



TEMOZOLOMIDA INDUZ CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE NA LINHAGEM CELULAR U87MG

Gabriel Beilfuss Rieth¹, Felipe Umpierre Conter¹, Rafael Rodrigues Dhl², Ivana Grivicich¹

¹ Laboratório de Biologia do Câncer, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS, Brasil; ² Laboratório de Análise Toxicó-Genética Celular, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde, Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS, Brasil

INTRODUÇÃO

O INCA estimou para 2018 uma taxa bruta de 5,62/100 mil homens e 5,17/100 mil mulheres casos de neoplasia do Sistema Nervoso Central (SNC). Os glioblastomas multiformes (GBM) são as formas mais comuns e letais das neoplasias do SNC. A ressecção cirúrgica é a terapia de escolha, seguida por radioterapia. Contudo, GBM têm radiorresistência intrínseca. Logo, justifica-se o emprego de agentes quimioterápicos associados.

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos citotóxicos, agudo e tardio, e os genotóxicos, bem como o envolvimento do sistema de reparo por excisão de bases (BER) da Temozolomida (TMZ) *in vitro*.

METODOLOGIA

Utilizou-se a linhagem de GBM U87MG, mantida em meio DMEM completo, em condições adequadas de cultivo.

A citotoxicidade aguda foi avaliada pelo ensaio da Sulforodamida B (SRB) no intuito de obter o valor do IC₅₀.

Para a avaliação da citotoxicidade tardi, utilizou-se o ensaio de formação de colônias. Os resultados foram expressos como fração de sobrevivência (FS).

A genotoxicidade foi avaliada pelo ensaio cometa versão alcalina e o parâmetro para a avaliação de danos foi a porcentagem de DNA na cauda (*tail intensity*). Para avaliar o envolvimento do BER, realizamos este ensaio na presença do inibidor de BER, metoxiamina (MTX).

RESULTADOS

A avaliação da citotoxicidade pelo ensaio da SRB revelou, após 72 horas de tratamento, um IC₅₀ calculado em 355 µM (Figura 1).

