

# Análise do perfil genético de culturas primárias derivadas de glioblastomas e sensibilidade *in vitro* a quimioterápicos

Rafael Becker, Guido Lenz

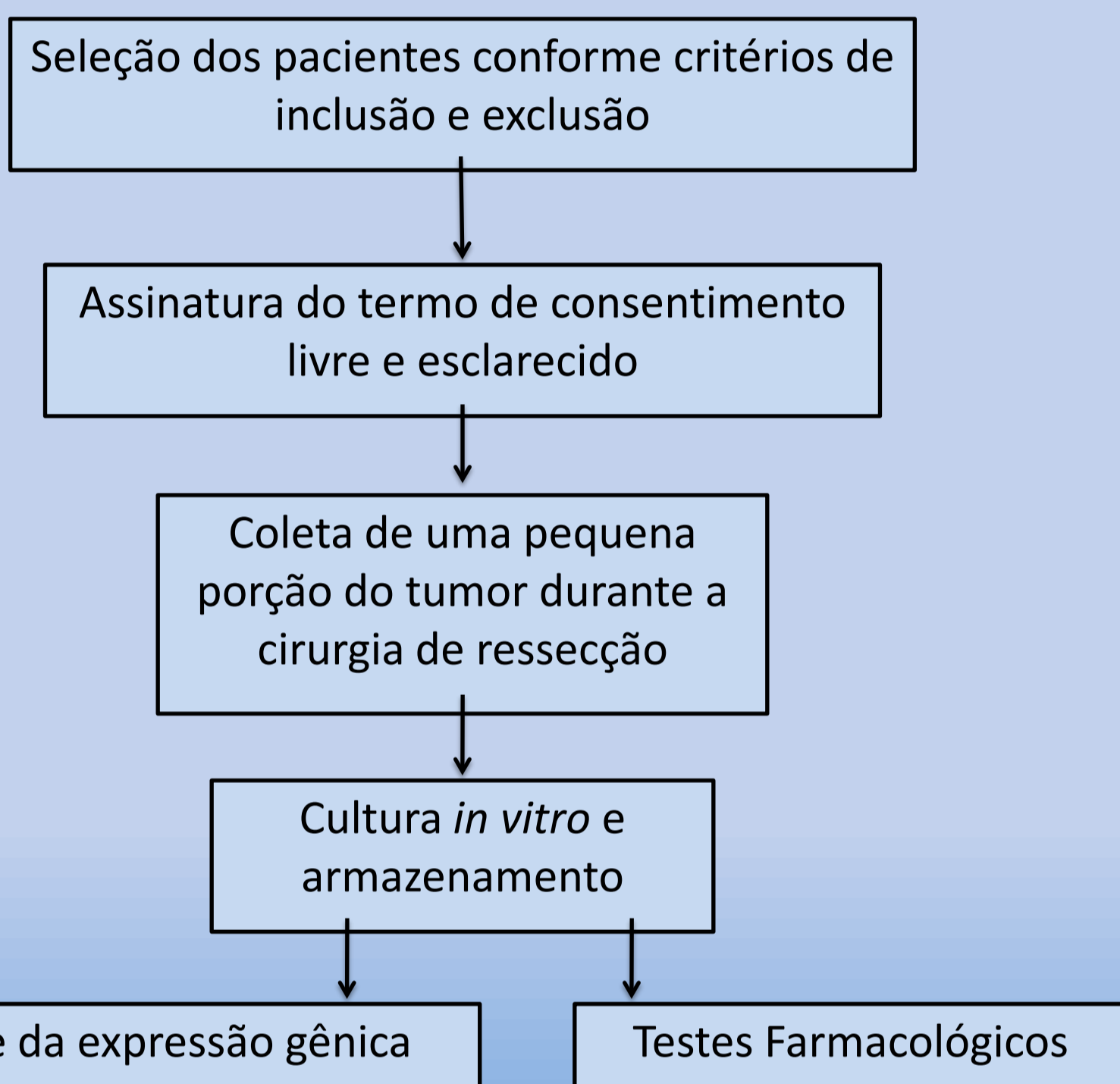
## Introdução

Gliomas são os tumores mais comuns e agressivos do sistema nervoso central. A sobrevida média dos pacientes submetidos à ressecção cirúrgica combinado à quimio e radioterapia é de doze meses. Nos últimos anos pouco se avançou na eficácia de novos quimioterápicos.

