



**Universidade de São Paulo**

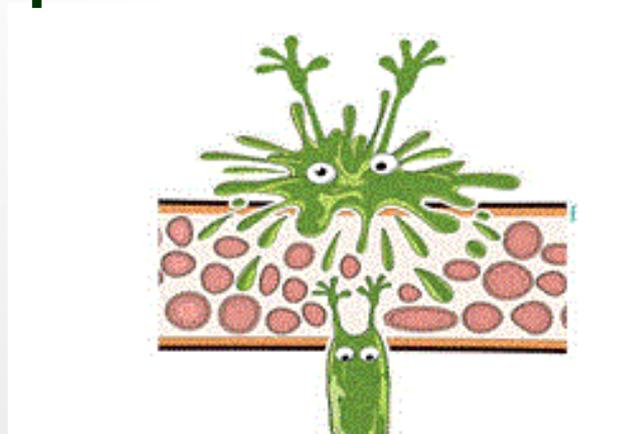
**Instituto de Química**

**Departamento de Bioquímica**



Universidade de São Paulo  
**Instituto de Química**

## **Mecanismo de Metástase de Tumores Infantis para a Medula Óssea**



**Prof. Dr. Claudiana Lameu**

# História de Membros da USP



1910-1983

## **Maurício Rocha e Silva:**

um médico brasileiro formado pela Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro. Descobriu a **BRADICININA**, molécula envolvidas em vários processos fisiológicos. Foi também professor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

**Resultados de Pesquisa no PubMed para Bradicinina: 20546**



1934-2016

## **Sergio Henrique Ferreira:**

foi um médico e farmacologista brasileiro, notável pela sua descoberta o **fator de potenciação da bradicinina**, um peptídeo extraído do veneno da *Bothrops jararaca* (Jararaca-da-mata),o que possibilitou o desenvolvimento do captopril, um medicamento usado no tratamento da hipertensão arterial

# Influências na minha carreira acadêmica

## **Antonio Carlos Martins de Camargo**



**Professor Titular de Farmacologia no Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo**

Sua principal contribuição científica foi a descoberta e caracterização da classe de enzimas oligopeptidase. Além disso, ele descobriu um novo alvo para os peptídeos potenciadores da bradicinina.

## **Alexander Henning Ulrich**



**Professor Titular de Bioquímica no Instituto de Química da Universidade de São Paulo**

Seu laboratório tem vários projetos em andamento, envolvendo três áreas principais: Aptâmeros, Células-Tronco e Neurociências. Seu grupo estuda o envolvimento dos sistemas purinérgicos e cininérgicos em diversos processos neurais fisiológicos e patológicos.

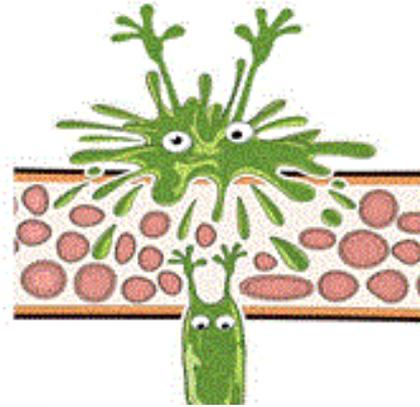
## **Mariusz Ratajczak**



**Professor, Departamento de Medicine, University of Louisville  
Diretor do Stem Cell Institute, James Graham Brown Cancer Center, US**

Sua descoberta em 2005 de células-tronco embrionárias em tecidos de medula óssea adultos tem o potencial de revolucionar o campo da medicina regenerativa. Em paralelo seu grupo está estudando o efeito de lipídios bioativos na metástase do câncer

# Laboratório de Estudos dos Mecanismos Moleculares da Metástase

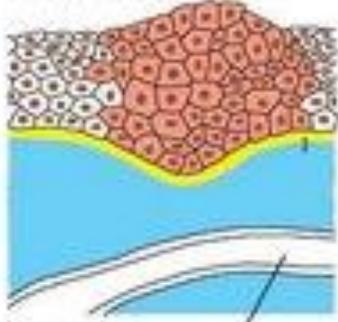


# LEM<sup>3</sup>

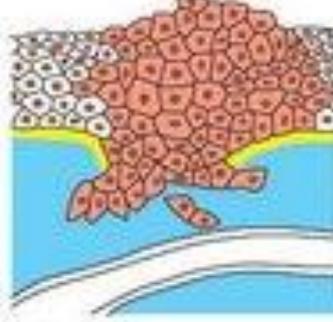
**Meta:** Entender os mecanismos que células cancerígenas usam para sair do tecido de origem para semear tecidos distantes e formar **METÁSTASE.**

# Metástase

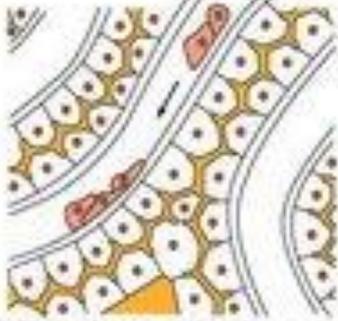
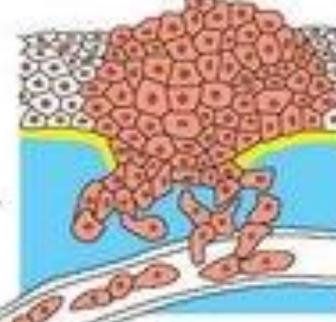
***Proliferação  
tumor primário***



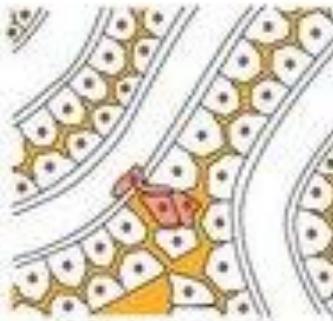
***Invasão local***



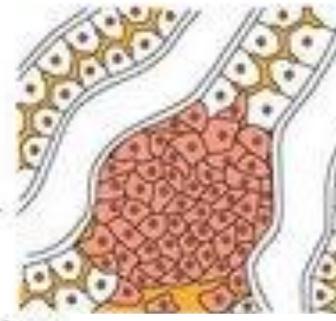
***Entrada nos vasos  
sanguíneos***



***Adesão nos vasos  
sanguíneos de outros  
órgãos***



***Invasão no tecido  
distante***



***Crescimento do  
tumor no nicho  
metastático***

**Responsável por mais que 90% das mortes associadas ao câncer**

# Neuroblastoma

Tumor derivado de células-tronco da crista neural  
Tumor extracraniano mais comum na infância