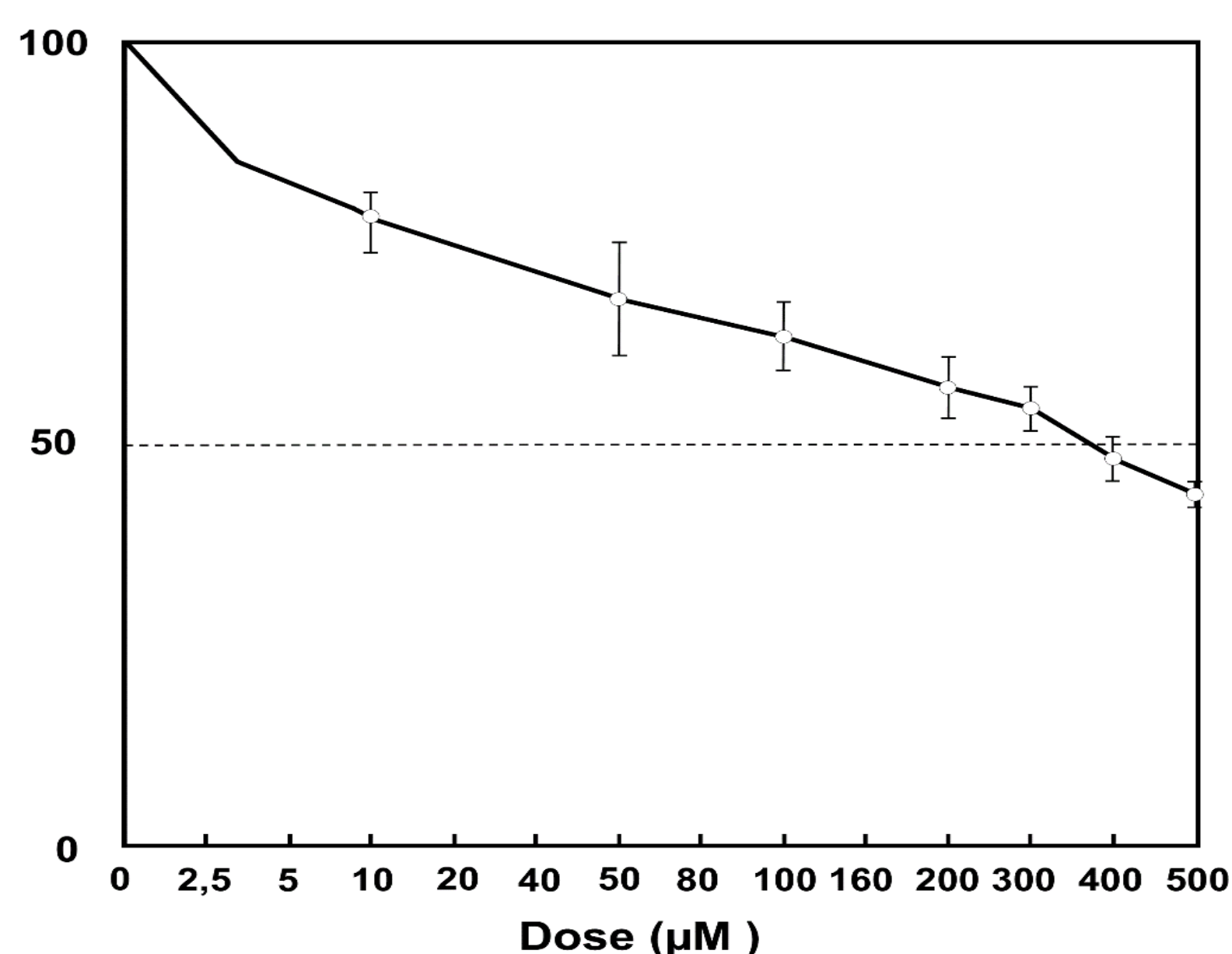


Figura 1: Inibição do crescimento da linhagem celular de glioblastoma multiforme humano U87MG pela exposição ao TMZ por 24 h.

Em relação ao dano tardio no DNA, evidenciou-se que a fração de células sobreviventes tratadas com TMZ IC₂₀ e TMZ IC₅₀ foi, respectivamente e aproximadamente, 45% e 20%, sendo que não houve células sobreviventes com o tratamento por TMZ IC₇₀ (Figura 2).

