

# ESTUDO DO MECANISMO DE AÇÃO DO COMPOSTO SINTÉTICO LQB-118 EM LINHAGENS CELULARES DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Fernanda Costas (DO)<sup>1,2</sup>; Maria Eduarda Leal<sup>1</sup>; Paula Sabbo Bernardo<sup>1,2</sup>; Marcos B. Pinho<sup>3</sup> Chaquip D. Netto<sup>5</sup>, Paulo R. R. Costa<sup>4</sup>; Raquel Maia<sup>1</sup>

1 – Laboratório de Hemato-oncologia Celular e Molecular, Instituto Nacional do Câncer

2 – Programa de Pós-Graduação em Oncologia do INCA.

3 – Laboratório de Engenharia de Cultivos Celulares – COPPE - UFRJ

4 - Laboratório de Química Bio-orgânica, Instituto de Pesquisas em Produtos Naturais (IPPN), Universidade Federal do Rio de Janeiro

5 – Laboratório de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro

## RESUMO

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa caracterizada pela presença da oncoproteína BCR-ABL. O tratamento da LMC é baseado no uso de inibidores de tirosina quinase (do inglês, *TKI*), principalmente o imatinibe. Apesar do sucesso do imatinibe na clínica, cerca de 30% dos pacientes com LMC necessitam de terapia alternativa. Neste contexto, o desenvolvimento de compostos capazes de sobrepujar a resistência aos TKIs é fundamental. A pterocarpanquinona-LQB-118 é um composto com efeito antitumoral em células de LMC, cujo mecanismo de ação vem sendo estudado. Neste trabalho, demonstramos que em linhagens celulares de LMC com diferentes características, o composto LQB-118 modulou a localização subcelular de NFκB, inibiu parcialmente a atividade do proteossoma e alterou a expressão dos microRNAs -9 e -21. Além disso, o tratamento com o composto levou a redução da expressão da proteína AKT. A mesma redução também foi observada em outros modelos celulares, sugerindo AKT como um possível alvo de LQB-118, cujo desdobraamento se encontra em andamento. Com relação à expressão gênica, um ensaio de microarranjo de DNA foi realizado e os tratamentos com LQB-118 e imatinibe alteraram a expressão de diversos genes nas linhagens de LMC. Os genes *TOB2*, *TAP2*, *NCF1* e *IKZF5* apresentaram seus níveis de expressão gênica alterados após tratamento com imatinibe. O tratamento das linhagens com a combinação de imatinibe com LQB-118 potencializou a morte celular e inibiu a fosforilação da proteína mTOR. Portanto, nossos dados demonstram que o composto LQB-118 modula a localização subcelular de NFκB e a expressão de miR-9 e -21, e promove a redução da expressão de AKT. Além disso, sugerimos que o gene *TOB2* pode ser importante na resposta ao tratamento com imatinibe e que a combinação de imatinibe com LQB-118 se mostrou eficiente, provavelmente devido à inibição da fosforilação de mTOR, uma reconhecida proteína associada à resistência na LMC.