## STATISTICS: Neuroblastoma

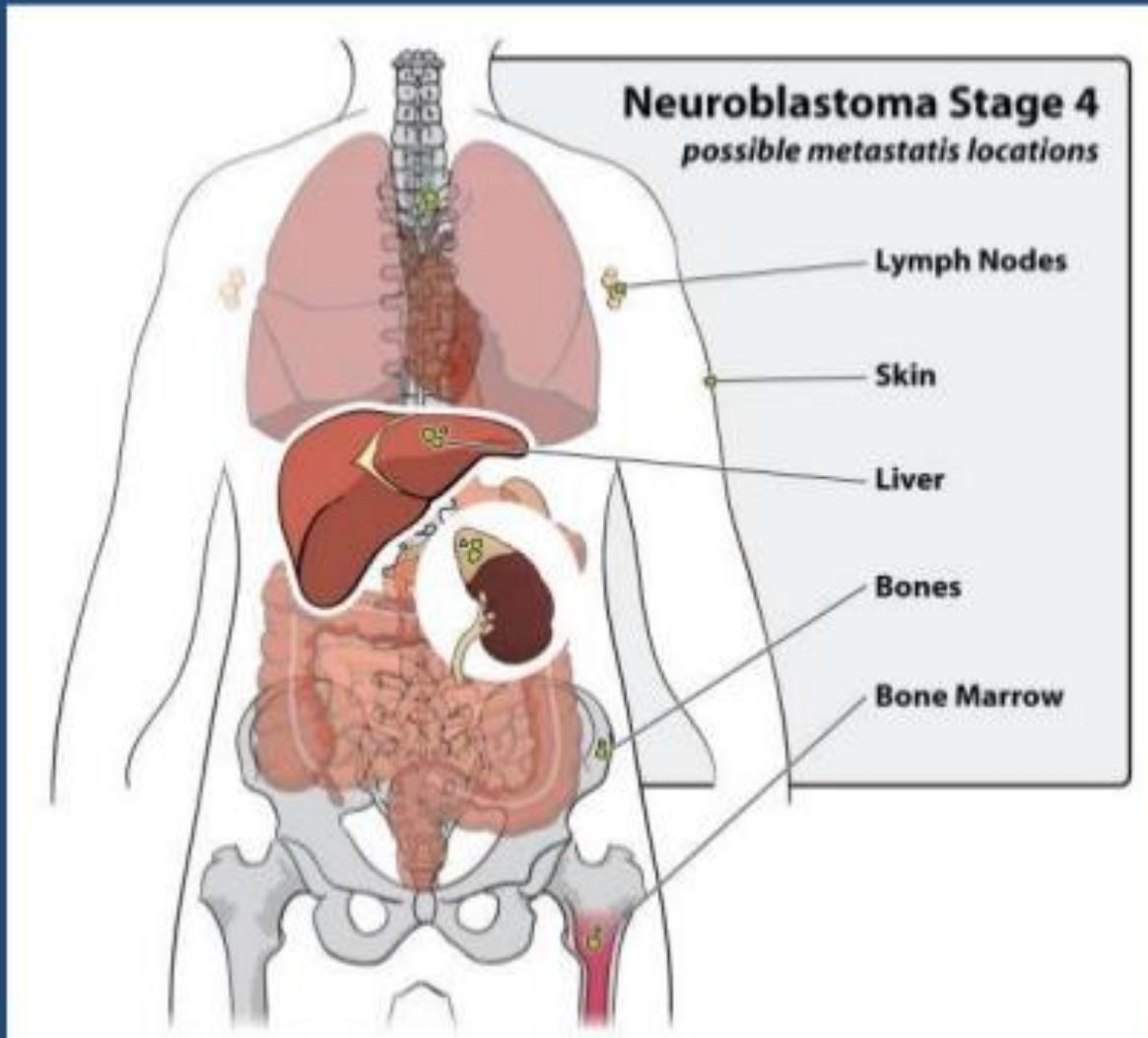
Accounts for **6%**  
of all childhood cancers

Average age  
at time of diagnosis is **1-2** years

About **700** new cases each year

**90%** of cases are diagnosed  
by the age of 5

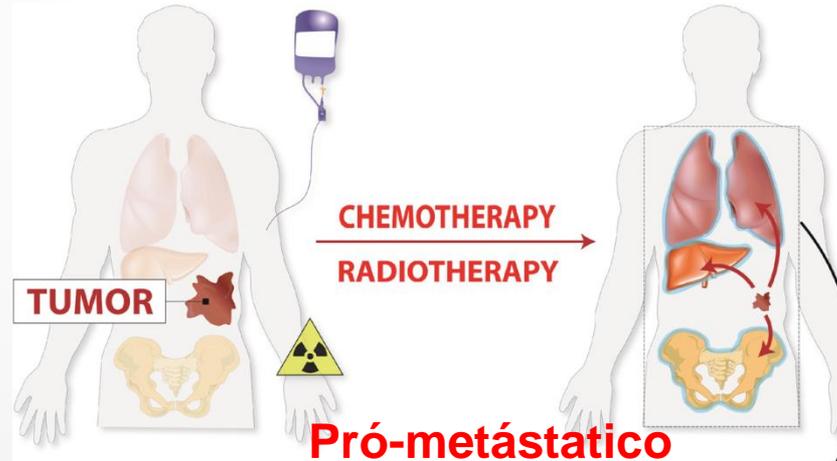
In children older  
than 5, **30%** survival  
rate  
there is only a



