



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2015
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Estudo da resposta in vitro a tratamentos quimioterápicos em colônias originadas de células únicas de glioma
<b>Autor</b>	ELOISA DALSIN
<b>Orientador</b>	GUIDO LENZ

## **Estudo da resposta in vitro a tratamentos quimioterápicos em colônias originadas de células únicas de glioma**

Eloisa Dalsin; Guido Lenz

Instituto de Biociências – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Introdução:** Glioblastoma (GMB) é o subtipo mais comum e agressivo de tumor primário do Sistema Nervoso Central. O quimioterápico de escolha para tratamento de GMB é a temozolomida (TMZ), no entanto, as células tumorais apresentam mecanismos de resistência ao fármaco, o que resulta no reestabelecimento tumoral. Dados prévios de proliferação celular in vitro a longo prazo apontam a manutenção de subpopulações resistentes, selecionadas pela exposição a quimioterápicos distintos. No entanto, não está claro se a resistência tumoral é conduzida por características intrínsecas ou por alterações genótípicas e epigenéticas induzidas pela terapia.

**Objetivo:** Analisar o perfil de resposta clonal in vitro, à quimioterápicos, através do efeito destes em colônias originadas de células únicas. **Métodos:** Ensaio de formação de colônias foi realizado para as linhagens U343, U251 e C6, utilizando a eficiência clonogênica de cada linhagem para o cálculo do número de células plaqueadas. Células foram mantidas em cultura pelo tempo correspondente a 50 divisões celulares, baseado nas taxas de proliferação celular. Colônias formadas foram previamente fotografadas, individualmente, e tratadas por 5 dias com TMZ, Mebendazol (MBZ), Vimblastina (VBL), Paclitaxel (PTX) e Lomustina (CCNU) nas suas doses plasmáticas. Após o tratamento, as colônias foram fotografadas regularmente até o limite máximo do campo de captação da imagem. Dados morfométricos das colônias foram obtidos pelo programa ImageProPlus para análise do número de células e área das colônias.

**Resultados:** Análise da linhagem U251 aponta que a maioria das colônias são homogeneamente sensíveis ou resistentes. Contudo, curiosamente, foram registradas colônias parcialmente sensíveis com VBL e MBZ, que reduzem sua área no dia 5 pós-terapia, mas que a reestabeleceram até o 12º dia de análise, o que evidencia a expansão de populações subclonais. Para a linhagem U343, observa-se maior variabilidade de resposta das colônias às drogas MBZ e TMZ, mesmo que ainda represente majoritariamente um resposta clonal. Para as drogas utilizadas, distingue-se dois subgrupos analisados: colônias cuja área foi reduzida, refletindo o desencadeamento de mecanismos antiproliferativos e outro subgrupo de colônias com aumento progressivo de área. Porém, análise das micrografias das colônias, ao longo do tempo, revelou que o subgrupo com expansão de área apresentava-se subdividido em: colônias com número crescente de células ao longo do tempo e colônias em que o número de células se mantinha bastante similar durante o ensaio, porém a área das células da colônia aumentava ao longo da análise. Esta característica sugere o desencadeamento do mecanismo de senescência por parte do quimioterápico testado. Dados anteriores não mostraram a presença de células senescentes da linhagem U251; assim, esta linhagem não apresenta a subdivisão dentro do grupo de colônias com expansão gradual de área. Está em andamento uma avaliação qualitativa das colônias para determinar a frequência de cada um dos casos apresentados. **Conclusões:** Ensaio prévios apontam que a maioria das colônias resistentes sobrevive de forma homogênea; porém, é evidenciado, em raras ocorrências, a manutenção de subclones em colônias aparentemente sensíveis após tratamentos, o que contrapõe-se ao consenso de que uma colônia gerada in vitro, a partir de célula única, é composta por células idênticas fenotípica e genotipicamente e, assim, responderia de forma igual à terapias. Desta forma, como perspectiva, será realizada a quantificação do número de células de cada colônia para que seja calculada a densidade celular das colônias resistentes.