



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	SENSIBILIZAÇÃO IN VITRO DE GLIOBLASTOMA À TERAPIA ATRAVÉS DA MODULAÇÃO AUTOFÁGICA
Autor	LUCAS SOBRAL MARQUES DA CONCEICAO
Orientador	GUIDO LENZ

SENSIBILIZAÇÃO *IN VITRO* DE GLIOBLASTOMA À TERAPIA ATRAVÉS DA MODULAÇÃO AUTOFÁGICA

L. S. M. CONCEIÇÃO¹ e G. LENZ¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Av. Bento Gonçalves 9500, Porto Alegre, RS – Brasil

Uma vez que a autofagia apresenta papel duplo na biologia tumoral, pode prevenir a carcinogênese como também ter efeito pró-tumoral ao final deste processo. Tanto a radioterapia como diversos quimioterápicos ativam a autofagia, mas o papel desta autofagia na resposta a terapia não está totalmente clara. O tratamento padrão para Glioblastoma Multiforme GBM, um tumor altamente agressivo e invasivo, é resecção cirúrgica, seguido de quimiorradioterapia, com administração de temozolomida (TMZ). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o papel da autofagia na ação terapêutica de TMZ em células U-87MG, além de caracterizar a ação dos inibidores de autofagia i15, i18 e i27 nesse tipo celular. A modulação autofágica foi realizada de duas formas: geneticamente, via shRNA para os genes BECN-1, ATG7 e farmacologicamente, onde utilizou-se o indutor rapamicina (RAPA), o inibidor 3-metiladenina (3-MA) e três de seus derivados (i15, i18, i27). Ensaios de western blot demonstraram que os três inibidores foram capazes de impedir a degradação da proteína p62 e a conversão de LC3-I em LC3-II induzidos por RAPA. Adicionalmente, observou-se que todos inibidores são capazes de bloquear o fluxo autofágico induzido por RAPA, confirmando a ação inibitória dos mesmos. Para analisar os efeitos antiproliferativo e de viabilidade nas células U87MG, foram feitos ensaios de *Cumulative Population Doubling* (CPD), avaliando-se o efeito de cinco tratamentos diferentes. Os resultados obtidos demonstraram que células que sofreram *knockdown* para BECN-1 e ATG7, mas principalmente para ATG7, tiveram um efeito antiproliferativo e citotóxico bastante acentuado, aumentando a sensibilidade à TMZ em comparação ao controle de silenciamento (shCTRL) e células *wild type*. Farmacologicamente, foi observado que os tratamentos combinados com RAPA+TMZ+inibidores (a exceção do i15), reduziu eficientemente a proliferação de células *wild type*, mostrando que o bloqueio da autofagia potencializa a ação terapêutica da TMZ. O tratamento mais efetivo foi RAPA (100 nM - 24 h) + TMZ (100 µM – 3 horas) + inibidores (3-MA= 2 mM ou i18= 1 mM ou i27 = 0,1 mM - 4 h - 3º, 4º e 5º dia). Por fim, células silenciadas para beclina e tratadas com as combinações RAPA+TMZ+inibidores (principalmente com 3-MA) apresentaram índices de proliferação menores do que aquelas tratadas apenas com TMZ, sugerindo que o efeito antiproliferativo dessas combinações não se deve apenas a interferências na autofagia, mas também em outros processos celulares. A execução desse trabalho permite concluir que i18 e i27 tratam-se de promissores inibidores de autofagia, uma vez que são capazes de bloquear a ocorrência deste processo. Além disso, observou-se que neste contexto autofagia está exercendo efeito pró-tumoral, promovendo a sobrevivência de células U-87MG em resposta a ação citotóxica da TMZ, de modo que a inibição deste processo constitui uma estratégia terapêutica promissora para sensibilizar células U-87MG à ação deste fármaco.