

## **Plano de trabalhos para tese de Mestrado 2011/2012**

**Tema:** Novos modelos celulares de cancro da mama para investigação pré-clínica

**Orientadores:** Doutora Catarina Brito, Doutora Paula Marques Alves

**Local:** Unidade de Tecnologia de Células Animais, ITQB-UNL/IBET

**Web page do grupo:** <http://tca.itqb.unl.pt>

**Duração da componente experimental:** 1 ano lectivo

### **Enquadramento**

O desenvolvimento de novas terapias contra o cancro é feito tradicionalmente *in vitro*, em culturas celulares bidimensionais (2D) e *in vivo*, recorrendo a modelos animais geneticamente modificados. No entanto, estes modelos divergem significativamente do fenótipo humano (em termos anatómicos, de desenvolvimento e bioquímicos). As linhas celulares tumorais tradicionalmente utilizadas em laboratório sofreram adaptações que lhes permitem crescer no ambiente 2D das placas de cultura, não reproduzindo as interações célula-célula, célula-matriz e outros contactos do microambiente tumoral, que se sabem ser fundamentais na modulação da sinalização tumoral e na resposta biológica a agentes terapêuticos. Durante a progressão do cancro da mama, as vias de sinalização oncogénicas são altamente dependentes do contexto, sendo afectadas por componentes do estroma, como fibroblastos e células inflamatórias.

Estas diferenças contribuem para a falta de reciprocidade entre as respostas biológicas a fármacos observadas nas linhas celulares e verificadas *in vivo*, conduzindo consequentemente a uma elevada taxa de descontinuação em fases avançadas do processo de desenvolvimento de novos fármacos (fases II e III de ensaio clínico).

### **Objectivos**

Na Unidade de Tecnologia de Células Animais do ITQB-UNL/IBET trabalhamos com o objectivo de desenvolver novos modelos celulares *in vitro*, recorrendo a estratégias de cultura celular tridimensionais (3D) que, mimetizando mais fidedignamente o ambiente celular do organismo humano, possibilitam uma maior preditividade da avaliação de eficácia dos novos fármacos, contribuindo para uma maior taxa de sucesso.

Recorrendo a biorreactores de tanque agitado em modo operacional de perfusão, que permitem monitorizar e controlar as variáveis ambientais da cultura, propõe-se para este plano de mestrado estabelecer e caracterizar culturas de agregados de células tumorais e agregados de co-culturas com células do estroma. As condições serão optimizadas com o objectivo de conseguir culturas de longa duração, em que a disponibilidade de nutrientes, factores de crescimento e

citocinas, bem como a acumulação de produtos metabólicos, representem com a maior fidelidade possível o ambiente *in vivo* do tumor. As culturas serão caracterizadas em termos de proliferação e maturação, bem como morfológicamente e metabolicamente. Finalmente, as culturas serão avaliadas em termos de activação de vias de sinalização celular, recorrendo a compostos que se sabem afectar vias específicas. Este trabalho de mestrado será desenvolvido integrado no projecto europeu PREDECT ([www.predelect.eu](http://www.predelect.eu)), financiado pela *Inovative Medicine Initiative* (<http://www.imi-europe.org/>).

**Principais Metodologias:** Cultura de células tumorais (sistemas de cultura estáticos e agitados), microscopia de imunofluorescência, citometria de fluxo, Western Blot, RT-PCR quantitativo, métodos analíticos vários.