



### Introdução

O comportamento tolerante das células tumorais, frente a quimioterápicos, é possível devido a diversos mecanismos moleculares que conferem a elas a capacidade de sobreviverem a pressões seletivas impostas por um ambiente nocivo. Esse é o caso de células que experimentam os principais efeitos tóxicos dos agentes alquilantes quando requerem passagem pela fase S do ciclo celular. Ao trabalhar com colônias de células, que são derivadas da mesma célula única, podemos acompanhar qual o nível de herdabilidade de qualquer fenótipo, como, por exemplo, o de tolerância. Dessa forma, investigar a herdabilidade do tempo de divisão entre células-mães e filhas pode ajudar na investigação da relação entre as fases do ciclo celular, que pode apresentar uma duração de 18 horas ou até mesmo dias, e sua correlação com a sensibilidade à terapia. Ao analisar diretamente a flutuação do fenótipo de células individuais através do marcador FUCCI (que marca em fluorescência verde as fases G2/S/M), podemos acompanhar a sincronia de ciclo celular entre células da mesma colônia, de forma que se todas as células dentro das colônias estiverem sincronizadas, teríamos colônias verdes e colônias sem fluorescência. Se as células perdem sincronia conforme a colônia cresce e ocorrem mais divisões celulares, a porcentagem de fluorescência verde dentro das colônias terá variação, e isso fará com que o número de colônias com células fluorescentes e não-fluorescentes misturadas aumente. A análise do número de gerações necessárias para que células clonais, que teoricamente possuem parentesco próximo e portanto compartilham o mesmo DNA, sejam dessincronizadas mostra a existência de possíveis diferentes respostas à quimioterapia de células com relação de parentesco próximo, pelo simples fato de elas terem sido dessincronizadas ao longo das gerações.

### ANÁLISE DA SINCRONIA DO CICLO CELULAR ENTRE CÉLULAS TUMORAIS CLONAIS E SUA RELAÇÃO COM A VARIAÇÃO DE SENSIBILIDADE À QUIMIOTERAPIA

Autora: Daphne Tórgo de Lemos

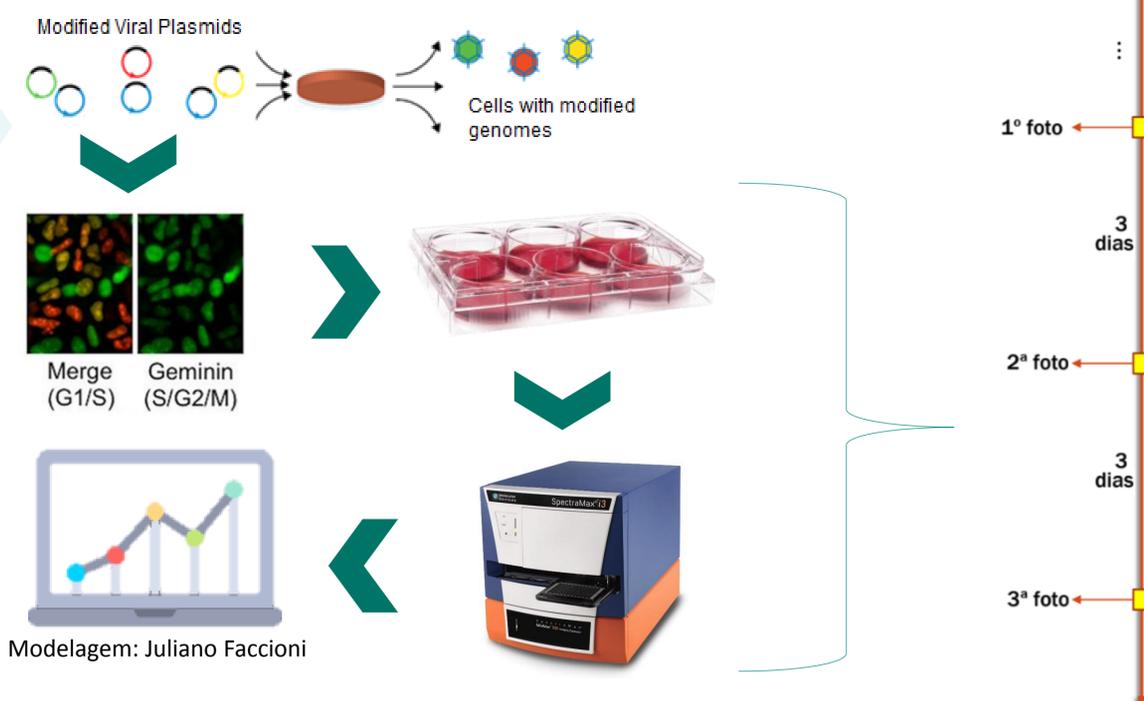
Orientador: Guido Lenz

### Objetivo

Analisar quantas gerações são necessárias para que as células clonais constituam uma colônia com fenótipo dessincronizado.

### Metodologia

Das células tumorais da linhagem U251 transduzidas com o plasmídeo FUCCI (Addgene pBOB-EF1-FastFUCCI-Puro) mantidas em cultura, 300 células foram plaqueadas por poço, em uma placa de 6 poços, e cultivadas até formarem colônias. As colônias foram fotografadas com o aparelho SpectraMax® MiniMax Imaging Cytometer, seguindo a linha do tempo mostrada abaixo. A contagem de células por colônia foi feita através do software ImageJ. Foram feitas **simulações para colônias de tamanhos diferentes e com diferentes tempos de fase** (que representa o quão dessincronizadas são as células, pois ele é a diferença de tempo no ciclo entre duas células) e a distribuição simulada que mais se aproximou da distribuição experimental nos **indicou qual é o tempo de fase entre as células de uma mesma colônia**. Através da análise desses dados obtém-se o valor de **Cev50**, que é o número de gerações necessárias para alcançar o que representa metade da dessincronização máxima.



### Resultados e Conclusão

Os resultados obtidos até o momento indicam que **o valor de Cev50 é 3.8**, o que significa que em 3.8 gerações (que resulta em torno de 14 células) as células têm metade da dessincronização máxima. Isso significa que **essas colônias já podem responder de forma diferente à quimioterapia** porque numa colônia já existem células em diferentes fases do ciclo celular.

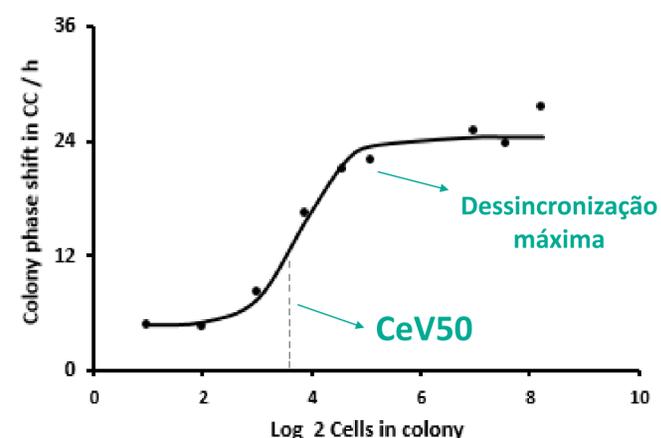


Figura 1. Diferença no tempo de ciclo celular entre células de uma colônia relacionada com o número de células dentro da mesma colônia.

Agradecimentos:

