 horas



Viabilidade da SH-SY5Y Diferenciadas com H₂O₂ após 3 horas

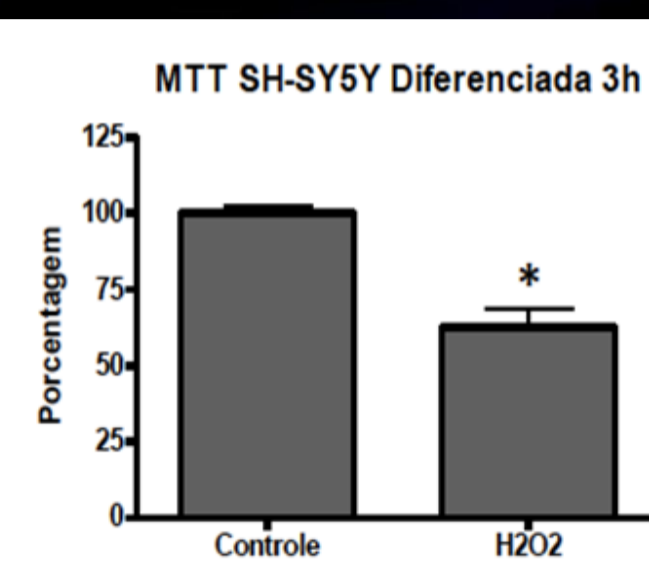
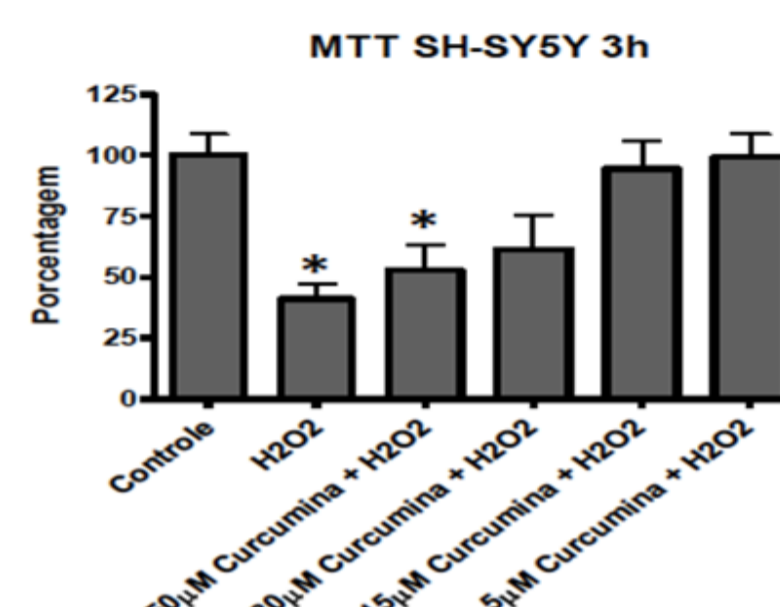
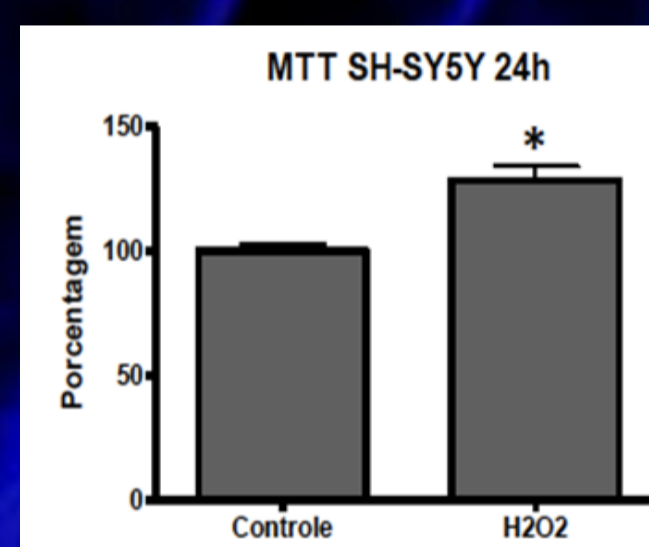


FIG 2: Viabilidade da SH-SY5Y Proliferativa com a Curcumina variadas de 5 – 50 μM e Peróxido de Hidrogênio e Diferenciada e Peróxido de Hidrogênio. As células foram incubadas por 3 h com os tratamentos e a viabilidade celular foi observada com um ensaio de MTT Considerado estatisticamente diferente do valor de controle quando p < 0.05 (one-way ANOVA seguido de Duncan's post hoc test).



