

# LASOM 63, UM DERIVADO DO MONASTROL, INIBE A ENZIMA ECTO-5'-NUCLEOTIDASE E INDUZ APOPTOSE EM CÉLULAS DE GLIOBLASTOMA



Elisa Helena Farias Jandrey

Orientadora Prof. Dra. Ana Maria Oliveira Battastini



## INTRODUÇÃO

Os gliomas são os tumores malignos mais comuns presentes no Sistema Nervoso Central (Kleihues P and Cavenee WK, 2000). Dentro destes, se destaca o glioblastoma multiforme (Grau IV segundo a OMS), que possui o pior prognóstico. A característica infiltrante desse tumor é a principal razão para o fracasso da ressecção do câncer, além da capacidade de auto-renovação dessas células, podendo levar a criação de um novo tumor. (Behin A, Hoang-Xuan K, et al, 2003). Apesar dos esforços, não houve aumento considerável da sobrevivência dos pacientes com a terapia atualmente utilizada, o que leva a necessidade do descobrimento de novos tratamentos. As diidropirimidinonas são uma classe de compostos heterocíclicos obtidos através da reação de Biginelli, e tem o Monastrol como protótipo. O Monastrol exerce uma inibição específica sobre a Eg5 (uma cinesina necessária para a formação do fuso bipolar) que é responsável por conduzir a parada no ciclo celular na fase mitótica. Já é descrita a atividade antitumoral do Monastrol contra tumores renais, de mama e gliomas (Mayer TU, Kapoor TM, et al, 1999). Desta forma, é interessante o estudo de moléculas derivadas do Monastrol. A hidrólise dos nucleotídeos extracelulares é mediada pelas ectoenzimas do Sistema Purinérgico. A ecto-5'-nucleotidase, responsável pela hidrólise de AMP a Adenosina, está altamente expressa em diversos tipos tumorais e está diretamente ligada à proliferação em células de glioma (Bavaresco L et al., 2008).

## OBJETIVOS

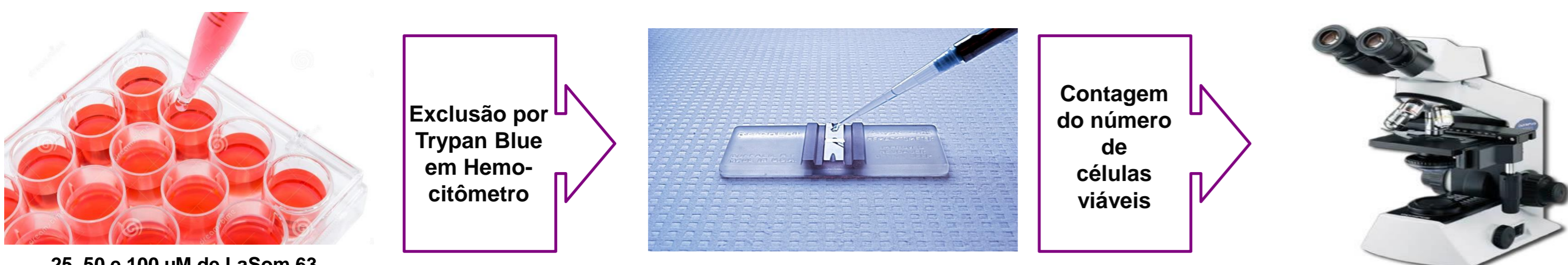
Tendo em vista o mau prognóstico do glioblastoma e a necessidade de novas terapias, os objetivos deste trabalho foram descrever o efeito do LaSOM 63 (5-Ethoxycarbonyl-6-methyl-4-(4-N,N-dimethylaminophenyl)-3,4-dihydro-pyrimidin-2-(1H)-thione), um derivado do Monastrol, contra células de glioma e seu possível efeito na enzima ecto-5'-nucleotidase.

