



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Caracterização dos efeitos agudos e crônicos de temozolomida em linhagens de glioma
Autor	ELOISA DAL SIN
Orientador	GUIDO LENZ

Introdução: Glioblastoma (GMB) é o subtipo mais comum de tumor primário do Sistema Nervoso Central e é considerado a forma mais agressiva de glioma. O prognóstico de sobrevivência médio de pacientes com GMB é de aproximadamente 14 meses, refletindo a alta invasividade e resistência a radio e quimioterapia das células cancerosas. O quimioterápico de escolha na clínica para tratamento de GMB é a temozolomida (TMZ); no entanto, as células tumorais apresentam mecanismos de resistência ao fármaco, o que culmina na manutenção de subpopulações de células resistentes. Portanto, o objetivo do trabalho é avaliar as alterações induzidas por TMZ, nos principais mecanismos celulares, de forma aguda, e investigar seus efeitos a longo prazo em linhagens de glioma. **Metodologia e resultados:** Seis linhagens de glioma (U87, U343, A172, U251, C6 e U138) foram tratadas com TMZ nas doses 5, 10, 25, 50 e 75 μ M por 5 dias e a porcentagem de células viáveis foi definida através de citometria de fluxo. Por meio de curvas de dose, observou-se que as linhagens celulares U87, U343, A172 e U251 apresentaram alta sensibilidade aguda ao tratamento com TMZ, de forma dose dependente, enquanto as demais (C6 e U138) apresentaram perfil resistente. Ensaio de Análise Morfométrica Nuclear (NMA) apontou um aumento de células senescentes da linhagem tumoral U87, após 5 dias de tratamento com TMZ, seguido por 15 dias em meio livre de droga. Ao avaliar autofagia, por meio de ensaio de marcação com Laranja de Acridina, no 3º e 5º dia de tratamento com TMZ, observou-se um aumento expressivo na porcentagem de células positivas nas linhagens C6 e U251, um leve aumento em U87 e U343, e nenhum efeito em U138. Análise de ciclo celular foi realizada por marcação com iodeto de propídeo e posterior citometria de fluxo, no 3º dia de tratamento com TMZ, considerando duas doses distintas (dose plasmática de 50 μ M e uma dose com efeito parcial, de acordo com a sensibilidade de cada linhagem tumoral). Observou-se efeitos de parada no ciclo para todas as linhagens sensíveis e nenhum efeito para as linhagens resistentes. Ensaio de formação de colônias foi realizado para cada linhagem tumoral, após 5 dias de tratamento com a droga, seguido de 15 dias em meio livre de droga. Os resultados do ensaio clonogênico, para a dose plasmática de TMZ (50 μ M), demonstraram ausência de colônias nas linhagens U87 e U343, uma redução brusca no número de colônias da linhagem U251 e ausência de efeito em C6 e U138. Entretanto, quando crescidas em maior número e por período correspondente a um ciclo de tratamento com TMZ na clínica (28 dias), foi constatada a presença de colônias de células resistentes em todas as linhagens, que começaram a surgir após 20 dias em cultura. Este comportamento de reestabelecimento da capacidade proliferativa fica evidente nos ensaios de Population Doubling (PD) durante 28 dias pós-tratamento com TMZ (50 μ M): houve uma resposta inicial bastante satisfatória, até o 12º dia, para as linhagens sensíveis, seguido de um crescimento exponencial da população celular. Para as linhagens resistentes, o perfil proliferativo não apresentou alterações após o tratamento com TMZ. **Conclusão:** O quimioterápico TMZ, sendo o fármaco de escolha clínica para o tratamento de gliomas, mostrou somente uma eficácia terapêutica aguda nas linhagens sensíveis. O tratamento com a dose plasmática de TMZ (50 μ M) e avaliação a longo prazo revelaram a re aquisição da capacidade proliferativa em todas as linhagens estudadas. Isso reflete os efeitos do quimioterápico na clínica, onde o tratamento com TMZ apenas seleciona subpopulações resistentes, que restabelecem a massa tumoral com o passar do tempo. Com base nos resultados apresentados, é necessário a busca de novas estratégias terapêuticas e, terapias com fármacos adjuvantes, que atuam em mecanismos celulares distintos dos afetados por TMZ, pode representar uma possibilidade de tratamento a ser estudada. Ademais, o uso de ensaios crônicos de investigação dos efeitos antitumorais de novas propostas de tratamento parece ser mais fidedigno ao que ocorre na clínica, tornando-se uma opção mais adequada para este tipo de estudo.