Viabilidade da SH-SY5Y Proliferativa com H₂O₂ após 24 h



Viabilidade da SH-SY5Y Diferenciada com H₂O₂ após 24 h

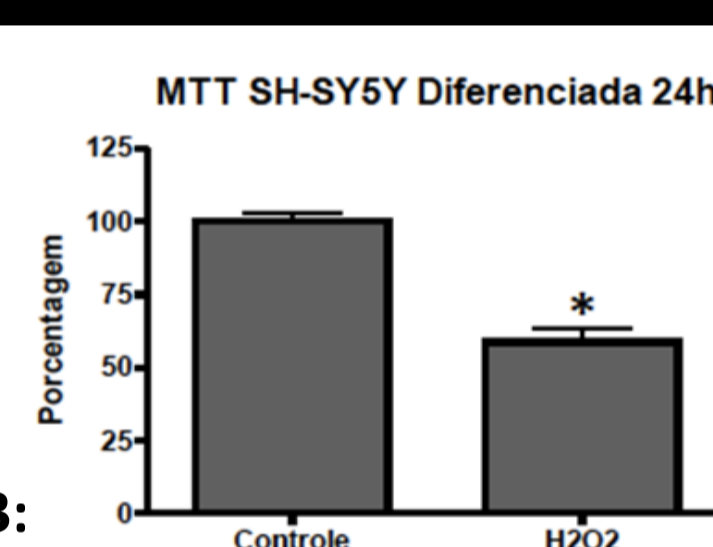
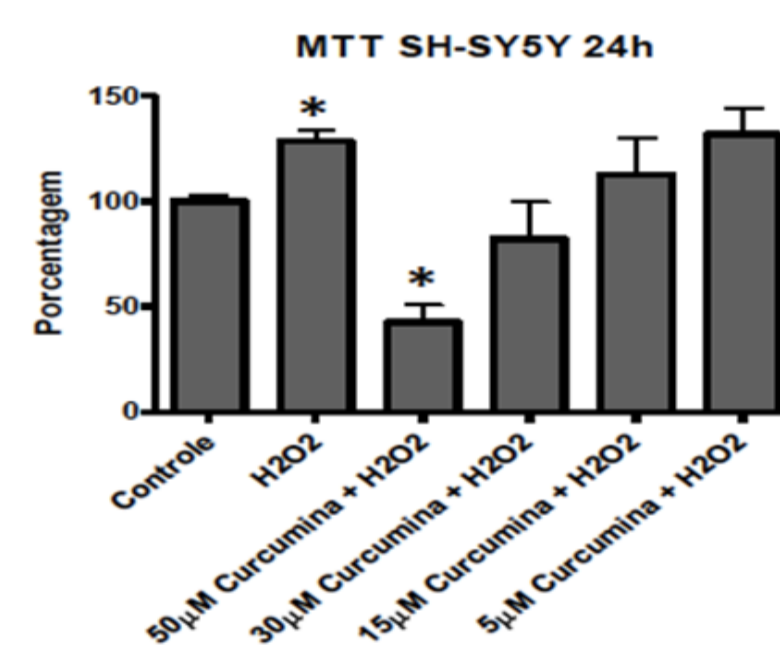