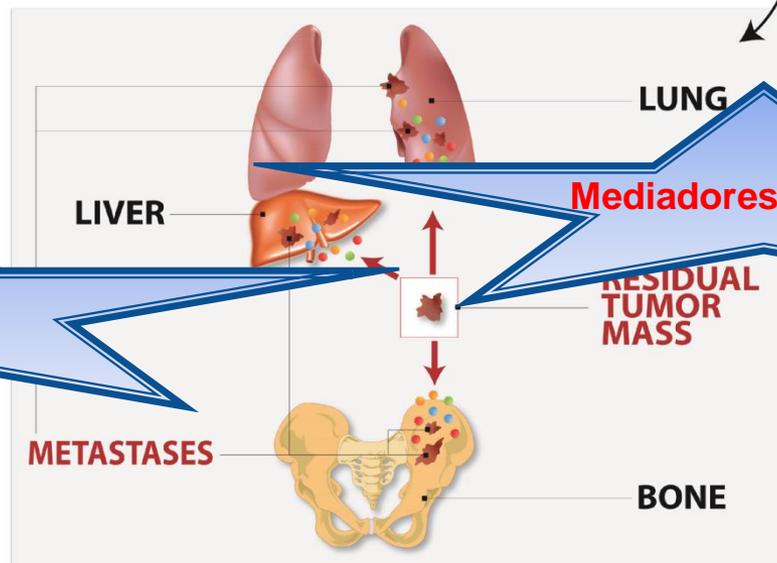
**TERAPIA AGRESSIVA x MORTE**

# Reiniciação do tumor e metástase

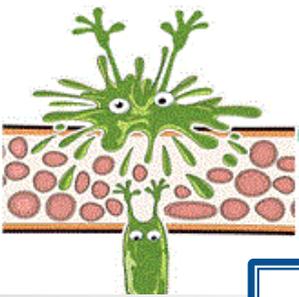
Efeitos colaterais



Tecidos normais

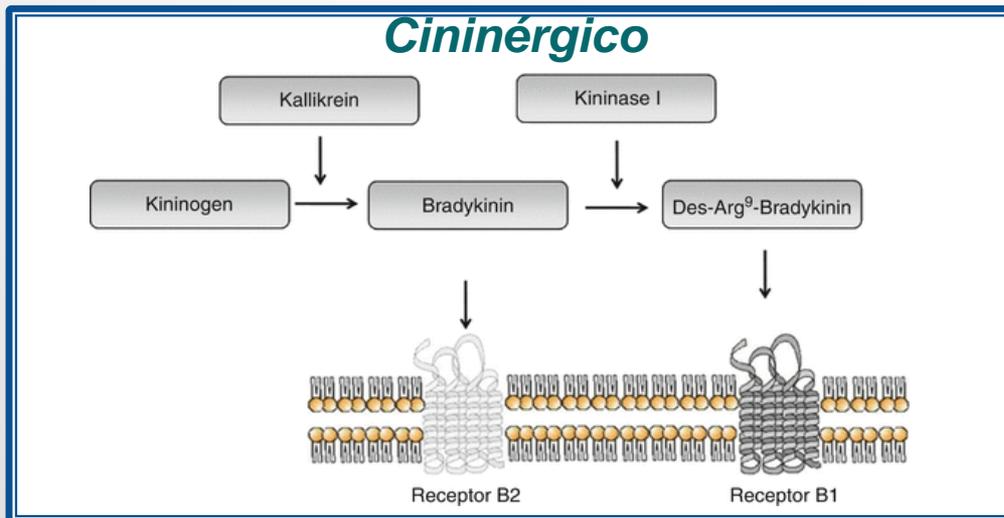
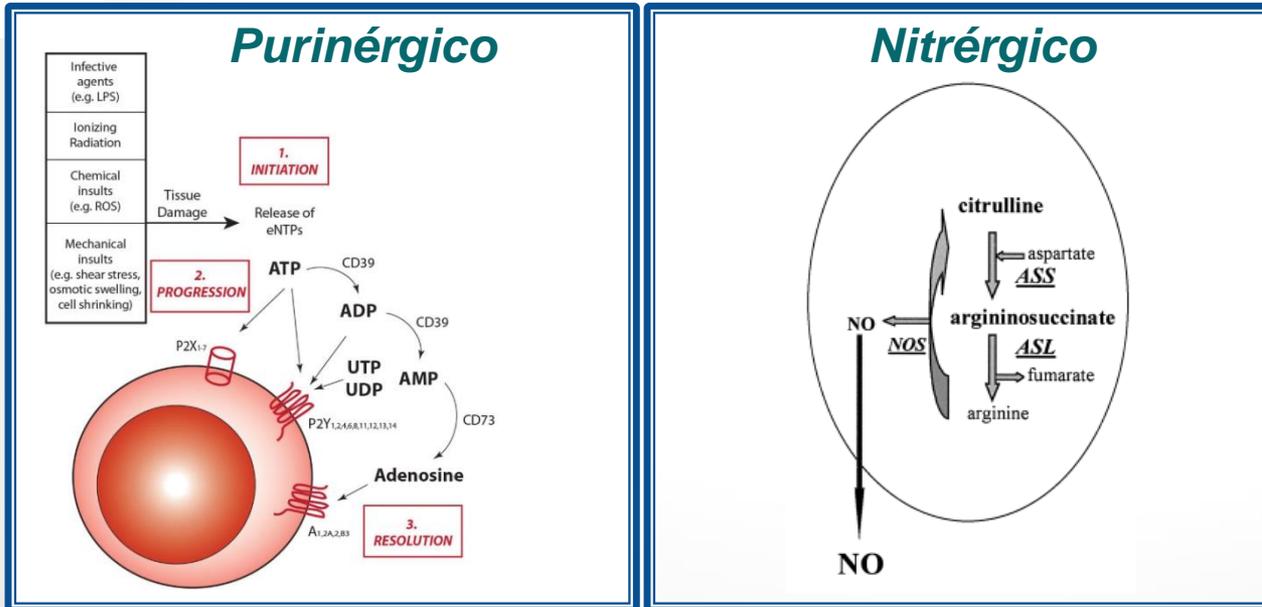


Liberação por células que estão morrendo



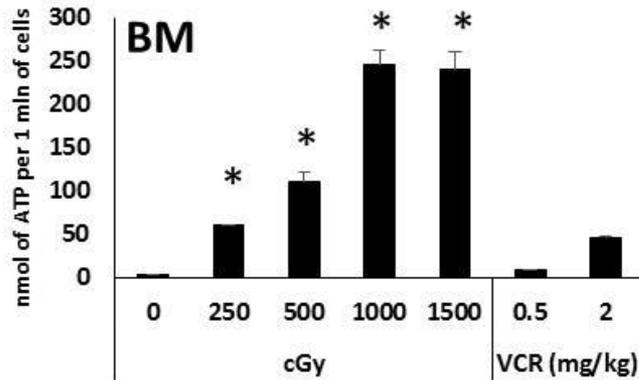
# LEM<sup>3</sup>

## Sistemas investigados



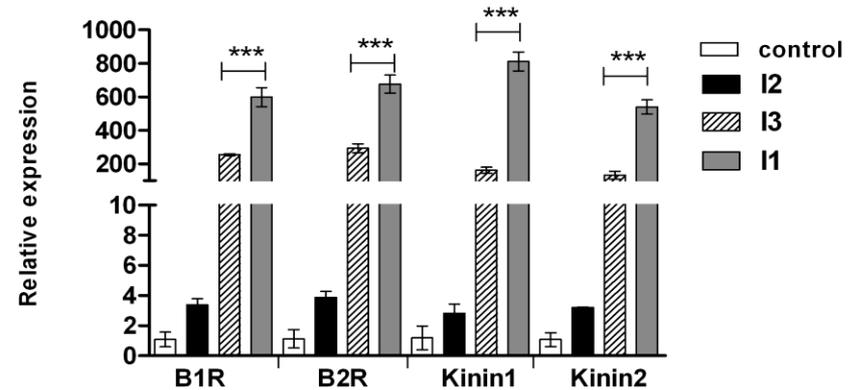
# Irradiação e quimioterapia X Metástase