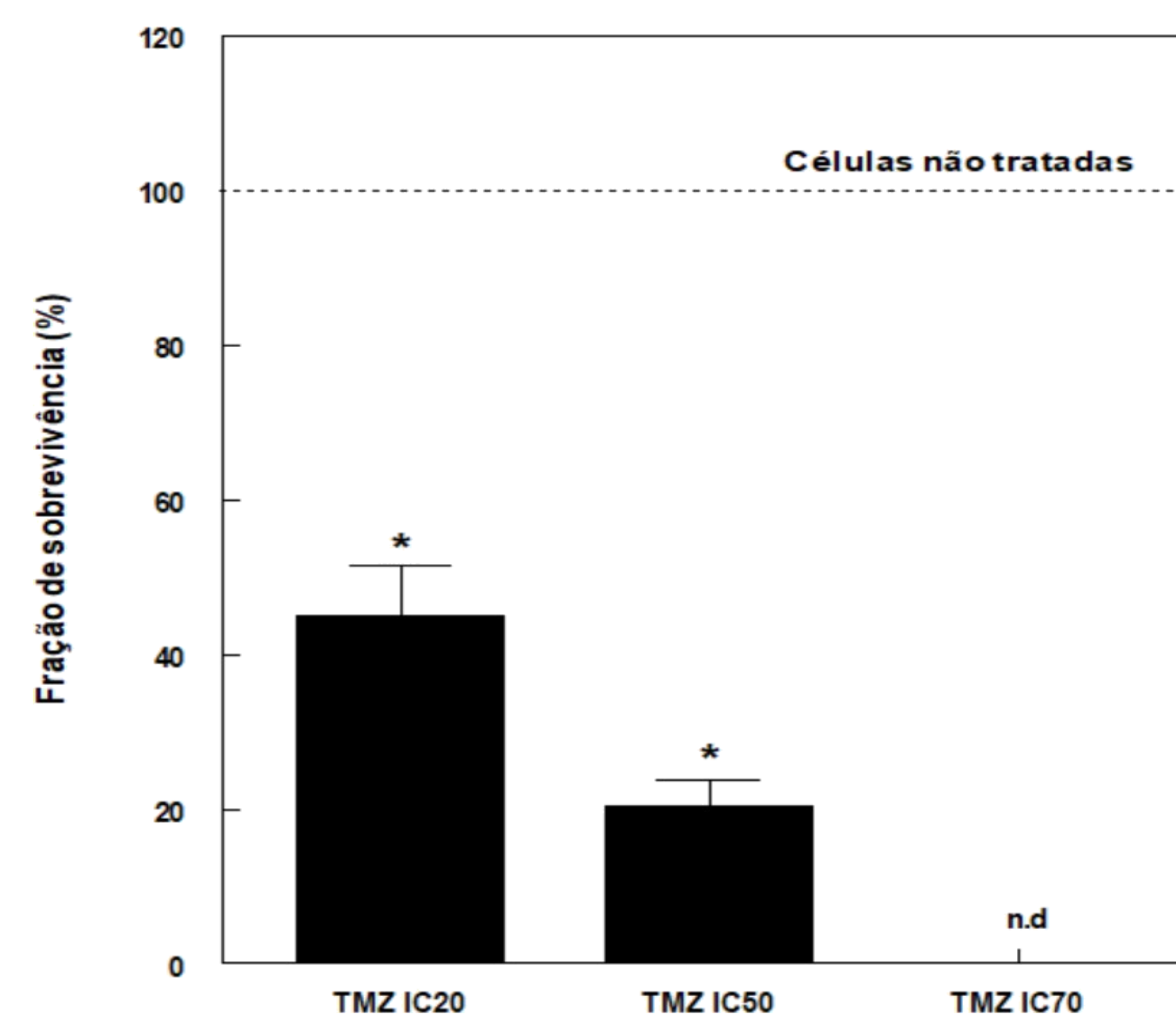


Figura 2: Fração de sobrevivência (%) da linhagem de GBM U87MG após tratamento com IC₂₀, IC₅₀ e IC₇₀ de TMZ.

A quantidade de DNA presente na cauda do cometa (*tail intensity*) denota que houve diferença significativa entre TMZ (BER ativo) e TMZ (BER inativo), mostrando que o mecanismo por reparo de base está envolvido no reparo do dano causado pela TMZ no DNA (Figura 3).

