



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Padronização de método para visualização e quantificação de rods de actina/cofilina-1 em adenocarcinoma humano de pulmão A549
Autor	CAROLINA PILETTI CHATAIN
Orientador	FABIO KLAMT

Introdução: A cofilina-1 é uma proteína que regula a polimerização e despolimerização dos filamentos de actina, apresentando um importante papel em diversos processos celulares, tais como migração e divisão. Quando muito ativa, ela pode se acumular juntamente com actina e formar inclusões em forma de bastão (*rods* de actina/cofilina-1). Essas estruturas vêm sendo extensivamente estudadas na área de neurociência, uma vez que parecem estar relacionadas com a iniciação e a progressão das doenças de Alzheimer, Parkinson e Huntington. Além de células nervosas, estudos demonstraram que esses aglomerados protéicos também podem ser encontrados em outros tecidos. Entretanto, os efeitos decorrentes da existência de *rods* nesses tipos celulares nunca foram descritos. Uma vez que a cofilina-1 está envolvida em diversos processos que contribuem para a agressividade de tumores de pulmão, tais como proliferação e metástase, o objetivo do projeto é investigar a possível formação desses aglomerados protéicos e suas consequências em adenocarcinoma humano A549. **Materiais e métodos:** As células foram mantidas a 37°C em atmosfera umidificada com 5% de CO₂ e cultivadas em meio RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS). A formação dos *rods* foi induzida pela adição de peróxido de hidrogênio durante 60 minutos (concentrações de 0.01, 1 e 10mM) e meio de depleção celular de ATP por 30 minutos (6-deoxi-glicose e azida de sódio). As células foram fixadas com paraformaldeído ou TCA 20%, segundo protocolos específicos. Anticorpos anti-actina (Millipore) e anti-cofilina-1 (Invitrogen) foram adicionadas e a visualização das estruturas ocorreu com o uso de microscópio de fluorescência. **Resultados:** As doses utilizadas para a indução da formação de *rods* foram escolhidas de acordo com a literatura e após teste de MTT para assegurar viabilidade celular. Através de uma curva de doses, observou-se que as concentrações mais altas utilizadas não foram capazes de causar morte da célula, sendo apropriadas para o tratamento. A fixação com TCA 20% não se mostrou adequada para a observação da formação de *rods* na linhagem celular estudada, tendo gerado aglomerados protéicos que comprometeram a visualização. A fixação com paraformaldeído, por outro lado, parece satisfatória para o objetivo do projeto. Assim, o trabalho representa a padronização de uma técnica que permite a observação e o estudo de *rods* de actina e cofilina-1 em células cancerígenas. Uma vez estabelecido, esse método será empregado para investigar o papel dessas estruturas na resistência e sensibilidade a quimioterápicos em adenocarcinoma humano A549.