## ATP



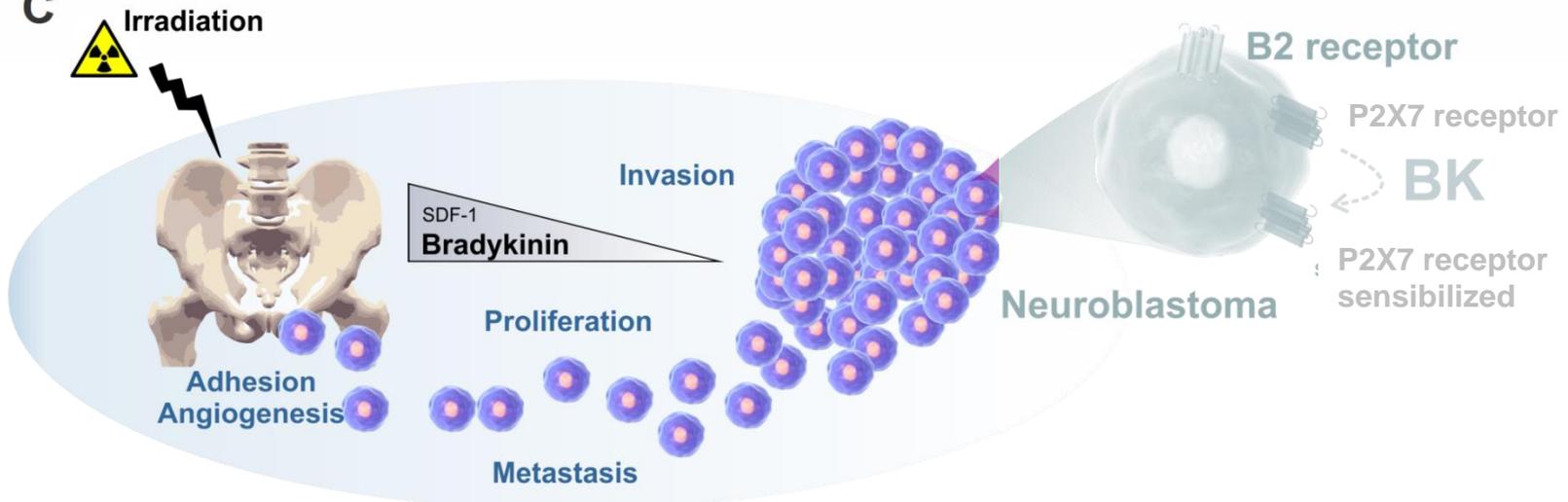
Schneider et al. *Mol Cancer* (2015)

