



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ



XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Modulação epigenética da tolerância de células tumorais à quimioterapia
Autor	CAROLINA NUNES SANTO
Orientador	GUIDO LENZ

Modulação epigenética da tolerância de células tumorais à quimioterapia
Carolina N. Santo, Jephesson A. Santos, Guido Lenz.
Laboratório de Sinalização e Plasticidade Celular - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução: As células tumorais não seguem uma linha evolutiva fixa e, por isso, acabam resultando em uma massa celular heterogênea nos aspectos genômico e fenotípico. Dessa forma, a complexidade genética e epigenética acarreta em diferentes níveis de sensibilidade à terapia. Como as colônias são formadas a partir de células únicas e a herança genética de resistência é um estado definitivo, quando expostas ao agente quimioterápico, as colônias responderiam de forma "tudo ou nada" e conseqüentemente, a variância entre elas será grande. Entretanto, a herança epigenética é dinâmica e reversível, levando à flutuações dos fenótipos das células da colônia, ou seja, haverão diferentes respostas celulares à terapia citotóxica e assim, a variância entre as colônias irá diminuir com o aumento de células na colônia. Sabendo disso, o uso de ferramentas que promovam a estabilização da dinâmica das células pode levar a uma maior eficiência do tratamento. A partir dessa informação, decidimos interferir diretamente em duas vias epigenéticas importantes: da metilação do DNA e remodelação da cromatina. Assim, o uso de moduladores epigenéticos que interferem nessas vias em combinação com quimioterápicos já utilizados na clínica têm potencial de estabilizar o fenótipo de resposta ao fármaco, promovendo a eficácia terapêutica. **Objetivos:** Demonstrar o efeito de moduladores epigenéticos na dinâmica de estabilização do fenótipo tumoral e seu impacto na resposta de tolerância à terapia. **Materiais e métodos:** Células da linhagem de glioma humano, U251, foram plaqueadas em baixa densidade para a realização de ensaios clonogênicos, onde se tornou possível a análise da taxa de crescimento das colônias através da duplicação da população (PD). Para tais experimentos, foram utilizadas as combinações de Saha e Azacitidina, que são, respectivamente, inibidor de histona deacetilase (HDAC) e inibidor de DNA-metiltransferase (DNMT), favorecendo uma estabilização da dinâmica do fitness celular, definido pela quantidade de descendentes gerados. O plaqueamento ocorreu no dia 0, seguido da adição de Saha e Azacitidina no dia 1. No 4º dia, foi adicionada a terapia padrão para glioma, Temozolomida (TMZ), que é um agente alquilante de DNA capaz de provocar a quebra da dupla fita, em combinação com os moduladores previamente adicionados. No 7º dia, o tratamento foi retirado e as células foram mantidas apenas em meio de cultura até o 10º dia de experimento. Fotos foram tiradas nos dias 4, 7 e 10, no SpectraMax, com o objetivo de observar o crescimento durante e após o tratamento. As imagens das colônias foram analisadas e contadas manualmente usando o ImageJ, e em seguida, plotadas como gráficos, onde a variância de crescimento da colônia foi plotada em relação ao tamanho inicial da mesma. Para comprovar o efeito da remodelação da cromatina, foi feito um western blot para a histona 3 acetilada na lisina 9 (H3k9ac), pois ela está altamente correlacionada com promotores ativos, onde as células foram plaqueadas em uma densidade de 100.000 por poço e tratadas com diferentes moduladores epigenéticos durante 6 dias. **Resultados:** A combinação de Saha, Aza e TMZ manteve a variância entre as colônias em um valor similar independente do número de células na colônia, diferente da instabilidade fenotípica causada pelo tratamento apenas com Temozolomida. No western blot, o Saha aumentou a acetilação da H3k9ac quando comparado ao controle. Além disso, também foi demonstrada a participação da azacitidina na prevenção da acetilação de H3k9. **Conclusão:** A combinação de Saha e Azacitidina foi capaz de induzir uma estabilização de fenótipo de tolerância induzida por agentes quimioterápicos, comprovando que a interferência em vias epigenéticas chaves pode levar à modulação da sensibilidade e tolerância.