Um dos motivos que pode dificultar o tratamento é a heterogeneidade intratumoral já que um projeto do *The Cancer Genome Atlas* (2010) classificou os gliomas em quatro subtipos de acordo com expressão, mutação e deleção de genes e correlacionou isso à sensibilidade a diferentes terapias.

Sendo assim, o objetivo do presente projeto é correlacionar alterações genéticas com sensibilidade a quimioterápicos em busca de testes capazes de prever a resposta terapêutica.

## Materiais e Métodos



- Para obtenção de cultura primária de glioblastomas os tumores foram macerados mecanicamente e mantidas em DMEM F12 suplementado com 10% de SFB a 37°C

- Os testes de viabilidade celular foram feitos 7 e 14 dias após o tratamento com os fármacos temozolomida (30, 50 e 100 µM), cisplatina (8,33 e 16,66 µM), doxorubicina (0,5 e 1,0 µM), carmustina (23,36 e 46,73 µM), etoposídeo (17 e 50,97 µM) e vincristina (54,17 e 108,34 µM) incubando as células com MTT por 6 horas.

- Para a análise de expressão gênica genes apontados como capazes de classificar os tumores nos quatro diferentes subtipos (Figura 1) foram escolhidos. O mRNA foi extraído com Trizol seguido por RT-PCR para p53, PTEN, EGFR, SOX2, Nanog, Musachi, Oct4, CD73, NTPDase1 e NTPDase2. Como gene normalizador foi utilizado β-actina.

