

Introdução:

Glioblastoma (GMB) é o subtipo mais comum e agressivo do Sistema Nervoso Central e o quimioterápico de escolha para tratamento é a Temozolomida (TMZ). No entanto, dados prévios de ensaios crônicos de proliferação celular *in vitro* apontam a manutenção de subpopulações proliferativas após a terapia com este fármaco, corroborando com dados da clínica que mostram uma redução inicial do volume tumoral acompanhado de uma posterior progressão do tumor. Entretanto, não está claro se a manutenção desta subpopulação se dá por características intrínsecas dessas células ou se a terapia induz alterações genotípicas e/ou epigenéticas que lhes conferem a capacidade de resistir ao tratamento. Assim, o objetivo do trabalho é analisar o perfil de resposta clonal *in vitro* à TMZ e outros quimioterápicos, avaliando a homogeneidade do efeito destes em colônias originadas de células únicas.

Metodologia e Resultados:

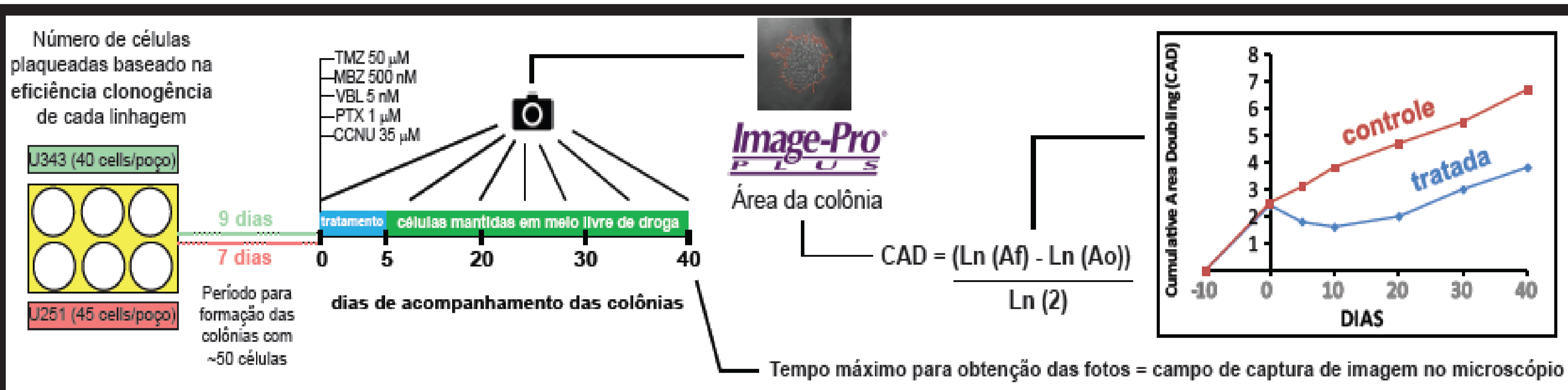
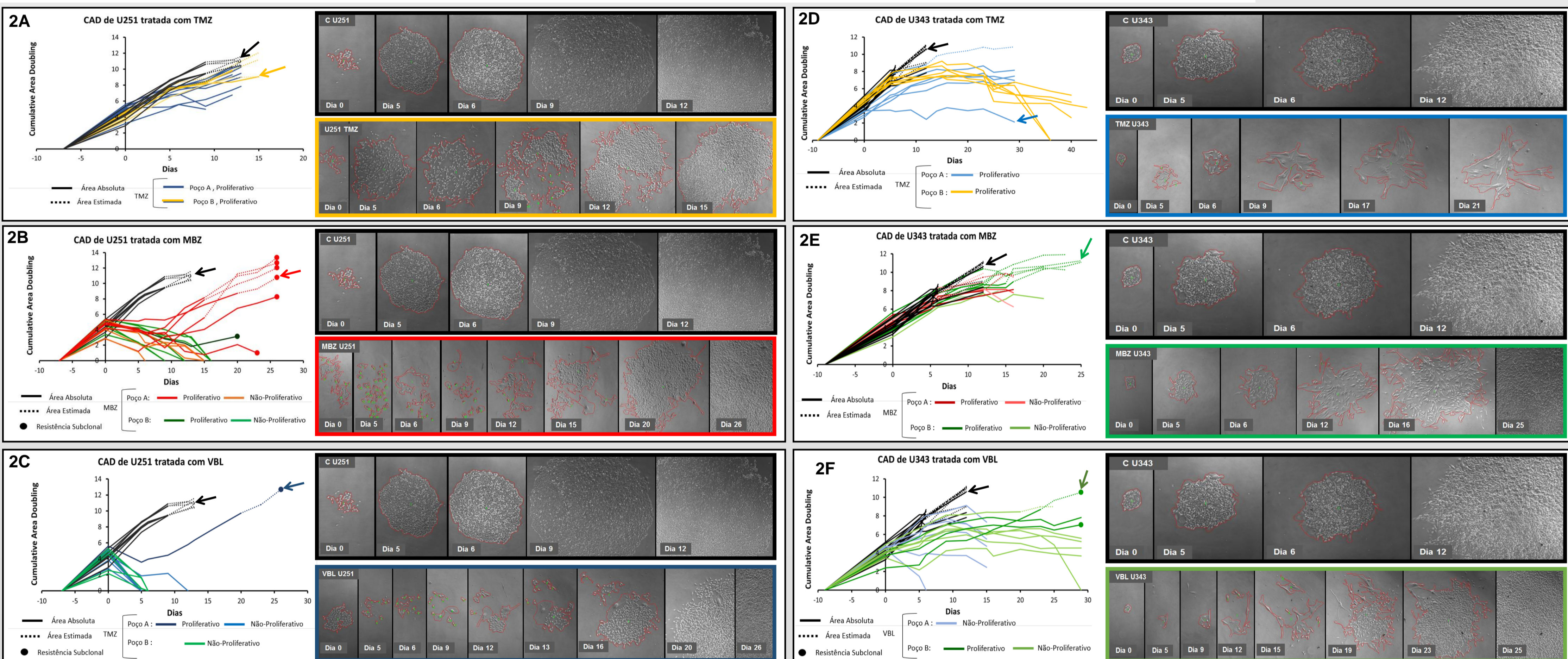


