



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