## MATERIAIS E MÉTODOS

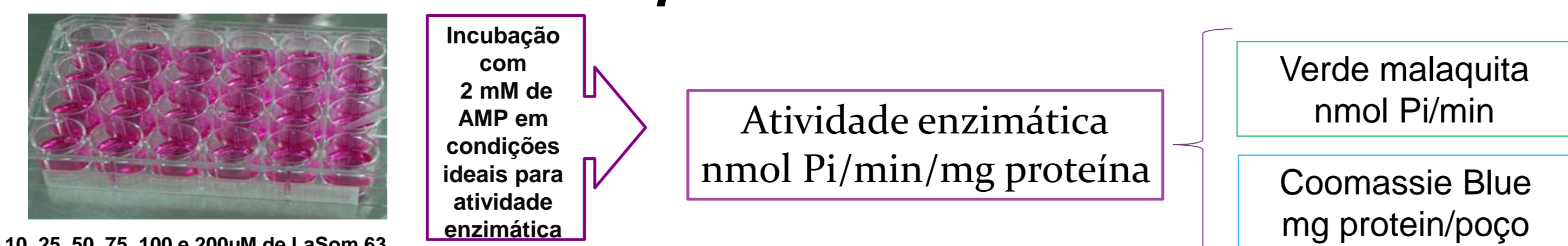
### 1. Viabilidade celular



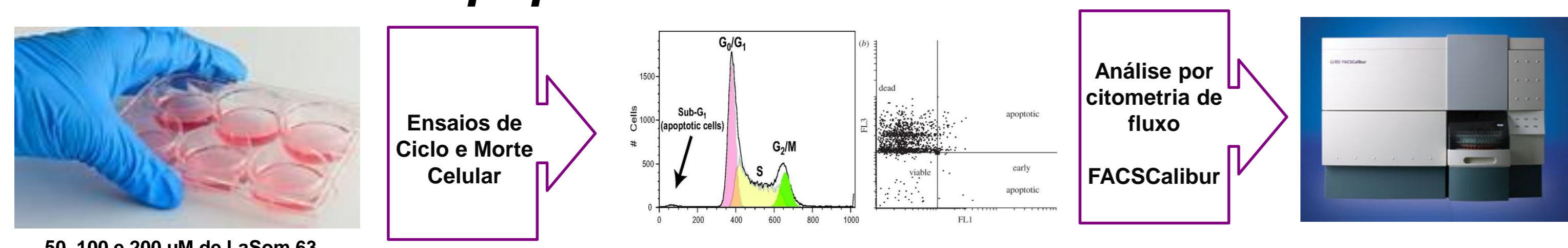
### 2. Número de células



### 3. Ensaio de Verde Malaquita – Atividade da Ecto-5'-nucleotidase



### 4. Ciclo celular e apoptose



## RESULTADOS

### → Atividade antitumoral e viabilidade celular:

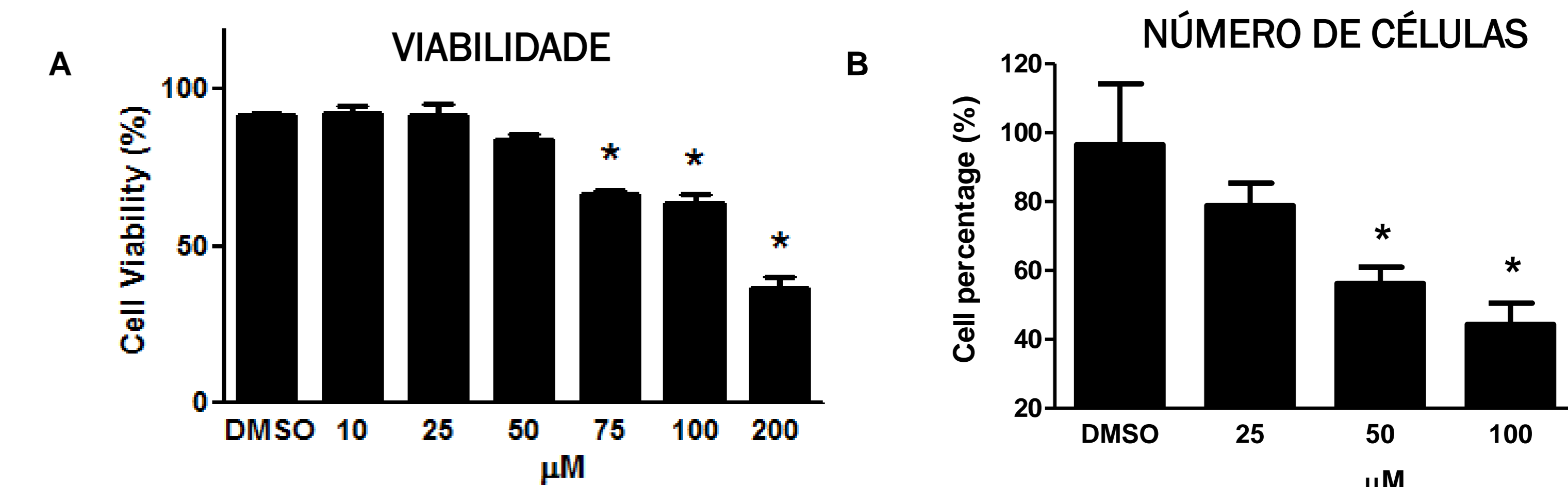


Fig 1. LaSOM 63 reduz a viabilidade e o número de células de glioma C6. As células C6 de glioma foram tratadas com Lasom 63 tal como descrito. Após 48 horas de tratamento, a viabilidade foi avaliada pelo ensaio de MTT (A) e o número de células por exclusão com azul de trypan (B). Os valores são apresentados como médias  $\pm$  S.D. de três experimentos independentes. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via (Tukey). \* Significativamente diferente do grupo controle (P <0,05).