Figura 1 – Desenho experimental do trabalho. Colônias foram tratadas por 5 dias com Temozolomida (TMZ), Mebendazol (MBZ), Vimblastina (VBL), Paclitaxel (PTX) e Lomustina (CCNU) nas suas doses plasmáticas. Micrografias foram captadas regularmente até o limite máximo do campo de captação da imagem. Af e Ao corresponde a área final e inicial, respectivamente, de um intervalo de tempo analisado.



Figuras 2 – Cumulative Area Doubling (CAD) das linhagens U251 e U343 tratadas com TMZ, MBZ, VBL. As áreas estimadas foram obtidas quando os limites da colônia ultrapassavam os limites de captação das micrografias. No lado direito de cada quadro, uma sequência de micrografias representativa de cada população presente na análise. A evolução de CAD das micrografias representativas está apontada pelas setas pretas (controle) e coloridas (tratadas).

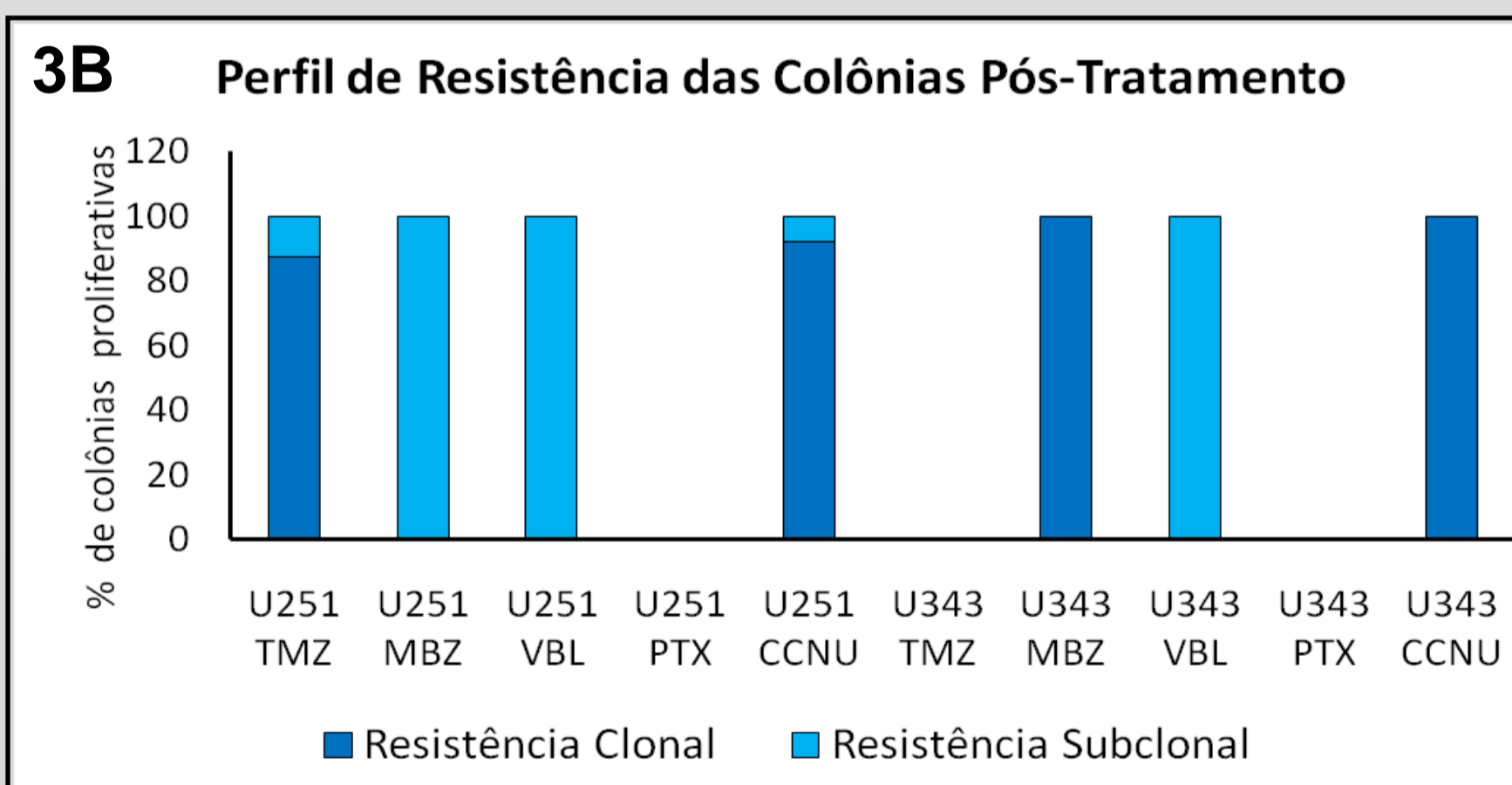
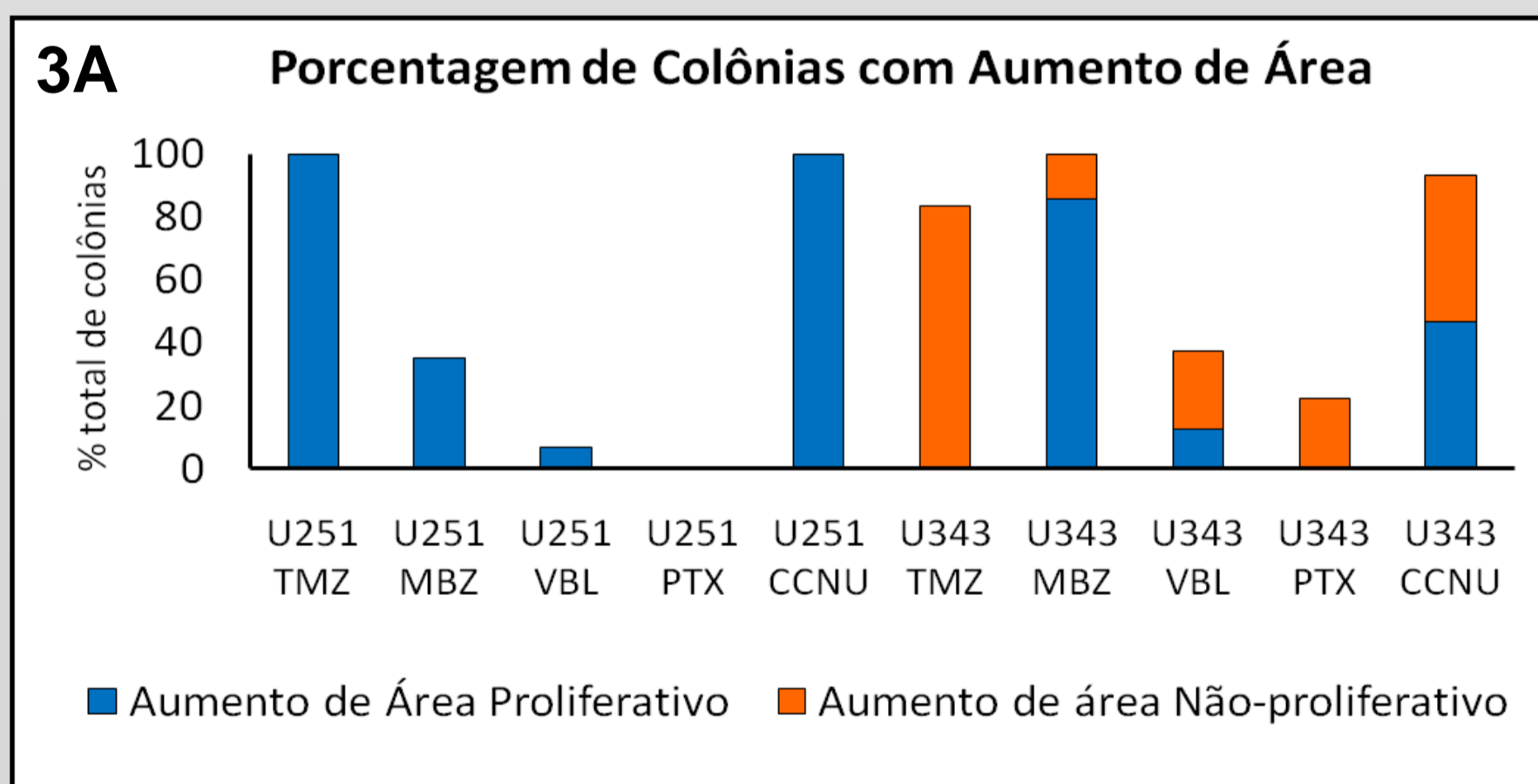


