



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	Influência do silenciamento de fatores de transcrição na proliferação, morte e resistência a quimioterápicos em linhagens de glioma
Autor	CAMILA DIEHL DA ROSA
Orientador	GUIDO LENZ

Introdução: A reprogramação celular é um processo em que uma célula já especializada se torna novamente indiferenciada (pluripotente), por meio da expressão forçada e transitória de fatores de transcrição específicos. Essas células, denominadas células pluripotentes induzidas (IPS), são similares às células tronco embrionárias, tendo, entre outras características, a formação de teratomas quando injetadas em animais. A hipótese do nosso grupo sugere que a reprogramação tumoral esteja envolvida na progressão tumoral, e que células tumorais, mesmo diferenciadas, possam novamente adquirir características indiferenciadas, pois sabe-se da existência de uma subpopulação de células extremamente tumorigênicas e similares a células tronco dentro das células de tumor, denominadas células tronco tumorais. A população tronco-tumoral é altamente resistente a tratamentos, portanto, capaz de aumentar a agressividade de um tumor.

Objetivos: Estudar o efeito do silenciamento, mediado por shRNA, de fatores de reprogramação celular específicos (c-Myc, Nanog, Sox-2, Klf4 e Oct-4) na proliferação, morte e resistência ao tratamento com quimioterápicos em gliomas.

Materiais e métodos: O silenciamento foi mediado pela inserção de um vetor viral contendo a sequência de shRNA específica para os fatores de interesse. A confirmação da transdução foi realizada por meio de seleção com puromicina. As linhagens celulares de glioma C6 (rato), selvagem e silenciadas para fatores de reprogramação específicos, foram mantidas em condições padrão. Para avaliar possíveis diferenças no crescimento, morte e resistência das linhagens de glioma selvagens e silenciadas, foram realizados ensaios de proliferação celular com os quimioterápicos Doxorubicina na concentração 10 nM e Cisplatina na concentração 1 µM, ensaio clonogênico para avaliar o número e tamanho das colônias formadas com o quimioterápico Temozolomida na concentração 30 µM e ensaio de migração celular (*scratch-wound*). A análise do número e área das colônias foi feita utilizando os programas Image J e Image Pro-Plus, respectivamente.

Resultados: No ensaio de proliferação celular, o tratamento com Doxorubicina 10 nM por 7 dias mostrou uma redução significativa de viabilidade celular nos clones silenciados para Oct4, Klf4, Sox2 e para os dois clones silenciados para Nanog ($P < 0,05$) em comparação com as respectivas linhagens não tratadas ($n=5$). O tratamento com Cisplatina 1 µM não mostrou uma sensibilização para nenhum dos clones silenciados em comparação com as respectivas linhagens não tratadas ($n=5$). Resultados preliminares mostram a diminuição da capacidade de formação de colônias, houve redução na média do número e da área das colônias formadas em todos os clones silenciados quando tratados com Temozolomida 30 µM, em comparação com suas respectivas linhagens não tratadas ($n=1$). Não se observou diferença na capacidade de migração dos clones silenciados em comparação com a linhagem controle e selvagem ($n=1$).

Perspectivas: Concluir a confirmação do silenciamento. Ensaios complementares de migração e ensaio clonogênico. Análises estatísticas.