## Bradykinin

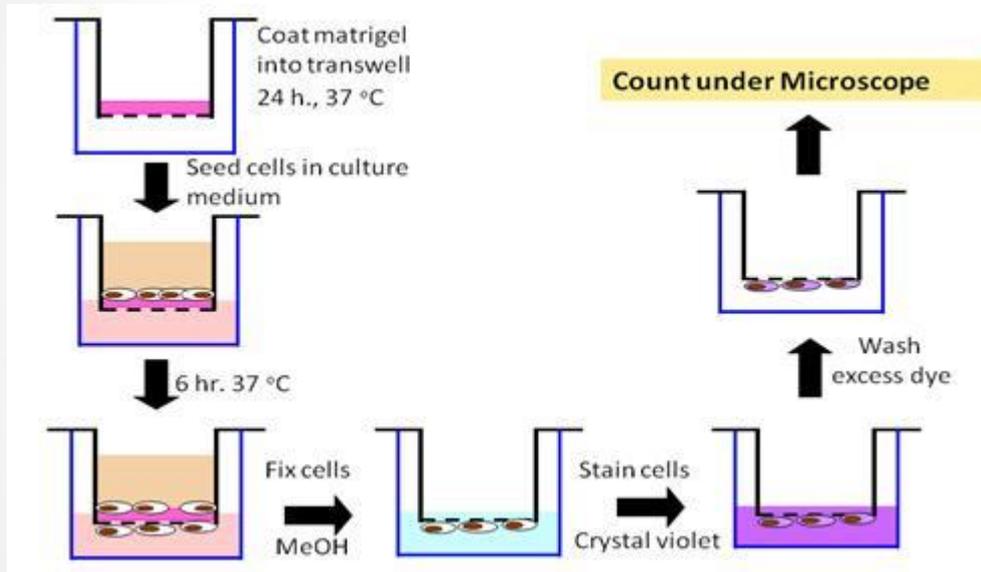


Ulrich et al. *submitted*

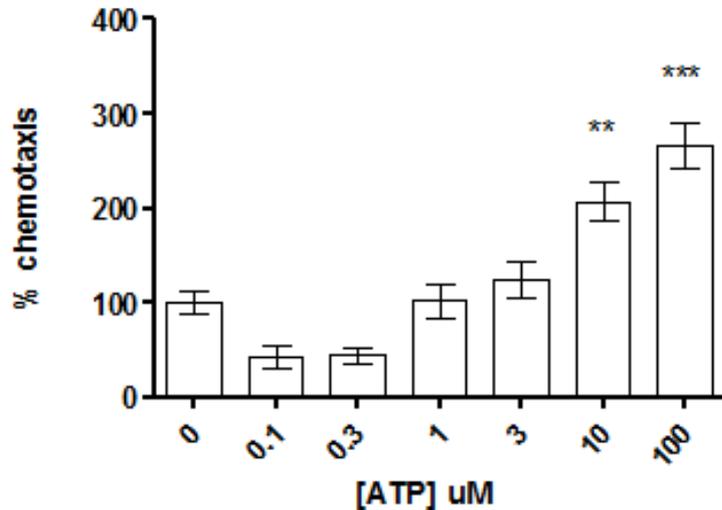
C



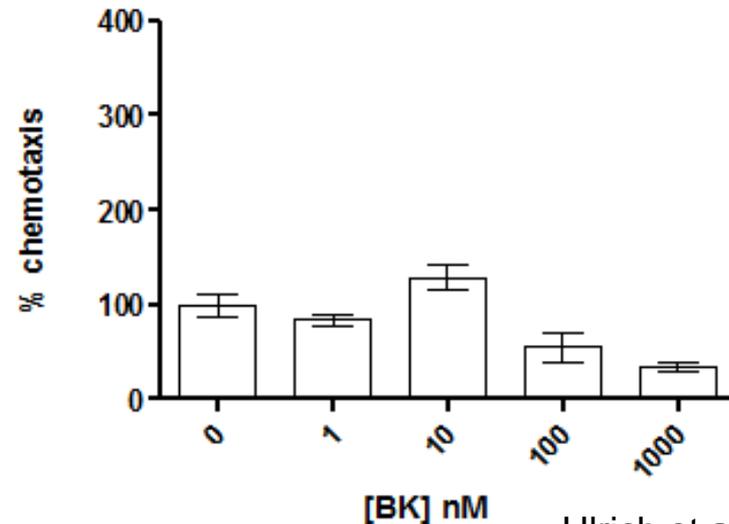
# Ensaio de invasão celular



## ATP tem efeito a altas doses

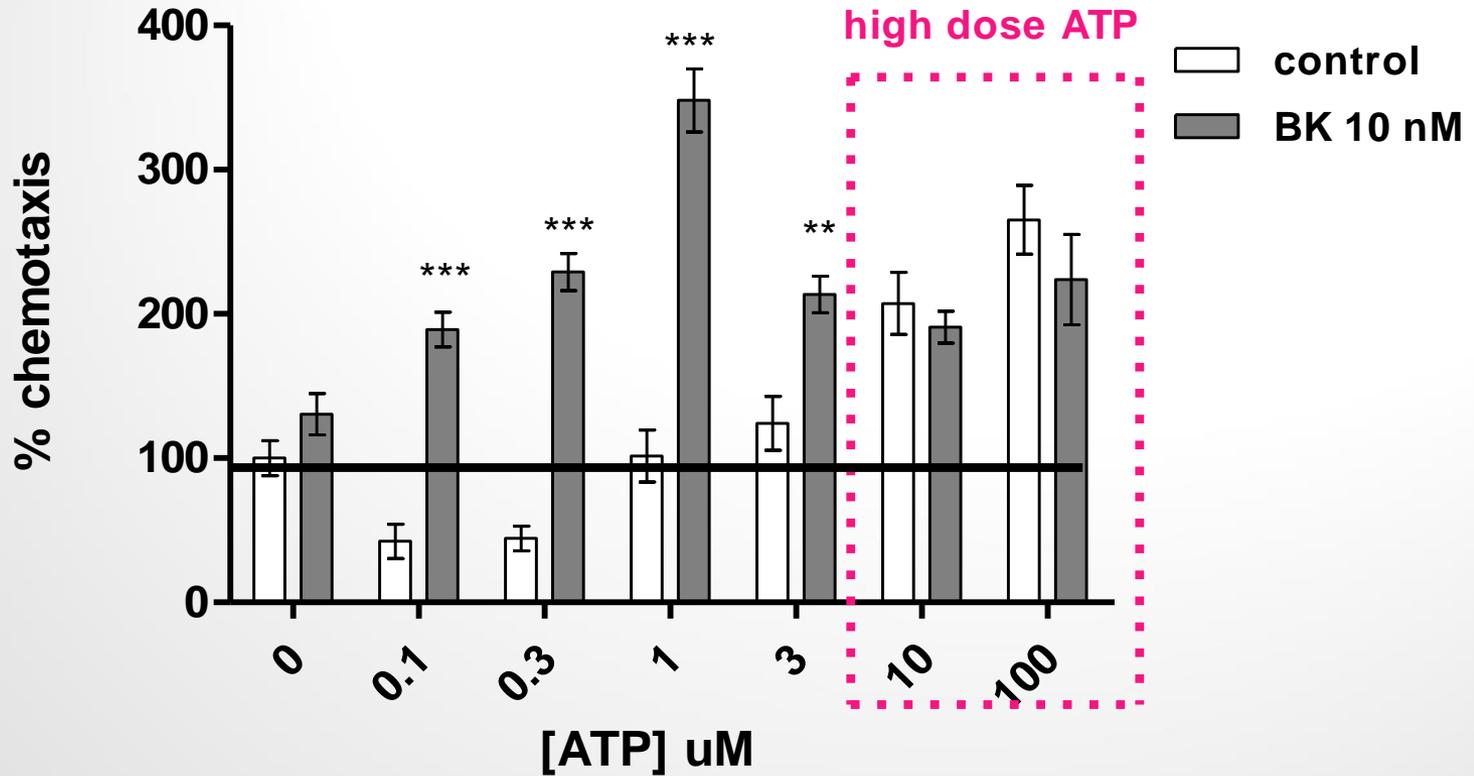


## BK não tem efeito

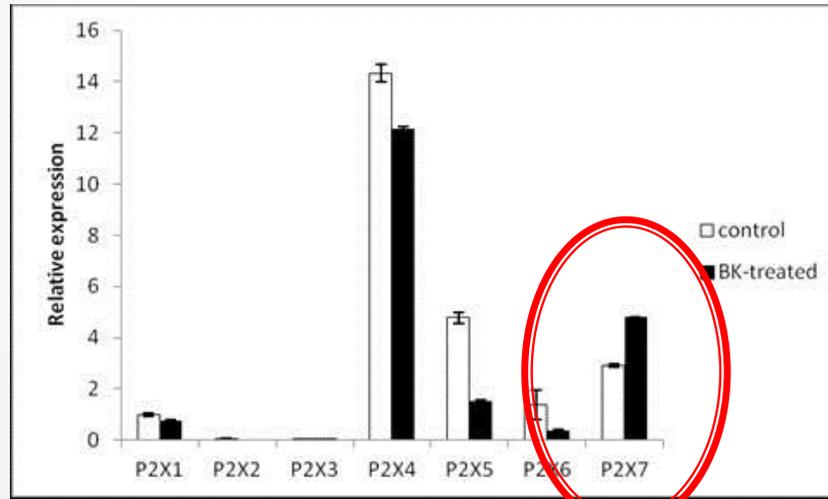


# Interrelação: BK e ATP

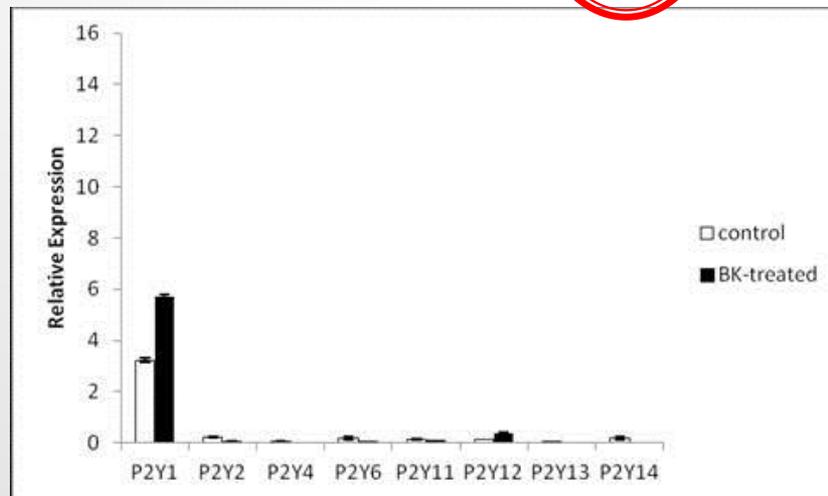
