

P 1636**Análise do bloqueio da sinalização BDNF/TrkB em parâmetros de apoptose em células de meduloblastoma humano**

Júlia Plentz Portich; Amanda Thomaz; Simone Geiger de Almeida Selistre; Mario Correa Evangelista Junior; Algemir Lunardi Brunetto; Lauro José Gregianin; André Tesainer Brunetto; Gustavo R. Isolan; Caroline Brunetto de Farias; Rafael Roesler - HCPA

Meduloblastoma (MB) é o tumor intracraniano mais frequente em crianças. Apesar dos esforços em aprimorar o tratamento, este, quando efetivo, ainda traz alta morbidade para os sobreviventes. O BDNF (fator de crescimento derivado de neurotrofinas) é um fator de crescimento da família das neurotrofinas que tem sido envolvido na patogênese de diversos tumores. O TrkB (receptor tropomiosina cinase tipo B) é um receptor para esta família. A expressão de BDNF/TrkB foi detectada em amostras de MB e linhagens celulares. Nós demonstramos que a inibição do receptor de BDNF promove redução da viabilidade de linhagens celulares de MB. Entretanto, o papel biológico de BDNF/TrkB em relação à morte celular ainda não está completamente elucidado em MB. Esse estudo objetivou avaliar o papel da sinalização BDNF/TrkB sob a apoptose de células de MB humano. Foi utilizado um inibidor seletivo de TrkB, ANA-12, e BDNF humano recombinante, adquiridos da Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). Foi utilizada a linhagem celular de MB, UW-228, doada pelo Dr Michael D. Taylor (The Hospital for Sick Children, Canada). As células foram cultivadas em DMEM-f12, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de complexo penicilina/estreptomicina, incubadas a 37°C e 5% de CO₂ e tratadas com concentrações crescentes de ANA-12 (5, 20 e 30 µM) ou BDNF 50 ng/mL por 48h. Após, foram lavadas com PBS e marcadas com iodeto de propídio (PI) e anexina-V por 15 minutos. Posteriormente, foram analisadas por citometria de fluxo (Attune® Applied Biosystems). As populações celulares foram separadas em gráficos do tipo quadrante e analisadas de acordo com as seguintes marcações: duplo negativo, positivo para anexina-V, positivo para PI e duplo positiva. A análise estatística foi realizada através do software GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). ANA-12 induziu o aumento da população de células em apoptose recente (células anexina-V positivas e PI negativas) a partir da concentração 20 µM, e em apoptose tardia (células anexina-V e PI positivas) na concentração 30 µM. Além disso, houve redução em cerca de 90% na população de células vivas (duplo negativos), tratadas com 30 µM de ANA-12. Células tratadas com BDNF não apresentaram aumento da população de células apoptóticas. A inibição de TrkB exerce efeitos pró-apoptóticos em células UW-228 sugerindo que a inibição seletiva de TrkB exerce atividade anti-tumoral em linhagens de MB. Unitermos: Meduloblastoma; BDNF; TrkB