



EFEITO DE MÚLTIPLOS CICLOS DE TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO NA SENESCÊNCIA E NA AUTOFAGIA DE CÉLULAS DE LINHAGEM DE GLIOBLASTOMA

Stefano Walter Agatti (UFRGS; Hospital de Clínicas de Porto Alegre)
Patricia Luciana Da Costa Lopez (Hospital de Clínicas de Porto Alegre)

INTRODUÇÃO

Glioblastomas (GBM) são os tumores mais frequentes (40-60%) e agressivos (5 a 20% de taxa de sobrevivência em 5 anos) do Sistema Nervoso Central. A terapia padrão do GBM consiste em cirurgia seguida de radioterapia e quimioterapia com múltiplos ciclos de Temozolomida (TMZ); em casos refratários ou recorrentes, outros quimioterápicos clássicos são utilizados. Entre os mecanismos celulares disparados pela TMZ estão apoptose, autofagia e senescência. Porém são escassos os dados sobre a resposta das células tumorais a múltiplos ciclos de tratamento, em regime semelhante ao clínico.

OBJETIVOS

Avaliar a resposta de células de linhagem de GBM à múltiplos ciclos de tratamento com TMZ e 5-Fluoruracila (5-FU) quanto à resistência, processos autofágicos e senescência.

MÉTODOS

Células U87-MG foram tratadas por 4 ciclos de 48h, seguidos de 15 dias de recuperação. Foram avaliadas a proliferação celular e marcação com Laranja de Acridina (autofagia) através de citometria de fluxo.

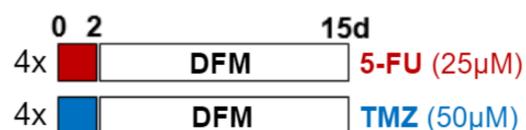


Figura 1 – Desenho Experimental. Células foram tratadas por 48h seguido de replaqueamento em Meio Livre de Droga (DFM); TMZ – Temozolomida; 5FU – 5-Fluoruracila

RESULTADOS

1. Toxicidade aguda e 1º ciclo de tratamento

Após 48h do tratamento, 5-FU e TMZ reduziram em 72% e 21% o número de células, respectivamente (Fig. 2A). Considerando o crescimento populacional após a retirada das drogas, as células tratadas com TMZ se mostraram mais sensíveis a longo prazo ao 1º tratamento (Fig. 2B).

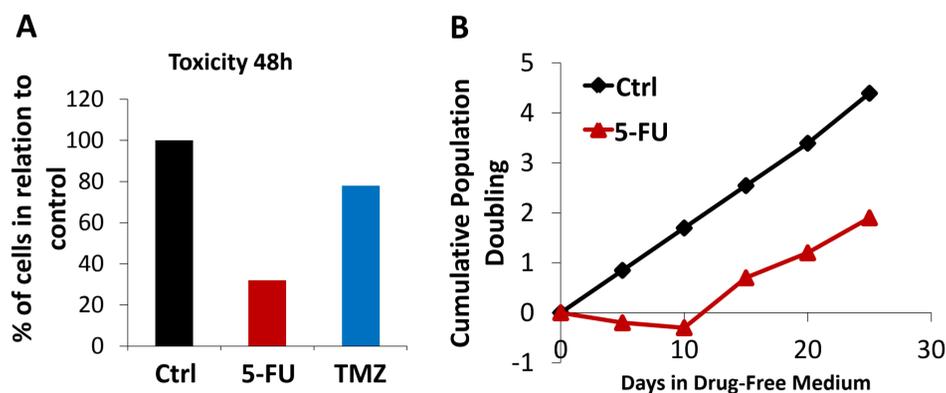


Figura 2 – Toxicidade aguda e crônica do tratamento com 5-FU e TMZ em células U87-MG. (A) Número de células viáveis após 48h de tratamento. (B) Cumulative Population Doubling após retirada do tratamento e crescimento das células em MLD.

2. Resposta aos ciclos de retratamento

As células U87 se mostraram menos sensíveis ao 5-FU já a partir do 3º ciclo de tratamento, enquanto para TMZ tal resistência não foi observada (Fig. 3). As células induzidas à senescência no 1º ciclo de tratamento pareceram resistir ao retratamento. A partir do 3º ciclo, observamos populações resistentes na 5-FU, o que ocorreu a partir do 4º ciclo para a TMZ (Fig. 4).