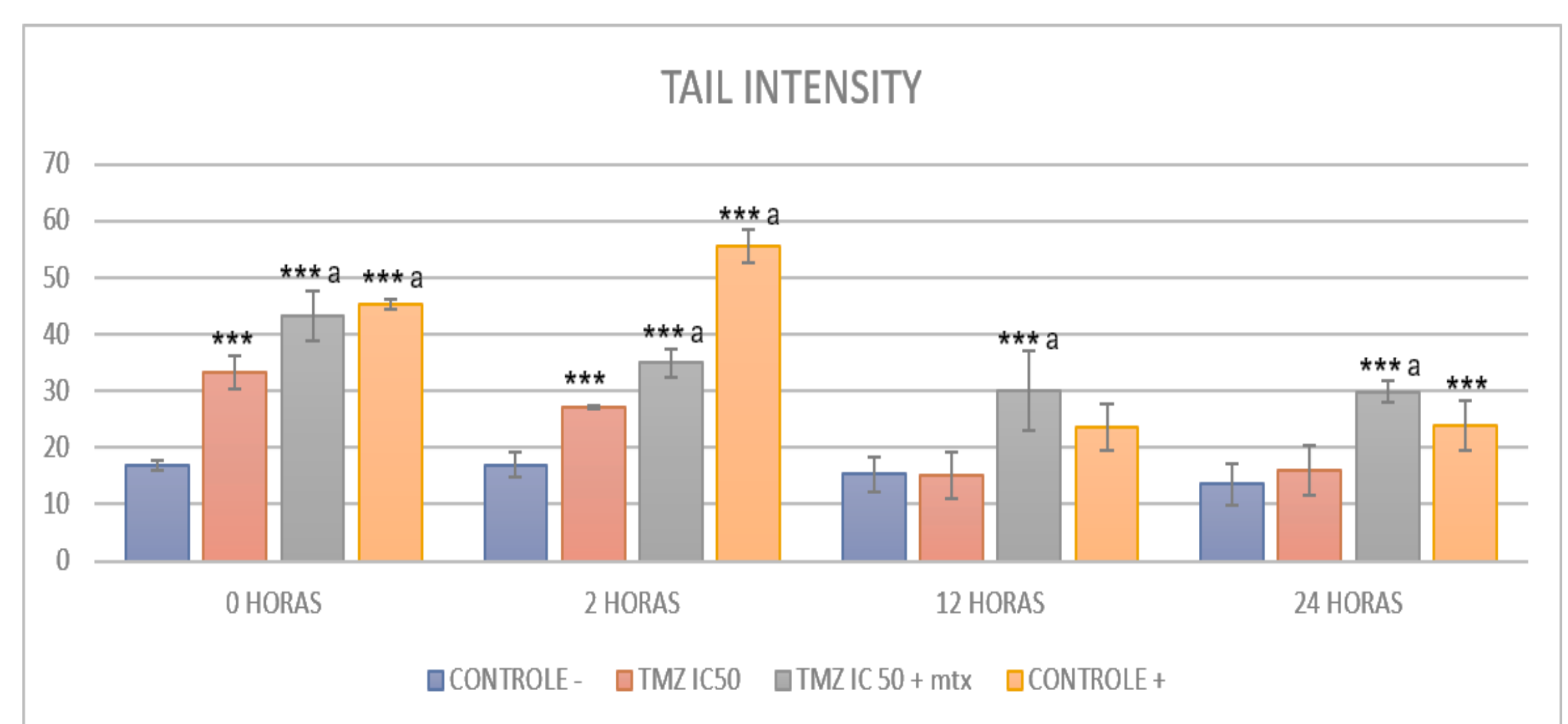


Figura 3: Relação entre os tratamentos em função do tempo para o parâmetro de *tail intensity* para determinar a genotoxicidade por cometa alcalino.*** Estatisticamente diferente do controle - ($p < 0,05$); ^a Estatisticamente diferente do tratamento com TMZ isolado ($p < 0,05$).

CONCLUSÕES

O tratamento com TMZ exerceu um efeito citotóxico agudo e tardio, dose dependente sobre a linhagem de GBM U87MG. A genotoxicidade comprovou que a metilação realizada pela TMZ desencadeia o mecanismo de reparo por excisão de bases.

REFERÊNCIAS

- AKBARNEJAD, Z., et al. Cytotoxicity of temozolomide on human glioblastoma cells is enhanced by the concomitant exposure to an extremely low-frequency electromagnetic field (100Hz, 100G). *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 92, p. 254-264, 2017
- INCA- Instituto Nacional de Câncer. Disponível em <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/estimativa-24042014.pdf>>. Acesso em maio, 2018.
- GOELLNER, E.M., et al. Overcoming temozolomide resistance in glioblastoma via dual inhibition of NAD⁺ biosynthesis and base excision repair. *Cancer Research*, v. 71, p. 2308-2317, 2011.