## ATP and BK-priming



# BK induz expressão de Receptores Purinérgicos

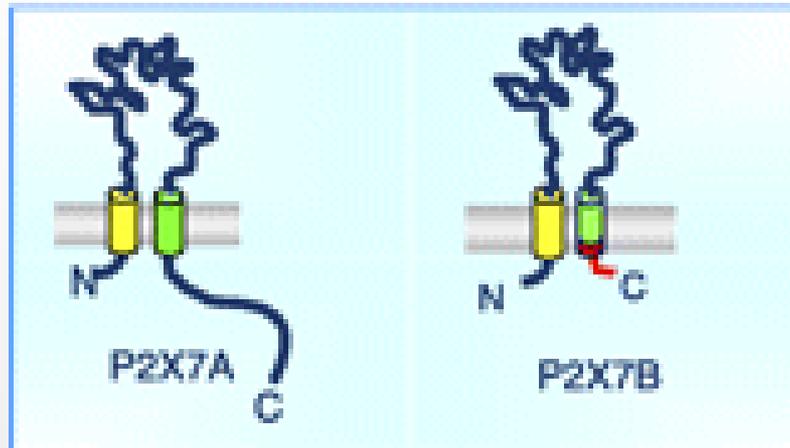


*“Receptor da morte”*



# P2X7

Expressão em muitos tumores: NEUROBLASTOMA



Formação de poros

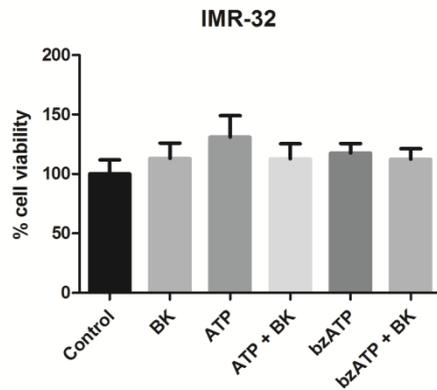
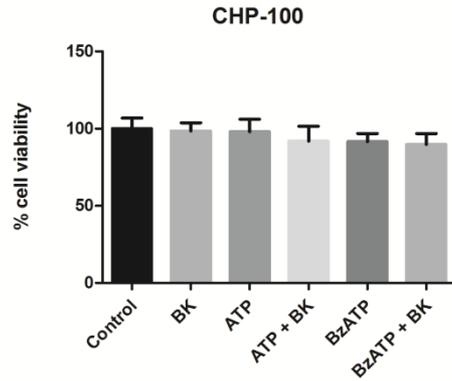
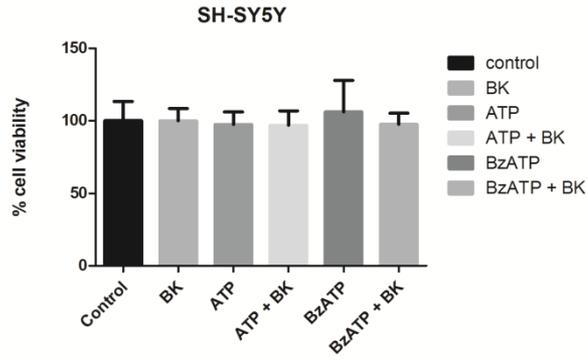


Leva a morte celular

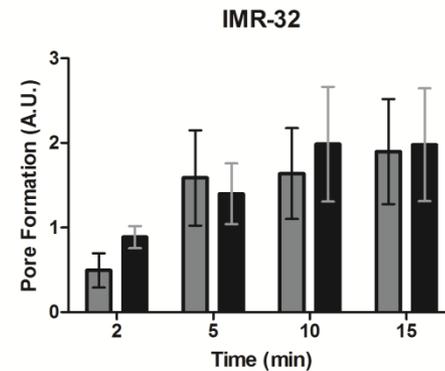
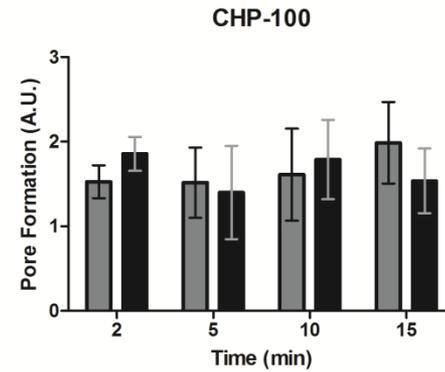
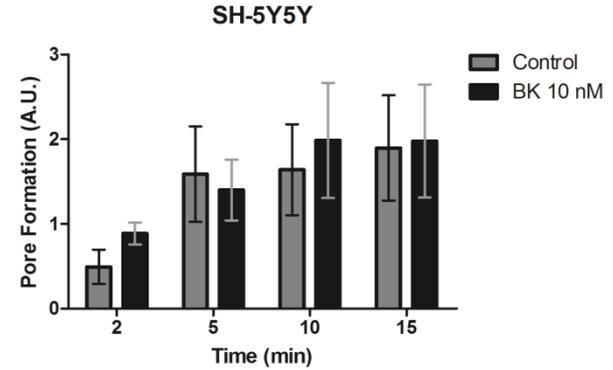
Sobrevivência

