

Danos oxidativos e estudo do reparo de DNA por excisão de nucleotídeos (NER) na indução de lesões induzidas pela doxorubicina em fibroblastos humanos

MILANO L¹, GUECHEVA T¹, SAFFI J^{1,2}

¹Departamento de Biofísica, UFRGS, Porto Alegre – RS

²Departamento de Ciências Básicas da Saúde, UFCSPA, Porto Alegre – RS

A droga antitumoral doxorubicina (DOX), tem como mecanismo de ação interação com a enzima Topoisomerase II, alquilações e induções de pontes no DNA, bem como formação de radicais livres dentro da célula. Lesões induzidas por estes agentes, são geralmente removidas pelo reparo por excisão de nucleotídeos (NER). O objetivo desse trabalho é avaliar indução e reparo de danos oxidativos no DNA de linhagens de fibroblastos humanos proficientes (MRC5) e deficientes (XPD) em NER após tratamento com DOX. A cinética de reparo do dano induzido no DNA foi avaliada em teste cometa após tratamento de 3h seguido por de 3, 24 e 48 horas de pós-incubação. Os danos oxidativos no DNA foram avaliados com o teste cometa modificado com enzimas específicas FPG e ENDO III, que aumentam a sensibilidade do teste. Após os tratamentos, a formação de radicais livres foi avaliada em microscópio de fluorescência mediante incubação com dicloro-dihidro-fluoresceína diacetato (DCF-DA). O tratamento induziu a formação de radicais livres nas duas linhagens celulares, XPD e MRC5, apenas na dose mais elevada (0.6 µg/mL). Os resultados do ensaio cometa revelaram aumento na migração do DNA, indicando a formação de quebras, de forma dose-dependente. Entretanto, não foi observada diferença significativa entre as células proficientes e deficientes em NER na indução de dano oxidativo ou na cinética de reparo do dano induzido por DOX, sugerindo que a indução de estresse oxidativo não é o principal fator responsável pela sensibilidade aumentada das células deficientes em XPD a DOX. Apoio financeiro: FAPERGS, CAPES e CNPq.