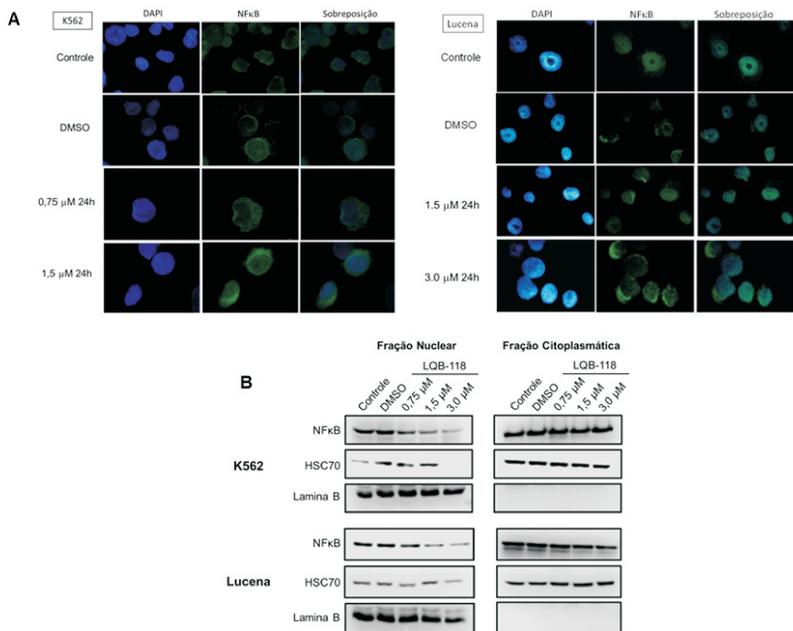


Fig. 1 – A - Imunofluorescência da proteína NFκB após 24h de tratamento com LQB-118 nas linhagens K562 e Lucena. B - Western blot para expressão da proteína NFκB (p65) após fracionamento celular nas linhagens K562 e Lucena, tratadas com LQB-118 por 24h.

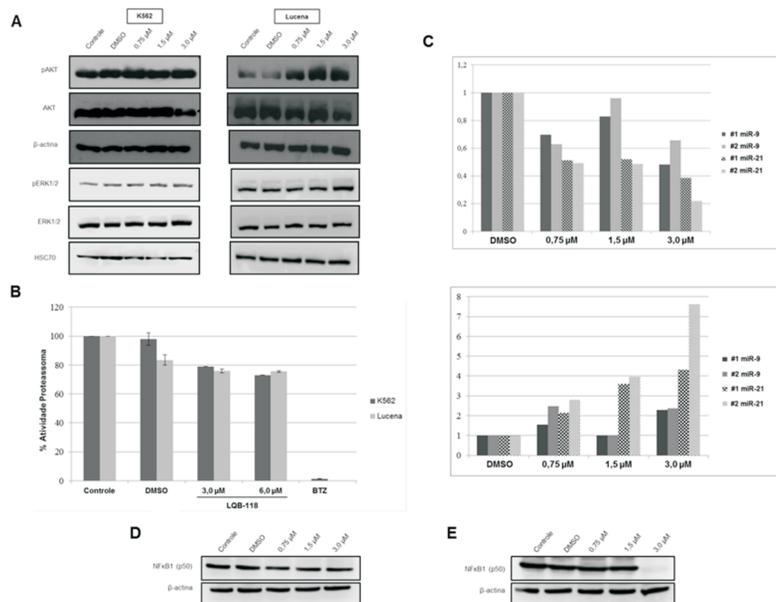


Fig. 2 – A - Expressão das proteínas AKT, pAKT, ERK 1/2 e pERK 1/2, após 24h de tratamento com LQB-118 nas duas linhagens de LMC. B - Análise da atividade do proteossoma das linhagens K562 e Lucena, após 2h de tratamento com LQB-118. C - Padrão de expressão de miR-9 e miR-21 após 24h de exposição ao LQB-118 em células K562 (cima) e Lucena (baixo). D - Expressão de NFκB1 (p50) nas células da linhagem K562 após 24h de tratamento com LQB-118. E - Expressão de NFκB1 (p50) nas células da linhagem Lucena após 24h de tratamento com LQB-118.

