



Estudo *in vitro* do potencial de indução de erosão telomérica por terapia antitelomerase em células de glioma.

Thiago Rodrigues Gabriel, Diêgo M. de Oliveira

Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia, Brasília-DF, Brasil

Introdução

Gliomas são tumores originados em células da glia, localizado no cérebro. Uma vez que o inibidor de telomerase MST-312 tem demonstrado interessante ação antitumoral *in vitro* por provocar erosão telomérica em diversas linhagens celulares, mas não há registros de estudos com esse composto em células de glioma. O objetivo do presente estudo foi determinar o perfil tóxico dessa droga em células de glioma humano da linhagem U87.

Metodologia

- Células foram cultivadas em condição padrão (37°C, 5% CO₂, meio DMEM suplementado)
- Avaliação do efeito tóxico do MST-312 por teste do MTT e análise de morfologia e confluência de placa (microscopia de contraste de fase).
- Tratamento a longo prazo com baixa concentração para avaliar o efeito da erosão telomérica. Por contagem direta.

Resultados e Discussão

A viabilidade celular avaliada pelo teste do MTT mostrou que concentrações da droga maiores que 10 µM apresentam efeito tóxico.

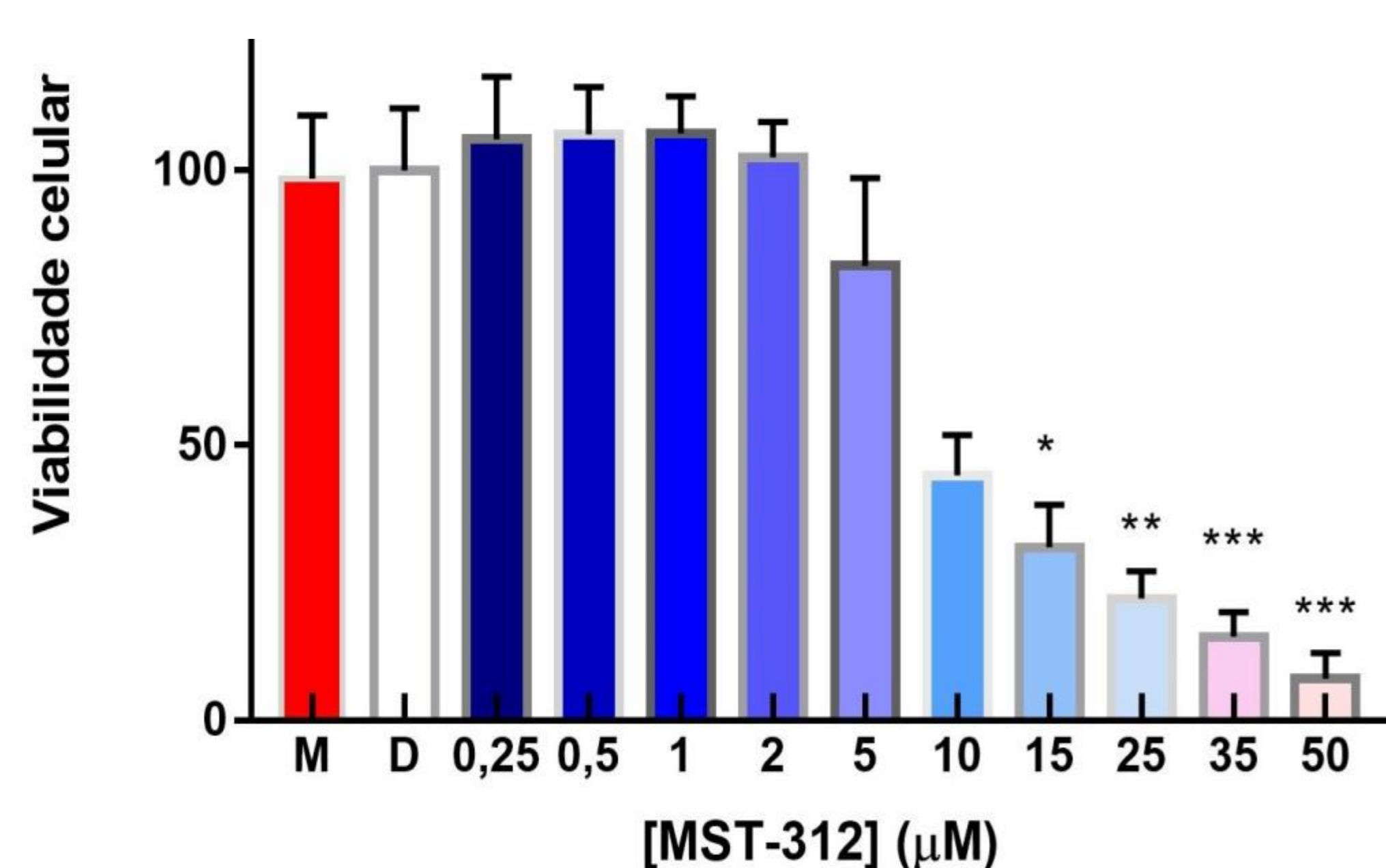


Figura 1. Gráfico de viabilidade celular contendo as concentrações crescentes e a porcentagem da viabilidade em relação ao grupo controle. No eixo X estão as concentrações (M=Meio puro, D=DMSO 0,5%), e no Y os valores de viabilidade celular em percentual do controle. (*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001; ANOVA seguido de Dunnetts pós-teste).

Apesar de não ter demonstrado efeito em baixas concentrações, a ação do composto é claramente dose-dependente.

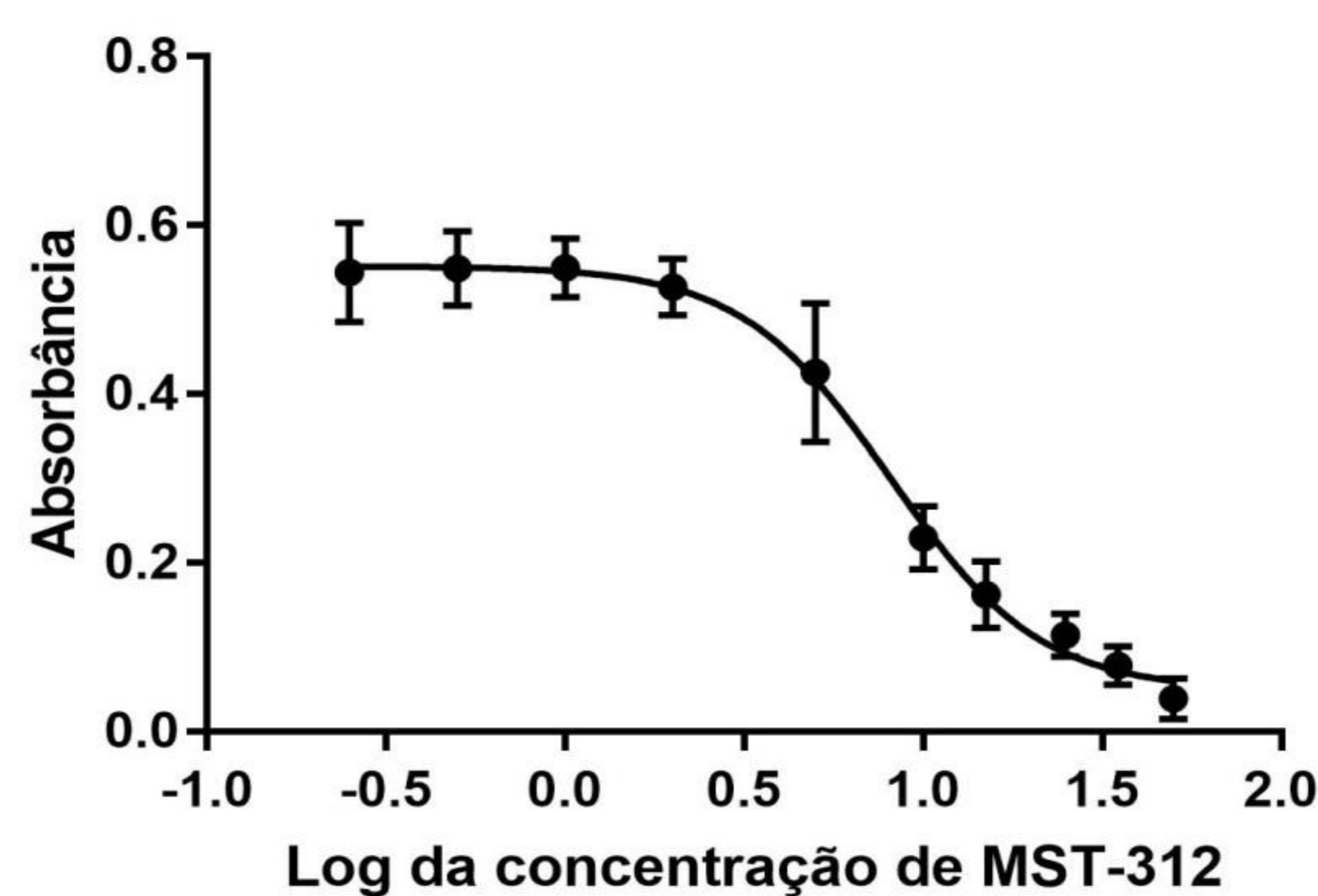


Figura 2. Regressão não-linear (curva logarítmica) da ação tóxica do MST-312 em 72h.

A ação tóxica do MST-312 foi confirmada por análise com microscopia de contraste de fase, que demonstrou mudanças na morfologia (retração citoplasmática compatível com morte celular) e redução do número total de células nas placas tratadas com a droga em alta concentração.

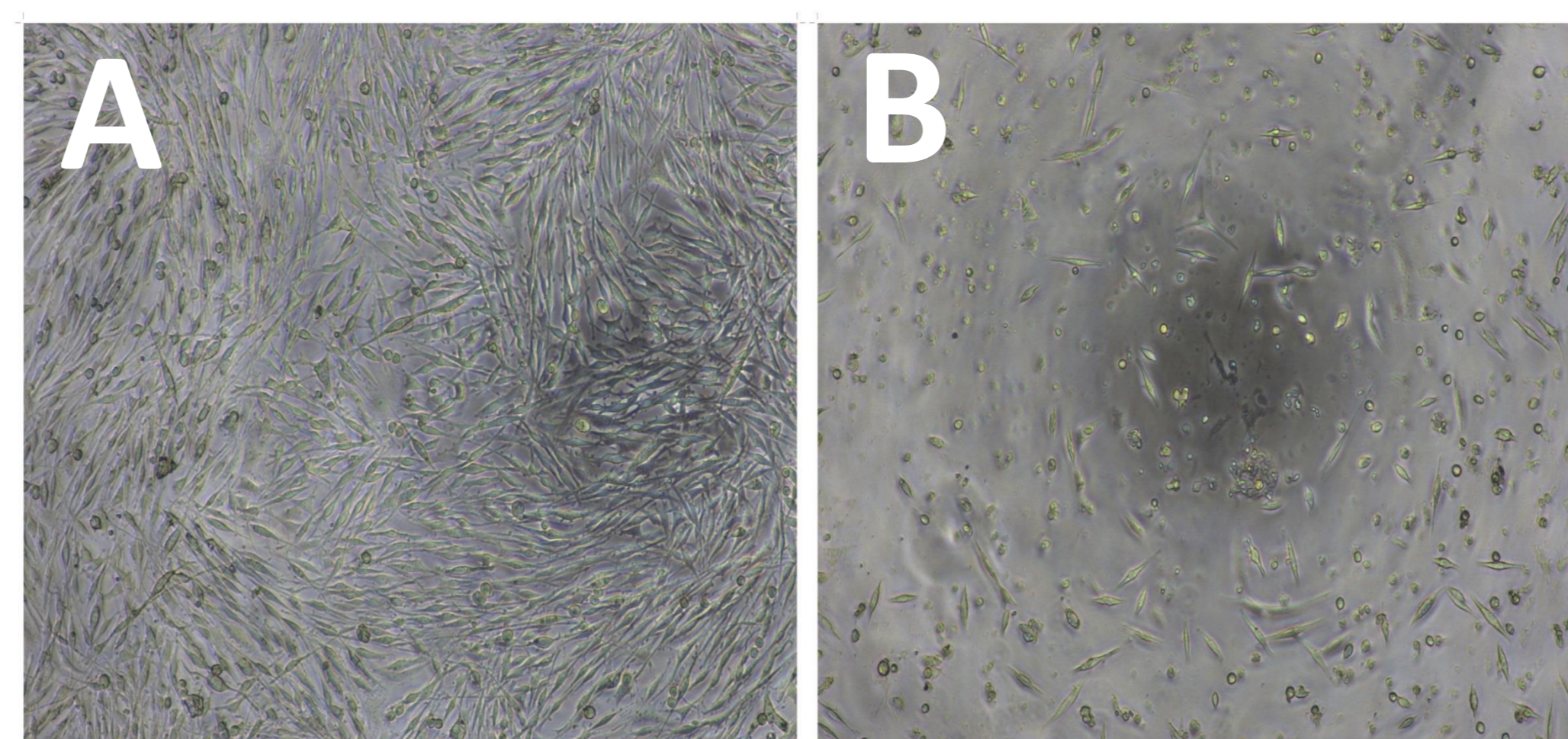


Figura 3. Fotomicrografias de contraste de fase de células tratadas por 72h com MST-312 a 0,25 µM (A) e 50µM (B).

Considerando a concentração de 2µM como sub-tóxica, foi desenvolvido um estudo de tratamento de longo prazo para observação do comportamento das células após diversos ciclos de divisão com inibição da telomerase, o que teoricamente levaria à erosão dos telômeros e crise.

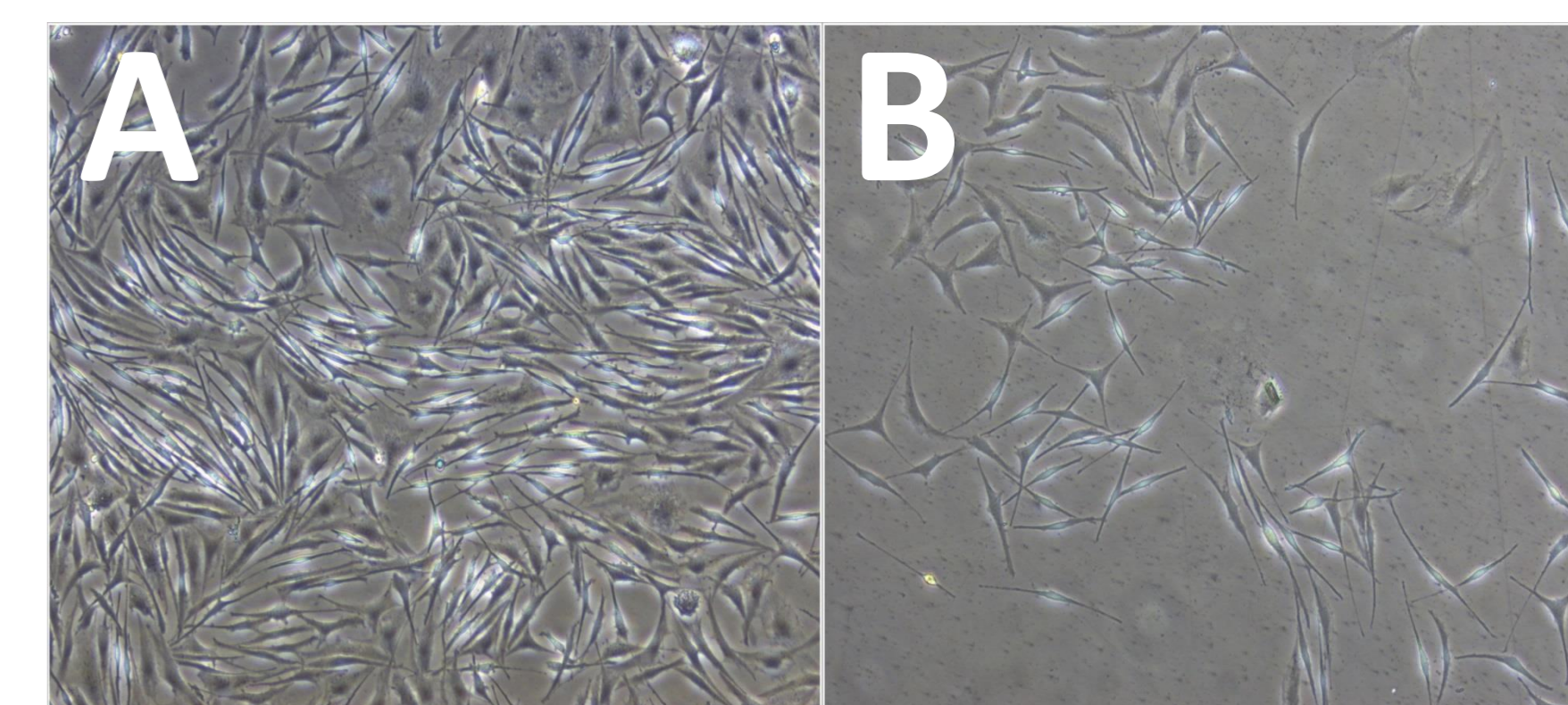
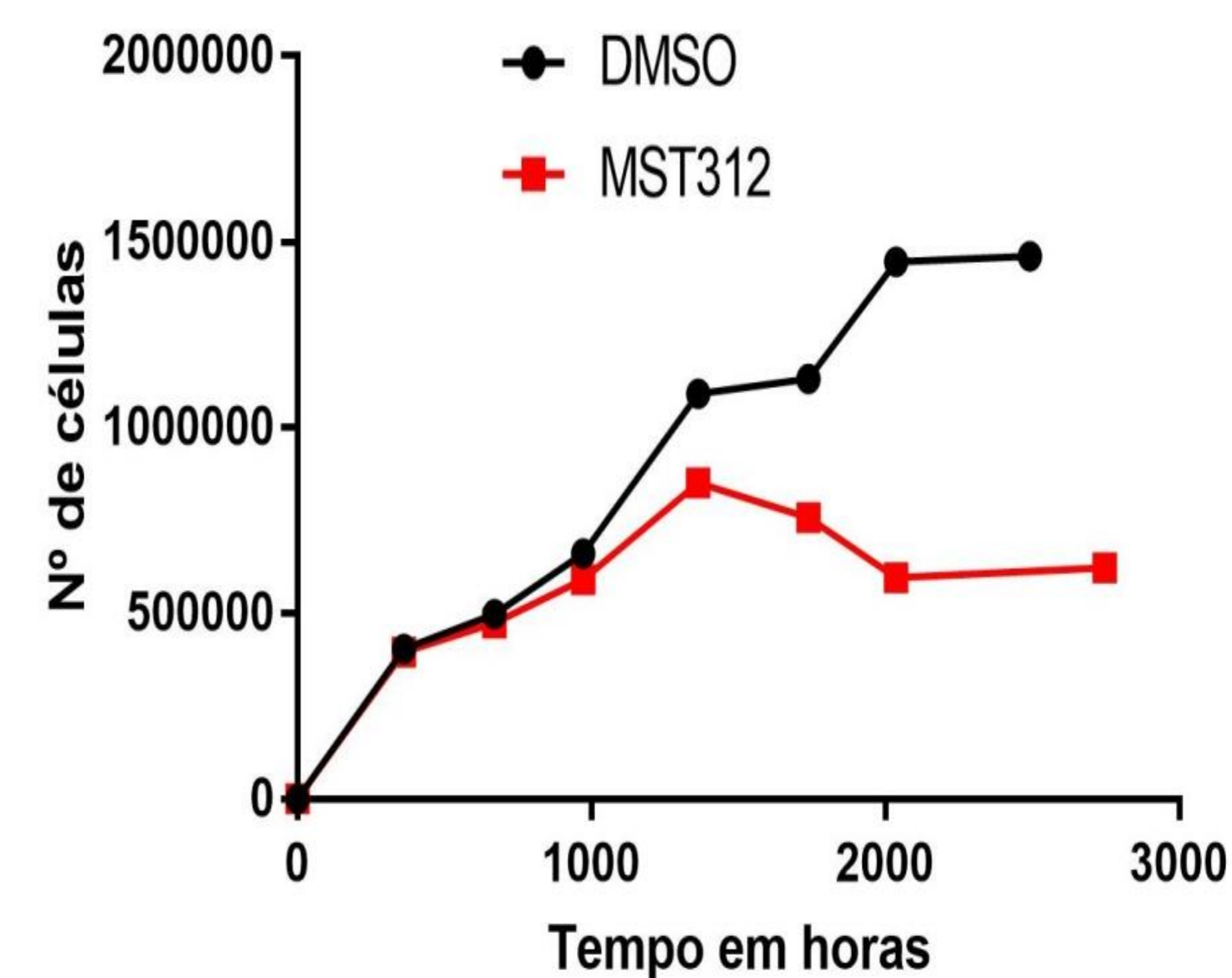


Figura 4. Gráfico de crescimento das culturas em condições controle (DMSO a 0,02%) e tratadas com MST-312 a 2µM. NA fotomicrografia de contraste de fase A observa-se o padrão morfológico da cultura controle após 1739 horas de exposição ao diluente da droga (DMSO), e na B o da cultura exposta ao MST-312 pelo mesmo período de tempo.

Conclusão

A droga se mostrou tóxica em curto prazo se utilizada em concentrações relativamente altas, com um valor de IC₅₀ estimado entre 7 e 9µM. No tratamento de longo prazo, houve uma ação de inibição do crescimento celular significativa pela droga. Isso aconteceu num tempo próximo a 1500 horas de tratamento com baixa concentração de MST-312, o que leva a concluir que a linhagem de glioma humano utilizada é susceptível à erosão telomérica causada pela inibição da telomerase, embora tal hipótese precise ser confirmada por testes que avaliem o encurtamento progressivo dos telômeros.