

Estabelecimento de protocolo de indução de EGFR em células de glioma de rato (C6)

Alice Hoffmann de Quadros¹, Christianne Gazzana Salbego².

¹Autora, Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
²Orientadora, Laboratório de Neuroproteção e Sinalização Celular, Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.



UFRGS PROPESQ **XXV SIC**
 Salão Iniciação Científica

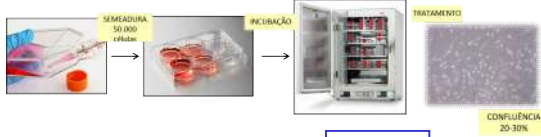
CB - Ciências Biológicas

INTRODUÇÃO

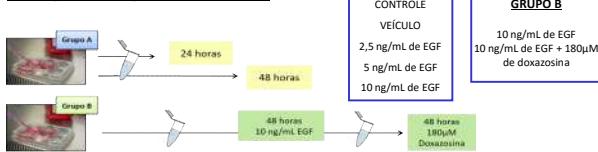
Dentre os vários tipos de tumores do Sistema Nervoso Central (SNC), os mais frequentes e devastadores são os gliomas. O tratamento dos gliomas é atualmente um dos grandes desafios da oncologia. A superexpressão do Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico (EGFR) está relacionada às formas mais malignas de glioblastomas, pois as rotas ativadas por esse receptor estão envolvidas na migração e proliferação celular, além de inibição de apoptose. Nesse sentido, nosso estudo propôs um protocolo de estudo de superexpressão de EGFR na presença de EGF exógeno em células de glioma de rato (C6), com a intenção de produzir uma variação da linhagem que mimetizasse com mais facilidade um glioblastoma de subtipo clássico, no qual 90% dos casos tem EGFR superexpresso. Ainda, tais células foram tratadas com doxazosina, um fármaco análogo a inibidores de EGFR, para avaliação do seu efeito frente à superexpressão de EGFR.

MÉTODOS

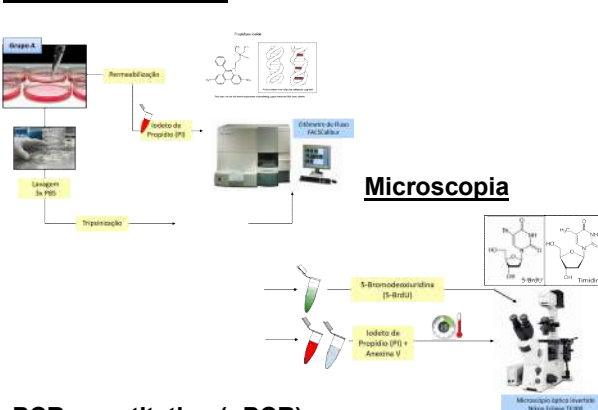
Cultura de células



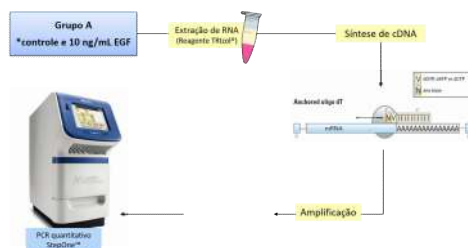
Grupos experimentais



Citometria de fluxo



PCR quantitativo (qPCR)



RESULTADOS

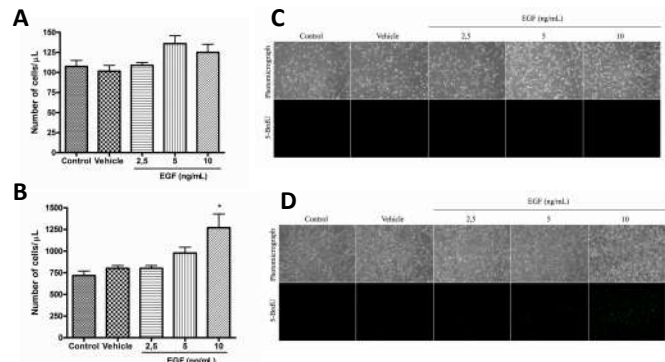


Figura 1. Número de células viáveis após 24hs (A) e 48hs (B) de tratamento. Em 48hs o grupo tratado com 10 ng/mL de EGF demonstrou aumento significativo em relação ao controle (ANOVA de uma via, seguida do Teste de Tukey, * $P < 0,05$). Incorporação de 5-BrdU em células tratadas por 24hs (C) e 48hs (D). Aumento de 100x.

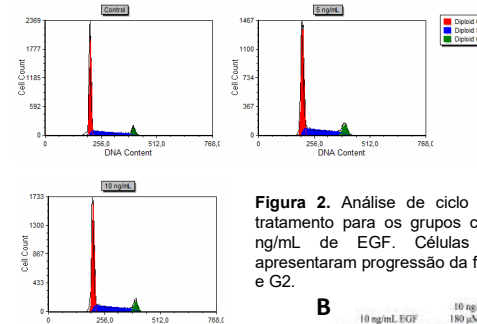


Figura 2. Análise de ciclo celular após 48hs de tratamento para os grupos controle, 5 ng/mL e 10 ng/mL de EGF. Células tratadas com EGF apresentaram progressão da fase G1 para as fases S e G2.

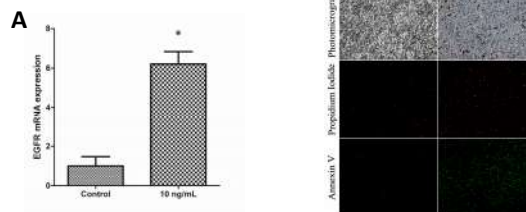


Figura 3. (A) Expressão de EGFR em células do grupo controle e tratadas com 10 ng/mL de EGF durante 48hs (Teste t, * $P < 0,01$). (B) Células expressando EGFR antes e após a adição de 180 μ M de doxazosina marcadas com iodeto de Propídeo e Anexina V. Aumento de 100x, filtros de rodamina e FITC.

CONCLUSÃO

Não houve diferença significativa no número de células viáveis quando expostas ao EGF por 24hs. No entanto, as amostras tratadas com 10 ng/mL de EGF por 48hs apresentaram aumento significativo de proliferação e também foi observado aumento na expressão do gene EGFR pela análise de qPCR;

O tratamento com 180 μ M de doxazosina induziu apoptose nas células superexpressando EGFR.

Nosso estudo desenvolveu um protocolo de indução de expressão de EGFR pela presença de EGF e mostra indícios de que a molécula de EGFR está envolvida no mecanismo de ação da doxazosina na indução de apoptose em células de glioma de rato (C6).



MODALIDADE DE BOLSA

PROBIC FAPERGS- UFRGS

