

RELAÇÃO MARCADORES DE CÉLULAS TRONCO E O FENÓTIPO DE RESISTÊNCIA CELULAR

MACHADO, Ayane Pontes; CARRETT-DIAS, Michele; PEREIRA, Camila da Silva; TRINDADE, Gilma Santos VOTTO, Ana Paula de Souza
ayane.machado@hotmail.com

Evento: Congresso de Iniciação Científica
Área do conhecimento: 2.09.02.00-0 - biofísica celular

Palavras-chave: eritroleucemia; glicoproteína P; silenciamento gênico

1 INTRODUÇÃO

Estudos apontam para o envolvimento de células tronco (CT) somáticas no processo oncogênico, devido às suas propriedades de auto-renovação, diferenciação e proliferação ilimitada. Uma condição para a ocorrência dessas propriedades é a ativação de determinados genes. O gene Oct-4 é um marcador específico para totipotência e um regulador crítico de pluripotencialidade em embriões de mamíferos e em células germinativas. A presença de pseudogenes Oct-4 tem sido identificada em células de câncer. Alguns marcadores de células pluripotentes têm sido associados ao fenótipo de resistência a múltiplas drogas (MDR). Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar se o silenciamento do pseudogene Oct-4 (*POU5F1B*) influencia na expressão do gene *MDR1* na linhagem eritroleucêmica MDR K562-Lucena (Lucena) e se as células silenciadas se tornam mais sensíveis ao quimioterápico vincristina (VCR), utilizado para induzir o fenótipo de resistência nestas células.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

As células tronco tumorais apresentam potente iniciação tumoral e capacidade de auto-renovação e de diferenciação (Bonnet & Dick, 1997). Marques e colaboradores (2010) demonstraram que a expressão gênica do fator Oct-4 na linhagem celular leucêmica Lucena (MDR), sugerido como marcador de células tronco tumorais (CTTs), foi elevada. Este fator tem sido amplamente estudado e foi descoberto a existência de pseudogenes Oct-4 (Liedtke et al., 2007). Pseudogenes podem mediar a função regulatória de células tronco (Lin et al., 2007). O pseudogene *POU5F1B* tem sido encontrado em alguns tipos de câncer (Hayashi et al., 2015; Jiang et al., 2014). O gene *ABCB1* (*MDR1*), um dos responsáveis pelo fenótipo MDR, é o gene que codifica a glicoproteína P (gp-P) (Sonneveld & Wiemer, 1997).

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

A linhagem celular eritroleucêmica humana Lucena foi mantida em meio RPMI-1640, suplementado, em garrafas de cultura a 37°C e 5% de CO₂. As células também receberam 60 nM de vincristina (VCR). As células Lucena foram silenciadas para o gene *POU5F1B* por transfecção com plasmídeo shRNA. A expressão do gene *MDR1* foi feita por PCR tempo real. A sensibilidade à VCR das células silenciadas foi avaliada pelo método de exclusão por azul de trypan imediatamente, 24, 48 e 72 h após incubação. Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão. A

análise estatística utilizada para a expressão gênica foi o Teste *t* e para a sensibilidade, ANOVA seguida por pos teste de Tukey ($p < 0.05$).

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

As células Lucena silenciadas para o pseudogene Oct-4 tiveram uma redução na expressão do gene *MDR1* quando comparadas ao controle. Não foi observada diferença significativa quanto à sensibilidade ao quimioterápico VCR na linhagem silenciada quando comparada ao controle. O pseudogene POU5F1B parece influenciar na expressão do gene que codifica a glicoproteína-P (*MDR1*), entretanto o silenciamento desse pseudogene não alterou a resistência das células Lucena a VCR (quimioterápico ao qual essa linhagem é resistente). Isto pode estar relacionado ao fato de que a linhagem Lucena possui outros mecanismos de resistência além da superexpressão da glicoproteína-P, como uma maior capacidade antioxidante e maior quantidade de monômeros de tubulina (Votto et al., 2007 e 2010), o que possibilita o rearranjo do citoesqueleto, principal alvo da VCR.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os resultados obtidos, parece haver uma relação entre o pseudogene POU5F1B e a superexpressão da glicoproteína-P, embora as células MDR pareçam ter outros mecanismos capazes de manter sua resistência ao quimioterápico.

REFERÊNCIAS

- BONNET, D & JE DICK. 1997. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med.*, 3:730-737.
- HAYASHI, T ARAO, Y TOGASHI, H KATO, Y FUJITA, MA De VELASCO, H KIMURA, K MATSUMOTO, K TANAKA, I OKAMOTO, A ITO, Y YAMADA, K NAKAGAWA & K NISHIO. 2015. The OCT4 pseudogene POU5F1B is amplified and promotes an aggressive phenotype in gastric cancer. *Oncogene*, 34: 199-208.
- LIEDTKE, S, J ENCZMANN, S WACLAWCZYK, P WERNET & G KOGLER. 2007. Oct4 and Its Pseudogenes Confuse Stem Cell. *Research Cell Stem Cell*.364-366
- LIN, H, A SHABBIR, M MOLNAR & T LEE. 2007. Stem cell regulatory function mediated by expression of a novel mouse Oct4 pseudogene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 355: 111-116
- MARQUES, DS, JZ SANDRINI, R BOYLE, LF MARTINS & GS TRINDADE. 2010. Relationships between multidrug resistance (MDR) and stem cell markers in human Chronic Myeloid Leukemia cell lines. *Leukemia Res.*, 34: 757-762.
- SONNEVELD, P & E WIEMER. 1997. Assays for the analysis of P-glycoprotein in acute myeloid leukemia and CD34 subsets of AML blasts. *Leukemia*, 11: 1160-1165.
- VOTTO, APS, VP RENON, JS YUNES, VM RUMJANEK, MAM CAPELLA, VM NETO, MS FREITAS, LA GERACITANO, JM MONSERRA & GS TRINDADE. 2007. Sensitivity to microcystins: A comparative study in human cell lines with and without multidrug resistance phenotype. *Cell Biol.Int.* 31: 1359-1366.
- VOTTO, APS, BS DOMINGUES, MM SOUZA, FMR SILVA JÚNIOR, SS CALDAS, DMVB FILGUEIRA, EG PRIMEL, AL VALLOCHI, EB FURLONG & GS TRINDADE. 2010. Toxicity mechanisms of onion (*Allium cepa*) extracts and compounds in multidrug resistant erythroleukemic cell line. *Biol Res.*, 43: 429-37