### → Ciclo celular e apoptose induzida pelo LaSOM 63:

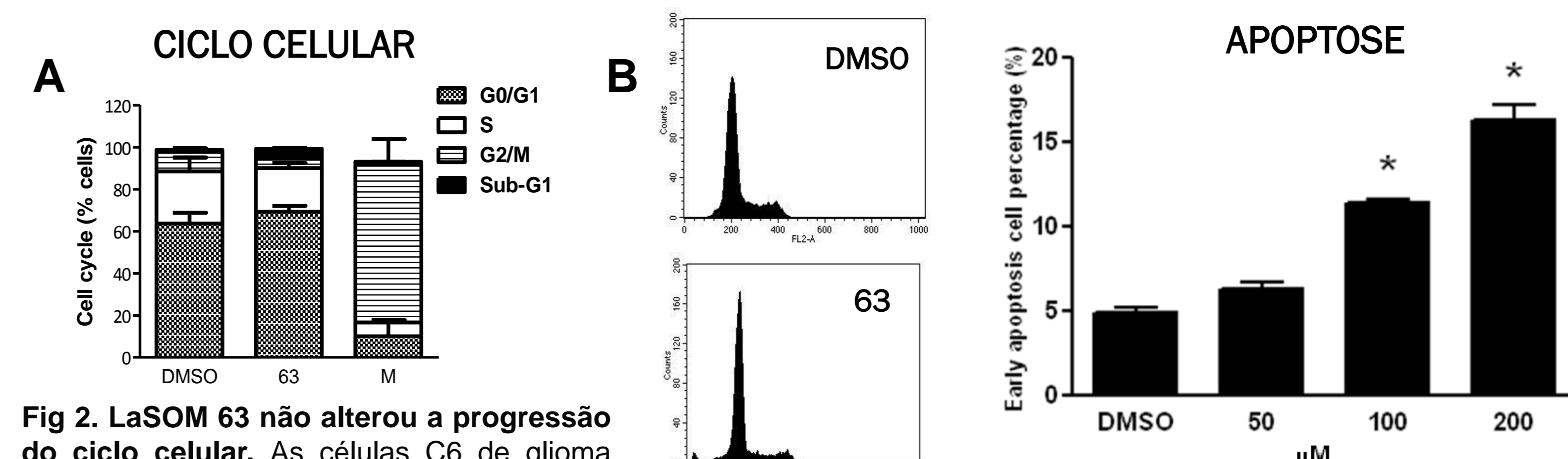


Fig 2. LaSOM 63 não alterou a progressão do ciclo celular. As células C6 de glioma foram tratadas tal como descrito durante 24 h. A experiência foi repetida três vezes (n = 3). (A) Os valores são apresentados como média  $\pm$  E.P.M. e foram analisados por ANOVA de uma via (Tukey). \*Significativamente diferente dos grupos de controle (P <0,05). (B) representação em histograma.

Fig 3. LaSOM 63 induz a morte celular por apoptose em células de glioma C6. As células C6 de glioma foram tratadas tal como descrito durante 24 h e coradas com anexina-FITC / PI. Os valores são apresentados como médias  $\pm$  S.D. e foram analisados por ANOVA de uma via (Tukey). \* Significativamente diferente do grupo de controle (DMSO) (P <0,05).