Proliferação

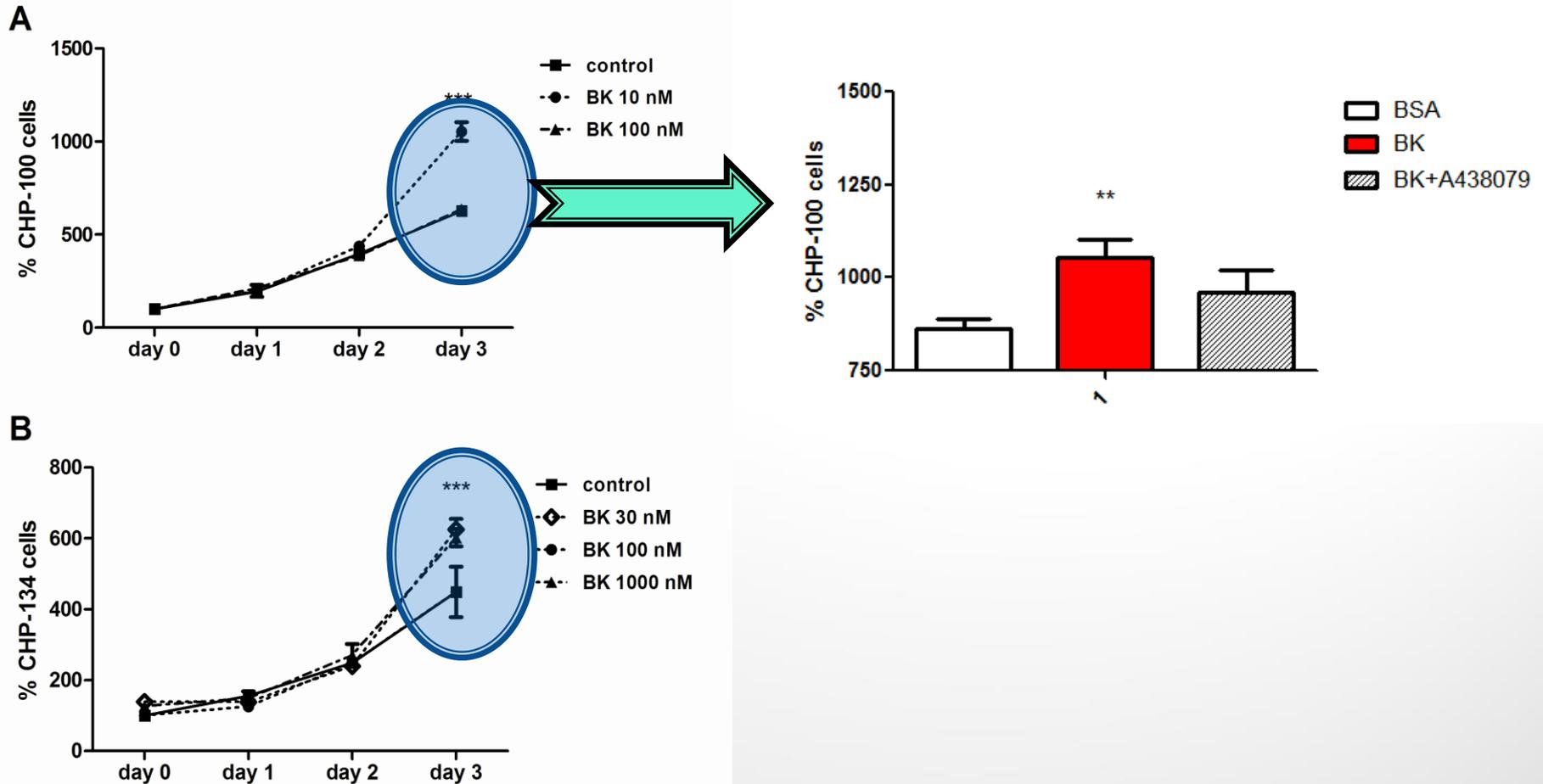
## Morte celular



## Formação de poros



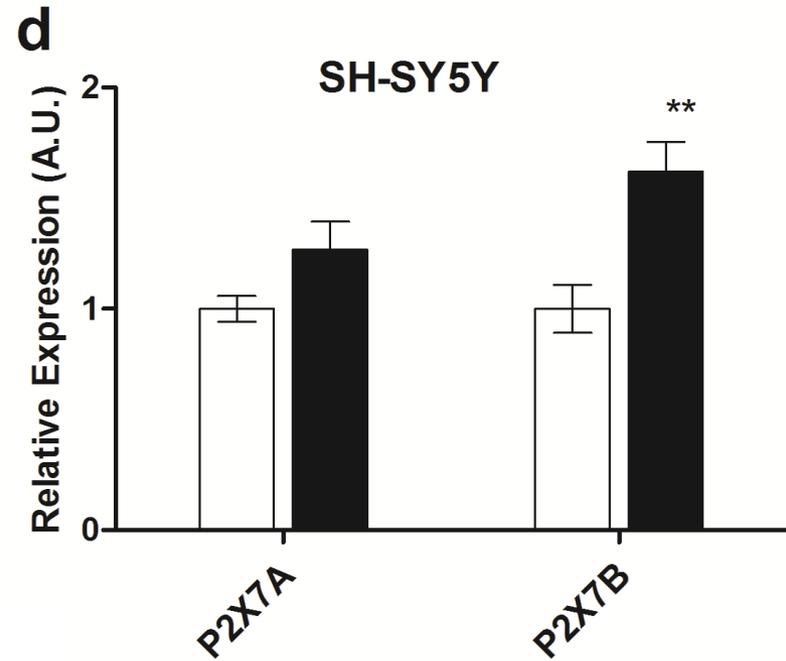
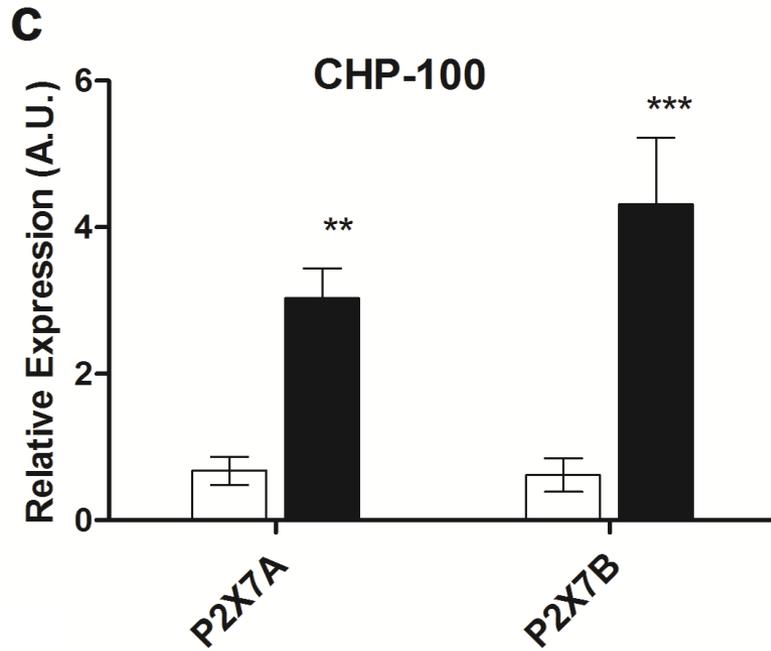
## Proliferação