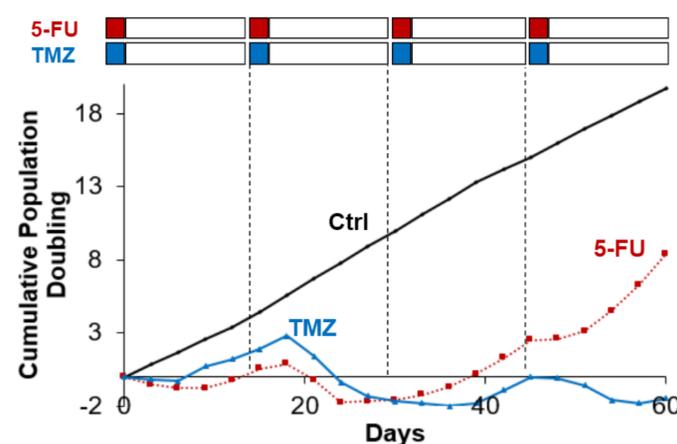


Figura 3 – Cumulative Population Doubling das células U87 em múltiplos ciclos de tratamento com 5-FU e TMZ. Células foram tratadas como mostrado na Fig. 1.

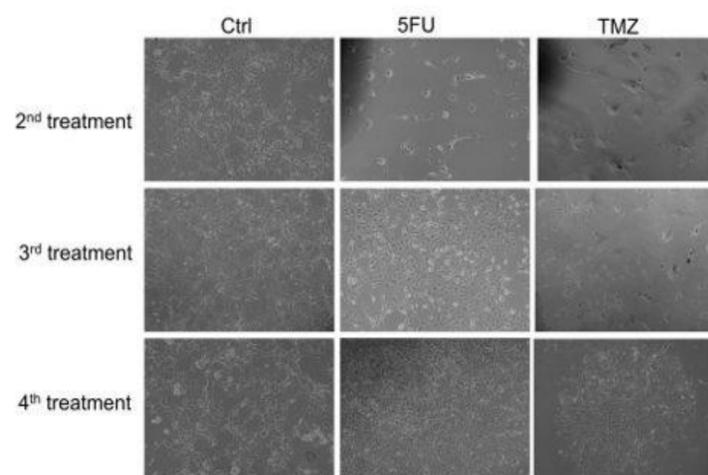


Figura 4 – Morfologia celular após múltiplos ciclos de tratamento com 5-FU e TMZ em células U87-MG.

Observamos uma redução gradual na porcentagem de células Laranja de Acridina (AO) positivas a cada ciclo, sugerindo menor sensibilidade celular ao tratamento com TMZ ao longo de ciclos consecutivos (Fig. 5).

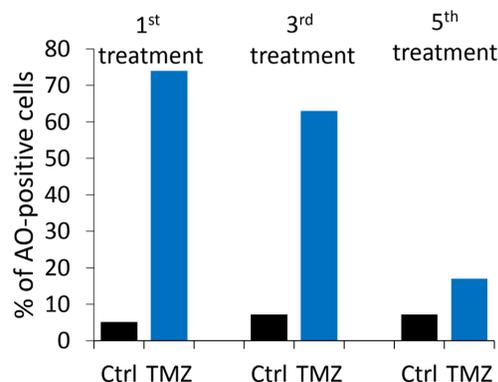


Figura 5 – Porcentagem de células positivas para Laranja de Acridina (AO) após múltiplos ciclos de tratamento com TMZ em relação ao controle. A sonda AO é utilizada como marcador da etapa tardia da autofagia.

CONCLUSÕES

Nossos dados preliminares sugerem que as células de GBM perdem sensibilidade à 5-FU e TMZ após 3 e 5 ciclos de quimioterapia, respectivamente. Células senescentes parecem resistir ao retratamento tanto com 5-FU quanto TMZ, o que poderia promover o acúmulo destas células no microambiente tumoral. As células também mostraram uma indução de autofagia gradualmente menor em resposta aos múltiplos ciclos de TMZ, sugerindo menores níveis de estresse celular a cada ciclo.