Figura 3 – Perfil de resposta das colônias pós-tratamento. (A) colônias com aumento de área e proliferativas foram classificadas quanto ao tipo de resistência em (B).

Resultados

-- Tanto U251 quanto U343 apresentaram aumento na área das colônias após o tratamento com TMZ. Entretanto, as colônias de U343 não se mostraram proliferativas.

-- Todas as colônias resistentes de U251 apresentam um perfil proliferativo, independente do tratamento. Já em U343 grande parte das colônias resistentes aumentam a área, mas não apresentam proliferação celular, indicando apenas um aumento no tamanho da área celular.

-- Algumas colônias em U251 apresentaram uma sensibilidade parcial, responsável pela redução densidade celular da colônia.

-- Todas as drogas testadas, tanto em U251, quanto em U343, apresentaram a ocorrência de resistência de, pelo menos, uma fração da colônia, denominada de resistência subclonal, exceto PTX e TMZ em U343.

Conclusão e Perspectivas:

Acreditava-se que uma colônia gerada, *in vitro*, a partir de célula única, seria composta por células idênticas fenotípica e genotipicamente e, assim, responderia de forma igual à terapias. Entretanto, os resultados encontrados no presente trabalho mostram que, dentro de uma mesma colônia, a resposta à quimioterápicos diversos pode ser amplamente heterogênea. Isso pode ser resultante de alterações genotípicas e epigenéticas induzidas pelo próprio fármaco que conferem a estas a capacidade de sobreviver à presença da droga. Entretanto, drogas não mutagênicas como MBZ e VBL também produzem este mesmo efeito. Alternativamente, essa resistência pode ser decorrente de alterações acumuladas durante as divisões celulares no período de formação da colônia. Por este motivo, como perspectiva, será realizada a quantificação do número de células da colônia antes do tratamento, a fim de determinar o número de divisões necessárias para a aquisição de alterações importantes para aquisição de resistência.