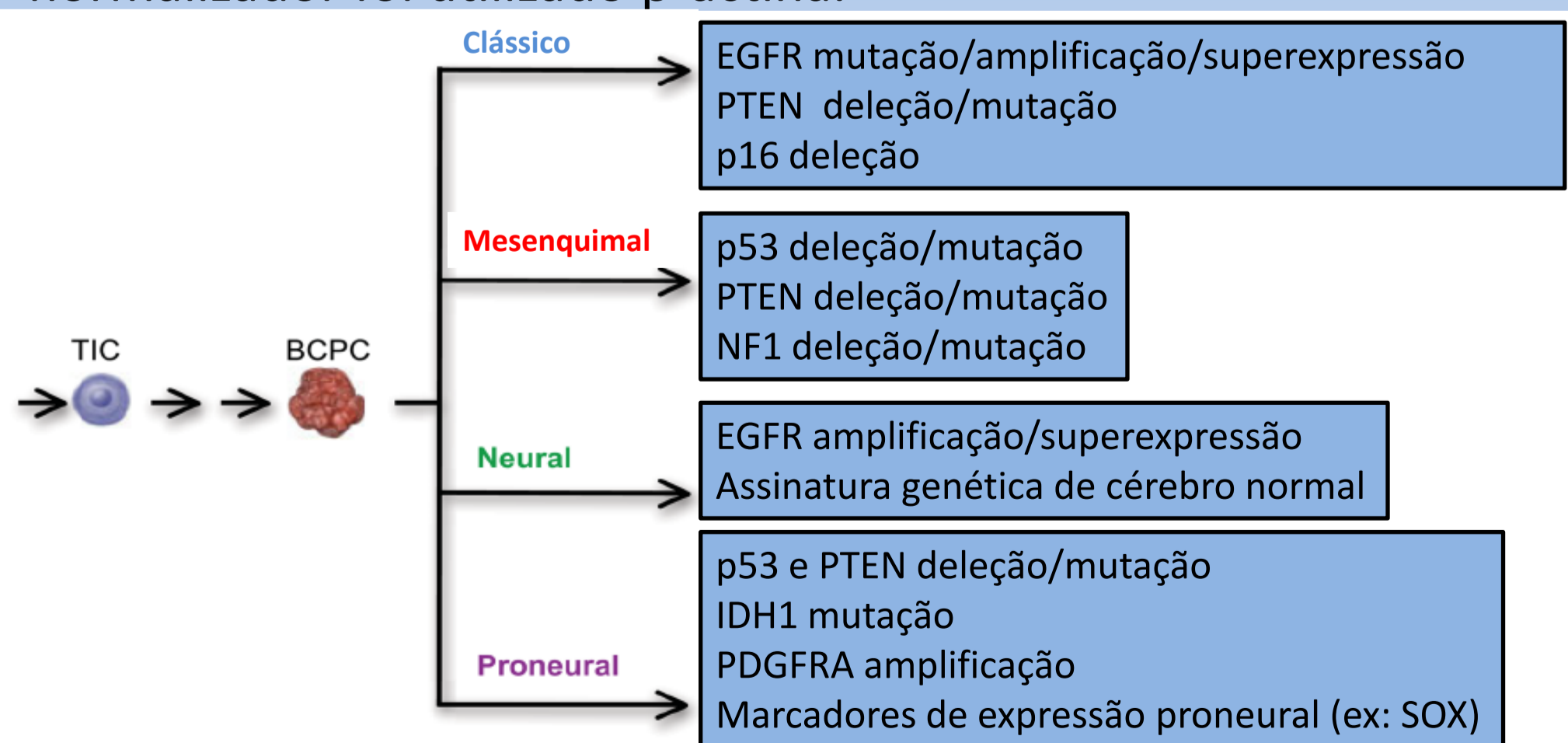


Figura 1: Mudanças genéticas nos subtipos de gliomas. TIC: células iniciadoras; BCPC: células propagadoras do câncer.

## Resultados

Foi possível obter uma cultura aderente, homogênea e confluenta de todos os tumores recebidos nas condições descritas em um período de até duas semanas (Figura 2).

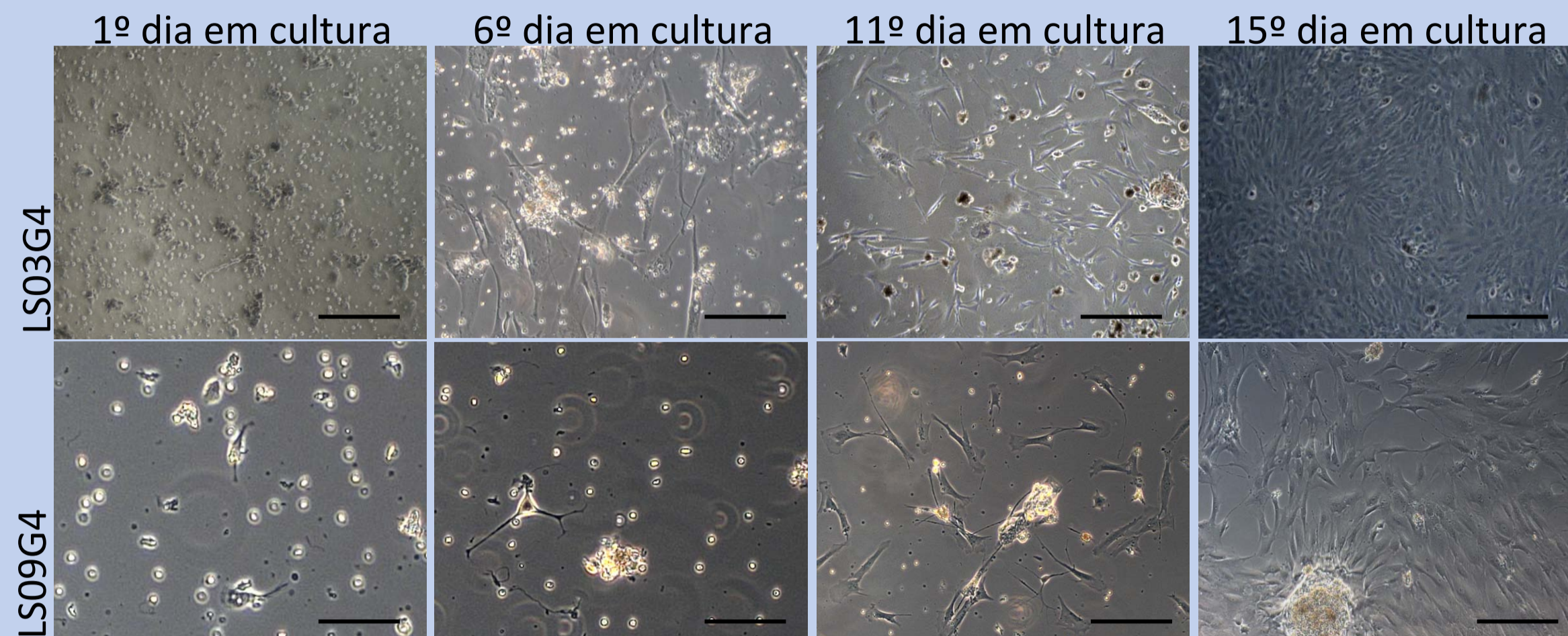


Figura 2: morfologia de duas culturas primárias de glioblastoma obtidas como descrito.

