



## FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA VI FINOVA

paz no plural



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2016: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
<b>Ano</b>	2016
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Meio condicionado de células-tronco mesenquimais modula a autofagia em gliomas
<b>Autores</b>	JULIANO LUIZ FACCIONI GIOVANA RAVIZZONI ONZI EDUARDO CREMONESE FILIPPI CHIELA
<b>Orientador</b>	GUIDO LENZ

## Meio condicionado de células-tronco mesenquimais modula a autofagia em glioma

Nos últimos anos pode-se observar um número expressivo de novos estudos sugerindo a utilização de células-tronco mesenquimais (CTMs) no desenvolvimento de novas terapias contra o câncer. Todavia, para que exista efetividade e segurança nessas propostas, é necessário entender o que acontece com as CTMs que chegam ao microambiente tumoral. Sabe-se que a autofagia, processo de degradação de componentes celulares próprios, é extremamente importante e pode desempenhar duplo papel no câncer, levando as células tumorais a uma melhor adaptação às condições do microambiente ou, quando em excesso ou por períodos prolongados, à morte celular. Assim, o objetivo deste estudo é investigar o papel das células-tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo (hADSCs) na modulação da autofagia em gliomas.

Para isso, o meio condicionado (MC) de hADSCs foi produzido a partir da incubação dessas células com meio de cultivo DMEM (5% de soro fetal bovino (SFB)) por 48 horas. A fim de se avaliar o fluxo autofágico, células da linhagem de glioblastoma U87 com *tag* de fusão mCherry-GFP-LC3, previamente produzidas pelo grupo, foram tratadas nas seguintes condições: controle negativo (DMEM 5% SFB); MC puro; MC diluído em DMEM (1:1); e rapamicina 200nM, um indutor de autofagia, como controle positivo. Para o tratamento crônico, as células foram tratadas por 7 dias e fotografadas em microscópio de fluorescência a cada 24h, durante o mesmo período. Para o tratamento agudo, as células receberam os tratamentos por 24 e 48h e imagens foram adquiridas também ao final dos mesmos períodos. Também foi realizado tratamento agudo dessas células com MC de U87 como um controle adicional, produzido da mesma forma como descrito para o MC de hADSC. Além disso, foi realizado *western blot* para LC3 e p62 de células U87 *wild-type* tratadas de maneira aguda com MC de hADSC e de U87, conforme anteriormente descrito.

O resultados preliminares dos tratamentos crônicos e agudos indicam que o MC das hADSCs desempenhou um papel de bloqueio da via autofágica. Da mesma forma, os resultados do *western blot* demonstram um acúmulo de LC3 e p62 em células tratadas com MC, o que sugere um bloqueio na fases tardias do fluxo autofágico caracterizado pela não-degradação dessas proteínas. no tratamento com MC de hADSC foi observado em alguns casos o surgimento de vesículas citoplasmáticas de fluorescência amarela, originadas pela sobreposição das fluorescências verde e vermelha e correspondentes à formação de autofagossomos (etapa inicial da autofagia), mas raras vesículas vermelhas que, caso presentes, indicariam a fusão de lisossomos com autofagossomos (etapa tardia da autofagia), uma vez que a fluorescência verde da GFP sofre apagamento no compartimento ácido do lisossomo. Os tratamentos utilizando MC de U87 não apresentaram tal perfil de indução de autofagia, sendo semelhantes ao tratamento com DMEM. Estudos na literatura mostram que a interrupção do processo autofágico pode aumentar a sensibilidade das células tumorais a quimioterápicos ou ainda levar à morte celular. Todavia, ainda são escassos os dados mostrando a modulação autofágica em gliomas pelas CTMs e será necessária uma maior investigação sobre o caminho que as células tumorais irão seguir após esta modulação do processo autofágico. Comitê de ética UFCSPA e ISCMPA (nº 846/11).

**Palavras-chave:** meio condicionado; glioma; autofagia; células-tronco.