### → LaSOM 63 inibe a atividade da ecto-5'-nucleotidase:

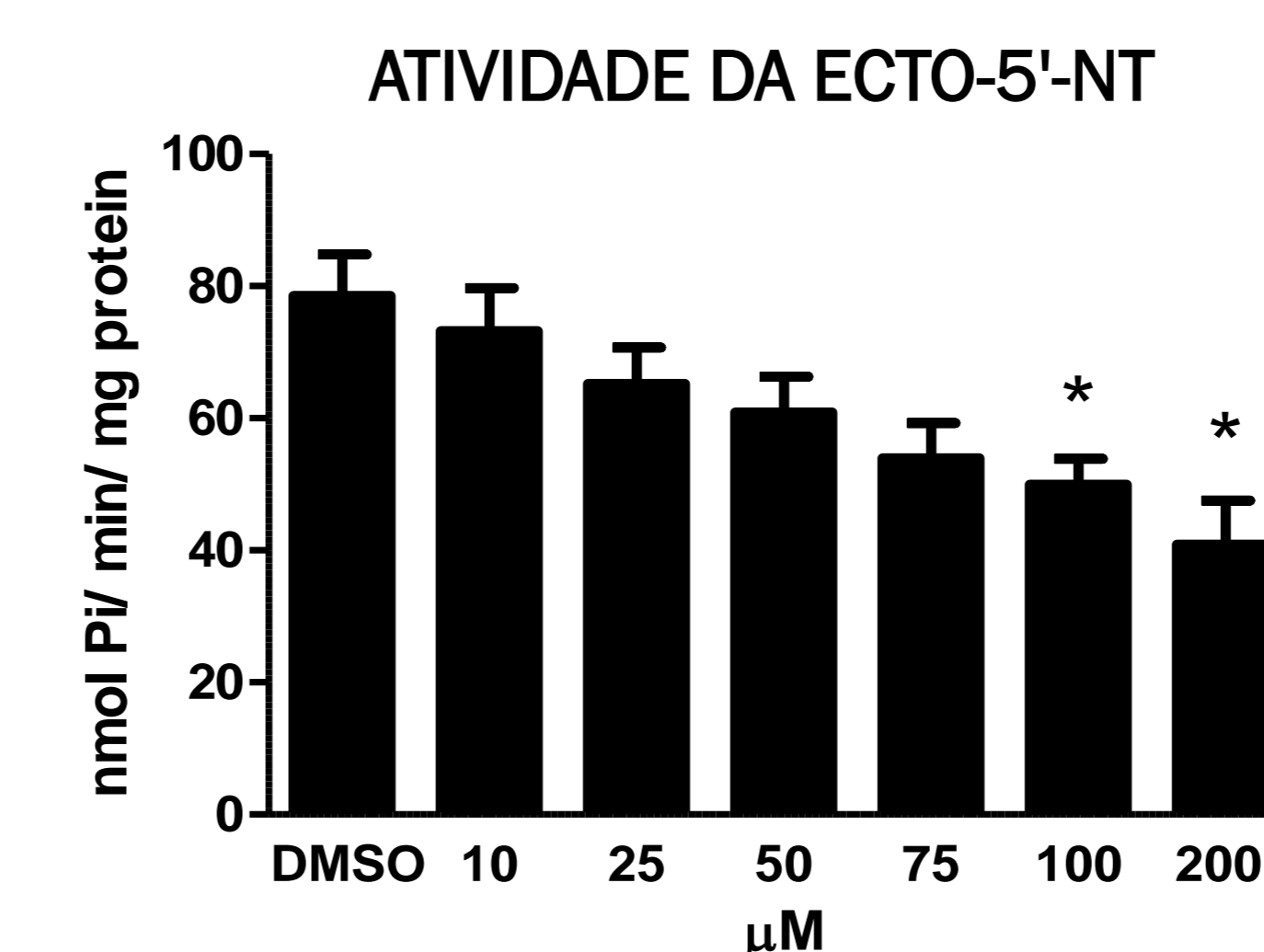


Figura 4. LaSOM 63 inibe a ecto-5'-nucleotidase na linhagem de células de glioma C6. As células C6 de glioma foram tratadas com Lasom 63 tal como descrito. Após 48 horas de tratamento, a atividade enzimática foi avaliada pelo Método de Verde de Malaquita. A atividade da ecto-5'-NT foi representada em relação as células controle tratadas (DMSO). Os valores são apresentados como médias  $\pm$  S.D. de quatro experimentos independentes. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via (Tukey). \* Significativamente diferente do grupo controle (P <0,05).

## CONCLUSÕES

- O tratamento com LaSOM 63 inibiu a viabilidade celular (a partir de 75  $\mu$ M) e diminuiu o número de células.
- Em contraste com o Monastrol, sua citotoxicidade não é explicada pela parada do ciclo celular na fase G2/M, sugerindo outro mecanismo de ação para esse composto derivado.
- Além disso, o efeito antiproliferativo causado pelo tratameto das células de glioma C6 com LaSOM 63 é através da apoptose.
- Em relação ao efeito de LaSOM 63 a ecto-5'-NT, foi avaliada a sua atividade e, em comparação com o grupo de controle, o tratamento foi capaz de inibir a atividade da enzima, de forma diferente do monastrol que não alterou a sua atividade (dados não mostrados);
- Tendo em vista os resultados apresentados, assumimos que o mecanismo de ação da droga LaSOM 63 é diferente do monastrol, seu composto derivado;
- Mais estudos são necessários para avaliar a toxicidade de LaSOM 63 em um modelo in vivo glioma e a toxicidade nos tecidos saudáveis.

### >Agradecimentos