Os ensaios de viabilidade celular (Figura 3) demonstram que um dos pacientes (LS06G4) é resistente a todas as drogas testadas na concentração plasmática. Os demais pacientes apresentam sensibilidade variada.

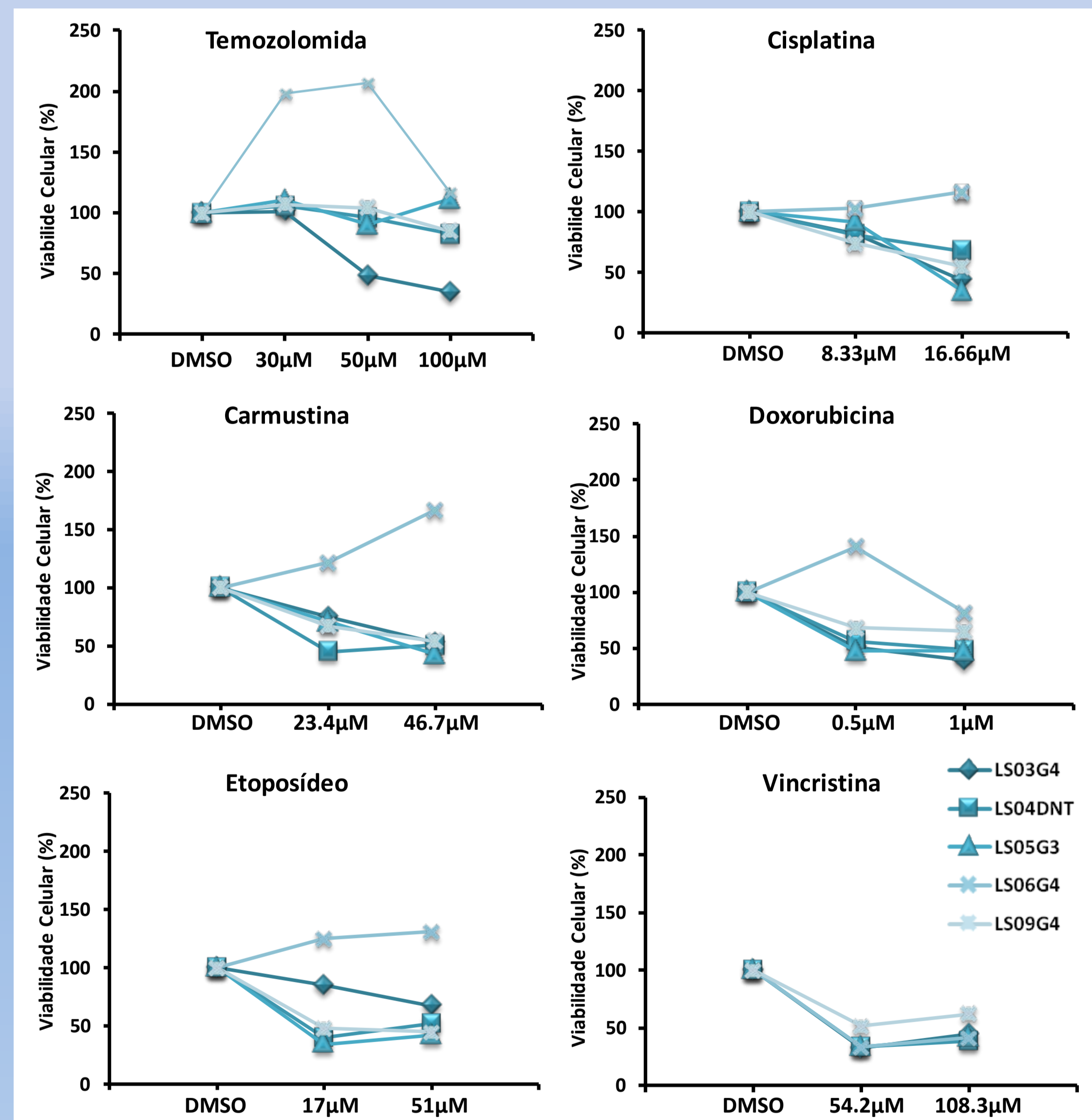
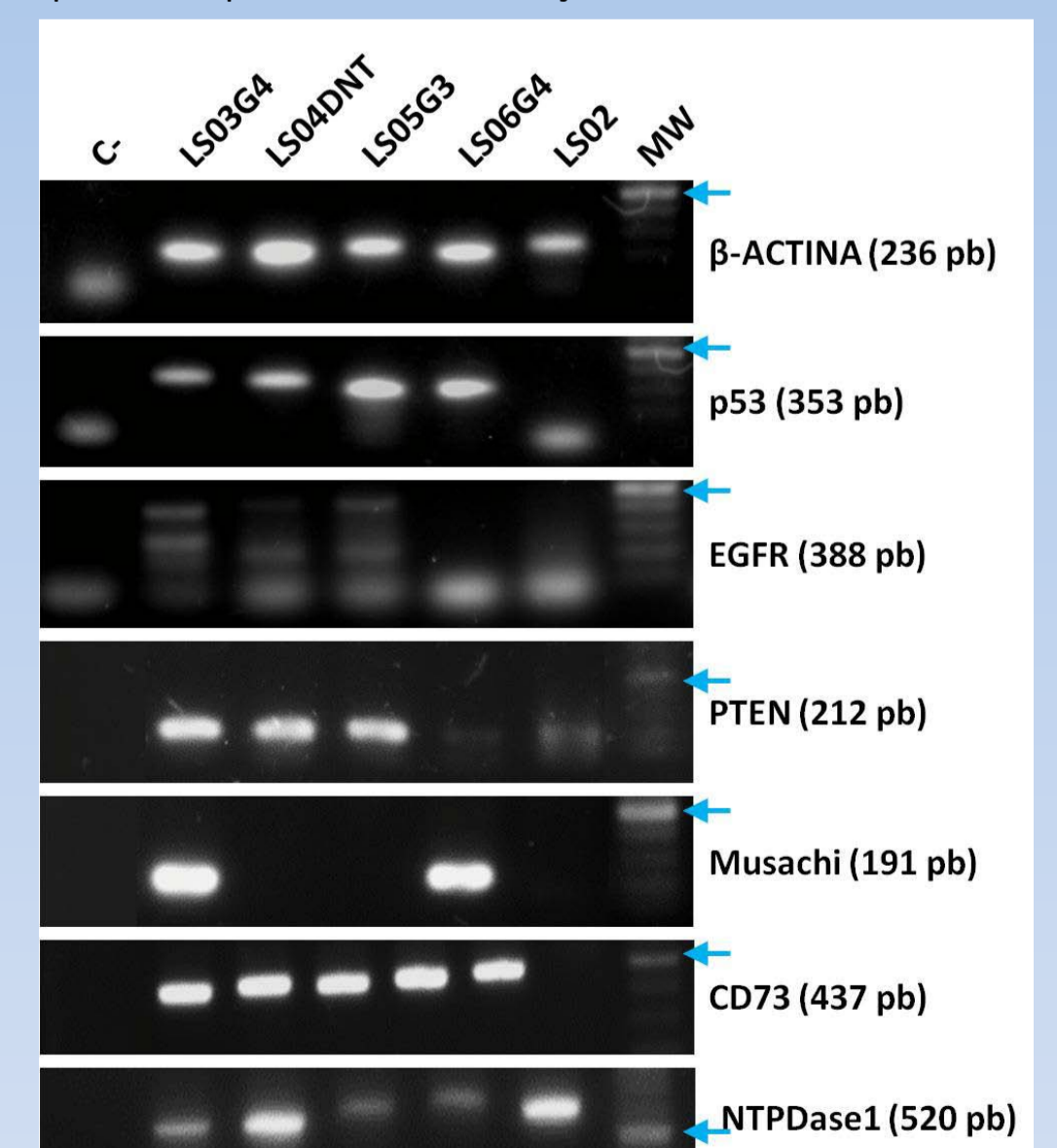


Figura 3: viabilidade celular 7 dias após o tratamento com os quimioterápicos nas concentrações indicadas.

A análise da expressão gênica (Figura 4) demonstra que os pacientes apresentam expressão variável de alguns genes apontados pelo TCGA que podem estar envolvidos com a resposta aos diferentes fármacos e que poderiam funcionar como marcadores. Testes estatísticos de correlação precisam ser realizados.

Figura 4: análise da expressão de diferentes genes que podem correlacionar com a sobrevida média. As setas correspondem ao tamanho de 500pb do marcador.



Agência financiadora



## Referências:

Van Meir *et al.* Exciting new advances in neuro-oncology: the avenue to a cure for malignant glioma. *CA Cancer J Clin.* 2010 May-Jun;60(3):166-93

## Perspectivas:

Correlacionar dados da expressão gênica com a sobrevida dos pacientes e sensibilidade *in vitro* aos diferentes quimioterápicos disponíveis para terapia.