

**INTRODUÇÃO:** Autofagia é o processo responsável pela degradação de componentes celulares. Este envolve a formação de autofagossomos, que se fundem aos lisossomos, formando assim autofagolisossomos, onde os componentes são degradados. Em câncer, autofagia apresenta um papel duplo, tanto favorecendo a sobrevivência celular em condições adversas quanto fazendo parte do mecanismo de ação de algumas drogas citotóxicas, além de modular outros mecanismos antitumorais endógenos, como apoptose e senescência.

**OBJETIVO:** Avaliar, em células de glioblastoma (GBM) – tumores mais comuns e agressivos do Sistema Nervoso Central - o papel da autofagia na senescência induzida por Temozolomida (TMZ), quimioterápico de primeira escolha no tratamento destes tumores.

**MATERIAL E MÉTODOS:** Células da linhagem de GBM humano U87 selvagens expressando estavelmente a proteína marcadora de autofagossomos LC3-GFP (U87LC3) foram tratadas *in vitro* com TMZ por 3h, seguido de replaqueamento em Meio Livre de Droga (MLD). O número e a proliferação celular, a indução de autofagia e de senescência foram avaliados após 3, 5 e 7 dias em MLD. O primeiro foi avaliado através de citometria de fluxo e *population doubling* (PD); a indução de autofagia por marcação com laranja de acridina (AO) – marcador de organelas vesiculares ácidas, principalmente autofagolisossomos - seguida de citometria de fluxo, além do ensaio para LC3-GFP para formação de autofagossomos; e a senescência através do ensaio de beta-galactosidase (b-gal).

**RESULTADOS** Células tratadas com TMZ proliferaram até o 3º dia em MLD, a partir do qual o número se manteve inalterado. A parada na proliferação foi acompanhada por um aumento na marcação positiva para AO até o 5º dia, seguido da diminuição dessa marcação. Para inibir a autofagia foi utilizada bafilomicina A1 (BAF), que atua impedindo a acidificação dos lisossomos e, conseqüentemente, a fusão dos mesmos aos autofagossomos. O tratamento com BAF no 3º dia em células tratadas com TMZ levou ao retorno parcial da capacidade proliferativa a partir do 5º dia em MLD. Quanto a senescência, células tratadas com TMZ apresentaram 65% da sua população marcada para beta-gal após 7 dias, enquanto o controle apresentou apenas 3%. O tratamento com BAF nas células tratadas com TMZ no 5º dia reduziu a porcentagem de células beta-gal positivas para 46%. Com o ensaio para LC3-GFP em contraste com o ensaio da beta-gal, observamos que células com marcação positiva para LC3-GFP não se encontravam em senescência.

**CONCLUSÃO:** Células tratadas com TMZ apresentaram menor proliferação quando comparadas ao controle. Além disso, a população celular se estabilizou após 3 dias do tratamento com TMZ, sugerindo um estado senescente. Observamos um aumento seguido de diminuição na porcentagem das células positivas para AO quando tratadas com TMZ, sugerindo uma indução temporária de autofagia. A inibição da autofagia com BAF fez com que as células voltassem a proliferar parcialmente. O tratamento com TMZ aumentou progressivamente o número de células senescentes, enquanto a autofagia parece modular a entrada em senescência celular. Ensaio adicionais, incluindo outros inibidores e o uso de indutores de autofagia, são necessários para caracterizar a relação entre estes mecanismos.