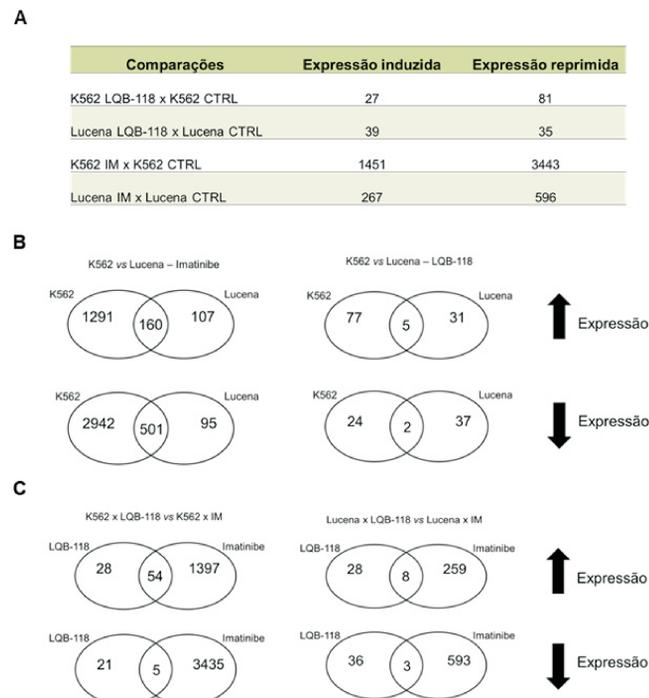


Fig. 3 – A – Número de genes diferencialmente expressos nas linhagens K562 e Lucena, após 48h de tratamento com LQB-118 e imatinibe. B - Esquema representativo dos genes diferencialmente expressos em comum entre as linhagens de LMC tratadas por 48h com os mesmos compostos (1,5 μM de LQB-118 e 1,0 μM de imatinibe). C - Esquema representativo dos genes diferencialmente expressos em comum entre os diferentes compostos (1,5 μM de LQB-118 e 1,0 μM de imatinibe) na mesma linhagem de LMC, tratada por 48h.

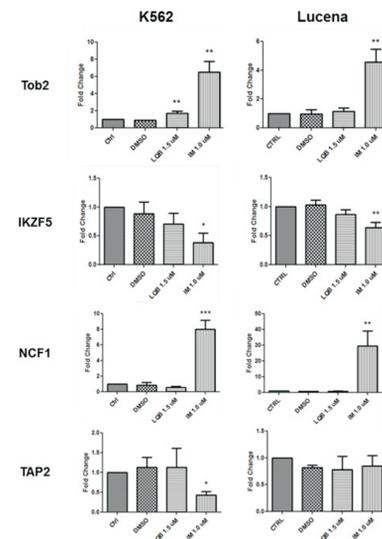


Fig. 4 – Quantificação relativa dos níveis de RNAm, por PCR em tempo real, de TOB2, NCF1, IKZF5, TAP2, após exposição aos compostos LQB-118 e imatinibe em células de LMC.

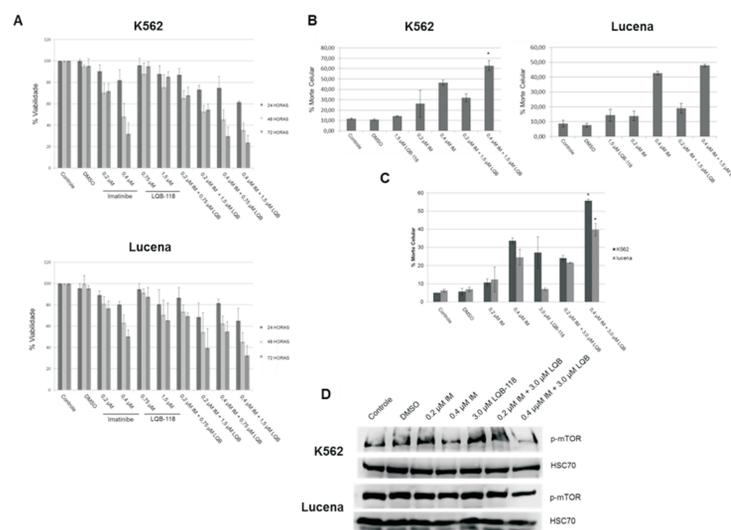


Fig. 5 – A - Viabilidade celular das linhagens de LMC após incubação com a combinação do LQB-118 e Imatinibe, avaliada por MTT, por 24, 48 e 72h. B - Porcentagem de células anexina V nas linhagens de LMC após incubação com 1,5 μM de LQB-118 e 0,2 e 0,4 μM de Imatinibe por 48h. C - Porcentagem de células anexina V nas linhagens de LMC após incubação com 3,0 μM de LQB-118 e 0,2 e 0,4 μM de Imatinibe por 48h. D - Expressão da proteína p-mTOR nas linhagens K562 e Lucena após a exposição a 3,0 μM de LQB-118 e 0,2 e 0,4 μM de Imatinibe por 48h.