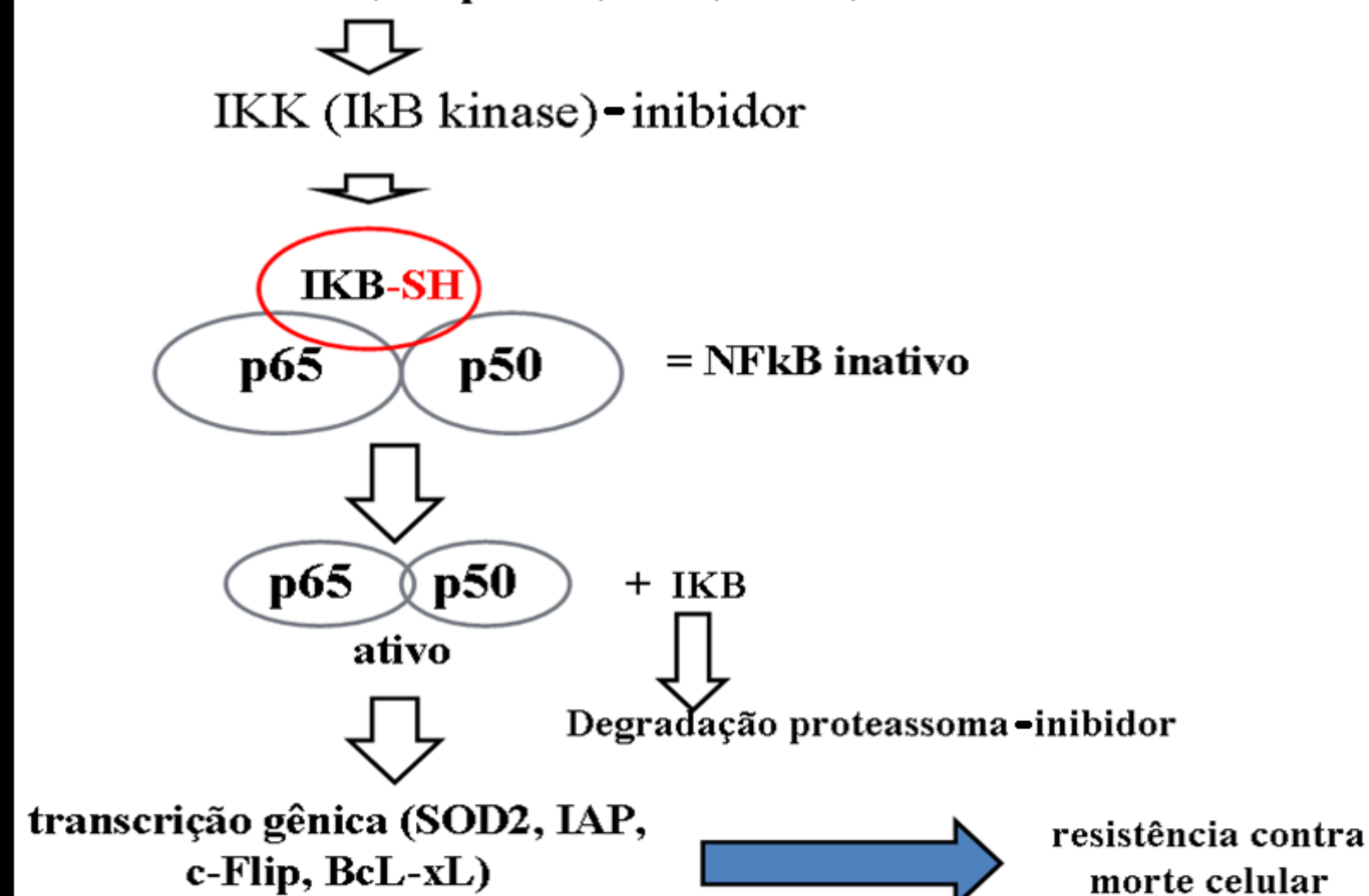
FIG 3: Viabilidade da SH-SY5Y Proliferativa com a Curcumina variadas de 5 – 50 μM e Peróxido de Hidrogênio e Diferenciada e Peróxido de Hidrogênio. As células foram incubadas por 24 h com os tratamentos e a viabilidade celular foi observada com um ensaio de MTT Considerado estatisticamente diferente do valor de controle quando p < 0.05 (one-way ANOVA seguido de Duncan's post hoc test).



Conclusão

- A redução na expressão de NF-κβ pode estar ligada ao processo de diferenciação;
- A inibição de NF-κβ pode ser uma boa estratégia no controle dos neuroblastomas;

Doxorubicina, Cisplatina, TNF, Taxol, estresse oxidativo



Suporte financeiro:

