



## CB. O Silenciamento de Tenascina C é capaz de diminuir marcadores relacionados à radioresistência, através da via de TGF- $\beta$ , e marcador do estado mais proliferativo das células de glioblastoma.

Guilherme Souza<sup>1</sup>, Pedro Oliveira Baracat<sup>1</sup>, Mateus Priolo Grejo<sup>1</sup>, Valeria Valente<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Campus de Araraquara – SP, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP

**Introdução.** O glioblastoma (GB) é o tumor maligno primário mais comum do sistema nervoso central e apresenta prognóstico muito desfavorável, uma vez que as opções de tratamento são ineficazes. Há, para o GB, a caracterização de dois estados celulares, o pro-neural, com células mais proliferativas e menos diferenciadas, SOX2 sendo um marcador deste estado, e o estado mesenquimal, com células mais resistentes ao tratamento, um marcador sendo vimentina. Pesquisas anteriores do nosso laboratório identificaram, por meio de dados de RNAseq, Tenascina C (TNC) correlacionada com a radioresistência do GB. Essa proteína apresenta níveis de expressão mais elevados em tecidos cancerígenos do que em tecidos normais. TNC é capaz de ativar a via de TGF- $\beta$ , esta citocina leva à transição epitelial-mesenquimal (TEM) nas células. TEM é descrita por tornar células tumorais mais resistentes aos possíveis tratamento. **Objetivos.** Os objetivos deste estudo foram elucidar o papel da TNC em conferir características relacionadas a um estado celular de maior resistência à radiação e se estas células retornariam a expressar marcadores relacionados ao estado mais proliferativo após o seu silenciamento. **Métodos.** Foi feito o silenciamento da linhagem com maior expressão de TNC em nosso laboratório, U251MG, utilizando duas diferentes sequências de siRNA, cuja eficiência de silenciamento foi analisada por RT-qPCR e *Western Blot*. Visando avaliar os marcadores relacionados a transição epitelial-mesenquimal e ao estado pro-neural, foram avaliados os níveis de vimentina e SOX2, por RT-qPCR, e de SMAD fosforilada, por *Western Blot*. Para a análise estatística dos resultados, os experimentos foram realizados, ao menos, em triplicatas. Os dados obtidos foram analisados através do teste estatístico one-way ANOVA, considerando diferença estatística quando ( $p < 0,05$ ). **Resultados e Discussão.** Utilizando as concentrações de 2 $\mu$ M; 10  $\mu$ M; 20 $\mu$ M de siRNA, foi possível alcançar até 80% de silenciamento de TNC a nível proteico. Nos níveis de RNAm foi observado um silenciamento de 70%. Os níveis de vimentina e SOX2 apresentaram diminuição de, respectivamente, 3 e 12 vezes os níveis de RNAm, e os níveis da proteína SMAD3 fosforilada diminuíram em 6 vezes. Estes resultados mostram que TNC está relacionada com a TEM, pela ativação de TGF- $\beta$ , levando as células de GB a um estado caracterizado como mais resistente ao tratamento, porém, sua inibição, além de diminuir marcadores deste estado de resistência, também diminui o marcador do estado proliferativo, indicando que seu silenciamento é capaz de levar a célula para um perfil mais diferenciado, logo, menos proliferativo. **Conclusões.** Os resultados mostram TNC como um ótimo alvo para novas terapias, já que modula as células do GB para um fenótipo mais resistente, mas que ao ser silenciada diminui os marcadores de resistência e não leva as células para características mais proliferativas.

**Palavras-chave:** glioblastoma; tenascina C; radioresistência.

**Apoio financeiro e agradecimentos:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).