



CB. Investigação da redução de HJURP mediante a indução de estresse replicativo em células de glioma

Pedro Vinícios De Oliveira Baracat¹; Geovana Navegante¹; Mateus Priolo Grejo¹; Maria Rafaela Lins Lamorea¹; Valeria Valente¹.

¹Departamento de Análises Clínicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP

Introdução: Gliomas representam o principal tipo de tumor cerebral primário. Atualmente os tratamentos para a maioria dos gliomas não prolonga significativamente a sobrevida do paciente, sendo que pacientes diagnosticados com glioblastoma (GBM), um dos subtipos mais letais, tem média de sobrevida de 14 meses. A proteína *Holliday Junction Recognizing Protein* (HJURP) tem expressão aumentada em gliomas, o que se relaciona com piores prognósticos, em parte por conferir radorresistência ao facilitar o reparo de DNA. Entretanto, pouco é sabido do papel que essa proteína exerce na regulação da proliferação dessas células. Nosso grupo observou que a indução de estresse replicativo (ER), um fenômeno frequente em células com alta taxa de proliferação, composto por parada de proliferação e possíveis posteriores danos no DNA por problemas na sua replicação, está relacionada com uma redução dos níveis de proteína HJURP. **Objetivos:** O objetivo deste trabalho é compreender os mecanismos envolvidos com a redução observada como se a mesma ocorre a nível de mRNA, tem envolvimento das quinases ATM e ATR, envolvidas na resposta do ER, e se a redução é importante para a expressão de p21, importante para parada de proliferação que ocorre no ER. **Metodologia:** Foi usada camptotecina, inibidor da topoisomerase II, para indução de estresse replicativo. Os níveis de mRNA e proteínas de interesse foram medidos por qRT-PCR e *western blot*, respectivamente. A inibição de ATM e ATR foi feita com inibidores comerciais conhecidos. Os experimentos foram realizados nas linhagens U87MG (GBM) e UW467 (astrocitoma grau III) contendo um vetor para a superexpressão de exógena de HJURP assim como na mesma linhagem carregando um vetor vazio como mimética do fenótipo selvagem. **Resultados:** Na linhagem U87MG, observamos que a indução de ER também causou redução dos níveis de mRNA de HJURP, inclusive na célula superexpressora, enquanto que na linhagem UW467 não se observou diferenças nos níveis de mRNA de HJURP mediante ER. A inibição de ATM e/ou ATR não influenciou na redução observada na linhagem U87MG mas, sim na linhagem UW467. Ademais, células da linhagem U87MG superexpressoras não expressaram p21 mediante ER nos mesmos níveis que as células carregando o vetor vazio, tanto a nível de mRNA quanto a nível de proteína. **Discussão:** Os resultados encontrados demonstram que existem diferenças na resposta de redução de HJURP mediante ER a depender do *background* genético de diferentes linhagens. Enquanto o ER na linhagem U87MG promove uma redução dos níveis de mRNA de HJURP, esses mecanismos não existem na linhagem UW467, assim como nesta linhagem a influência de ATM ou ATR é relevante para a redução nos níveis da proteína HJURP, o que não ocorre para aquela linhagem. Nossos dados também indicam que o mecanismo de redução dos níveis de mRNA de HJURP mediante ER na linhagem U87MG deva ser baseado na degradação do mRNA e não na redução da transcrição do mesmo, uma vez que acontece mesmo na linhagem que superexpressa HJURP exógena, independentemente dos mecanismos endógenos de transcrição do gene. Além disso, observamos que a expressão de p21 em situações de ER é comprometida mediante a superexpressão de HJURP, indicando que a redução desta proteína pode ser importante para a expressão de p21 e ocorrência de parada de proliferação que esta media.