



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2020: SIC - XXXII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2020
<b>Local</b>	Virtual
<b>Título</b>	Análise da variância morfométrica nuclear de células de glioma tratadas com moduladores epigenéticos
<b>Autor</b>	CAROLINA NUNES SANTO
<b>Orientador</b>	GUIDO LENZ

Análise da variância morfométrica nuclear de células de glioma tratadas com moduladores epigenéticos

Carolina N. Santo, Jephesson A. Santos, Guido Lenz.  
Laboratório de Sinalização e Plasticidade Celular - UFRGS

**Introdução:** O glioblastoma é um tumor cerebral maligno muito comum e agressivo, com uma taxa de sobrevida média de 14 meses. O principal tratamento quimioterápico utiliza a Temozolomida (TMZ), um agente alquilante que causa quebras duplas da fita de DNA, ativando diversos processos celulares como autofagia, apoptose, parada de ciclo e senescência. Por ser um tumor de grande heterogeneidade genética e epigenética, as células respondem de diferentes formas ao TMZ. Experimentos anteriores do nosso laboratório exploraram a capacidade de moduladores epigenéticos em estabilizar o fenótipo e padronizar a resposta ao TMZ através da análise da variância entre colônias e seus respectivos tamanhos. A combinação de Saha, um inibidor de histona deacetilases, Azacitidina, um inibidor de DNA metiltransferases, e TMZ gerou os melhores dados. Por isso, aqui, visamos buscar os mecanismos com que esses moduladores foram capazes de estabilizar o fenótipo. Caracterizamos a variância de estados fenotípicos de acordo com a morfometria nuclear durante o tratamento com Saha, Aza e TMZ (SAT) através de uma ferramenta desenvolvida no nosso laboratório, *Nuclear Morphometric Analysis (NMA)*. O NMA é capaz de quantificar de forma simples a proporção de células em senescência, catástrofe mitótica e apoptose através de inúmeros parâmetros de tamanho e irregularidade nuclear. **Objetivos:** Explorar a variância da heterogeneidade morfométrica nuclear das células em colônias tratadas com moduladores epigenéticos ao longo do tempo. **Metodologia:** Foram utilizadas células da linhagem de glioma humano A172 transduzidas com o plasmídeo Apple-53BP1trunc (Addgene #69531), pois a proteína 53BP1 é essencial para a sinalização do dano ao DNA e facilitaria nossas análises através da marcação nuclear. As células foram plaqueadas em uma densidade de 20 células por poço, para que pudéssemos acompanhar a formação das colônias a partir de células únicas. O grupo controle permaneceu com meio de cultura durante todo o experimento. No grupo TMZ, este fármaco ficou em contato com as células do dia 4 ao dia 7. O grupo SAT recebeu os moduladores epigenéticos após 24 horas de plaqueamento e no 4º dia a combinação completa, que permanecia até o 7º dia. Fotos foram tiradas com o equipamento InCell Analyzer nos dias 4, 7 e 10. No NMA, os dados obtidos com o grupo controle serviram para a padronização dos parâmetros de normalidade, que foram plotados de acordo com o tamanho e irregularidade do núcleo. **Resultados:** O NMA revelou uma estabilização da proporção de células em senescência no grupo SAT. A partir disso, calculamos o coeficiente de variação (CV) de cada colônia e a média do CV dos grupos TMZ e SAT. Encontramos, no dia 4, um CV de área de 0,15 no controle, 0,20 para o TMZ e 0,19 para o SAT. Já na irregularidade nuclear, 0,13 para o controle, 0,13 para TMZ e 0,08 para o SAT. Esses dados sugerem que o SAT não foi capaz de estabilizar o tamanho nuclear, mas que suas colônias possuíam maior homogeneidade de irregularidade. Além disso, calculamos a taxa de crescimento das colônias para explorar se havia relação entre a diminuição da heterogeneidade no grupo SAT e o aumento da morte celular e senescência. Com a diminuição encontrada entre os dias 4 e 7, podemos sugerir que a combinação SAT induz uma maior homogeneidade através do aumento de citotoxicidade.