**BK regula a isoforma P2X7B?**

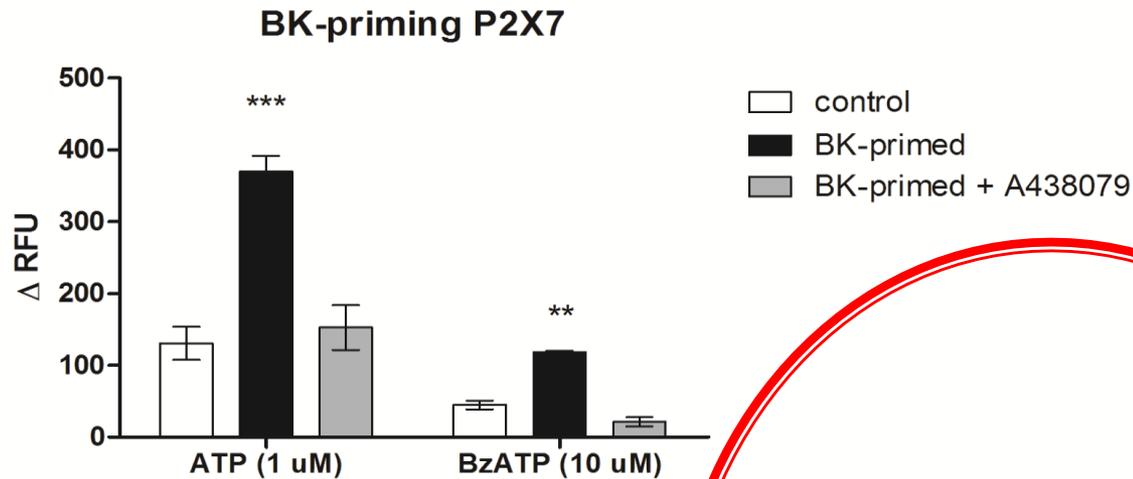
# Expressão do isoformas P2X7

□ Control  
■ BK-treated

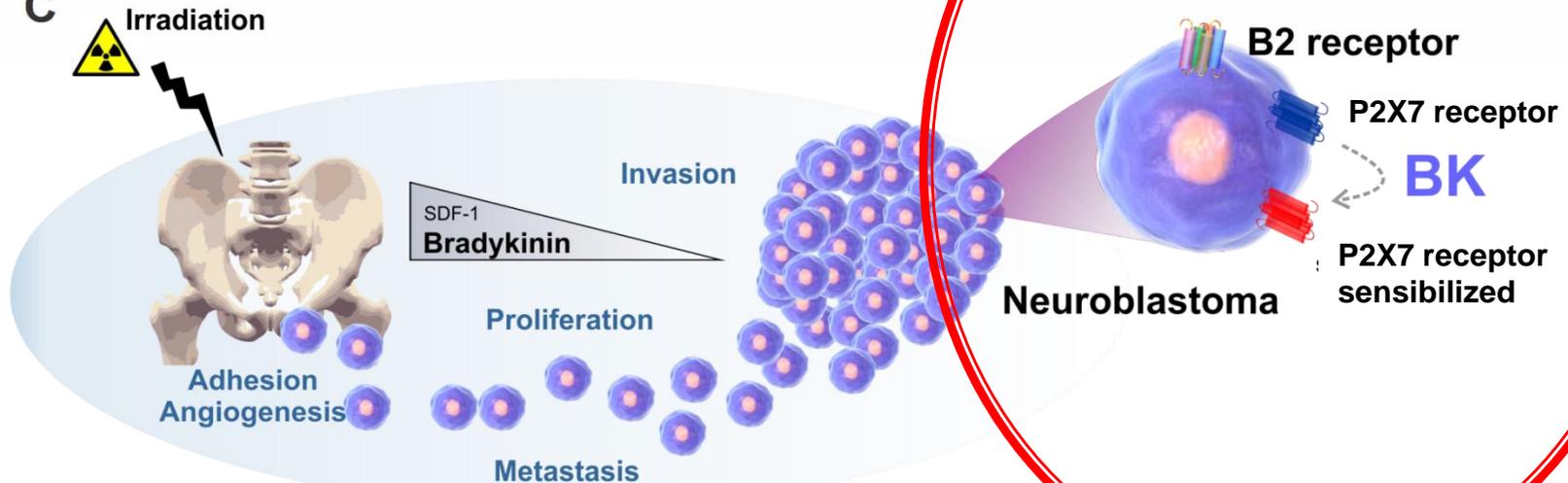


# BK induz sensibilização de P2X7

**B**



**C**



# Brilliant Blue G - BBG

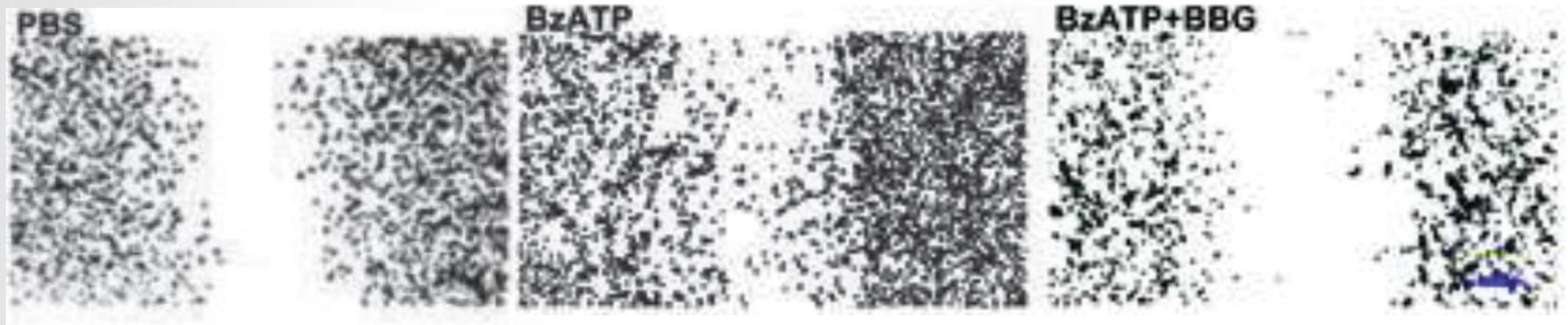
Antagonista do receptor P2X7

*Jiang et al., 2000 - Mol Pharmacol*



# BBG antagonista receptor P2X7

## Efeitos do BBG sobre migração celular



*Ryu et al., 2010 - J Neuropathol Exp Neurol*

## Efeitos do BBG sobre a progressão do desenvolvimento do tumor

**Sem BBG**

**Com BBG**



**Redução 50% tamanho do tumor**

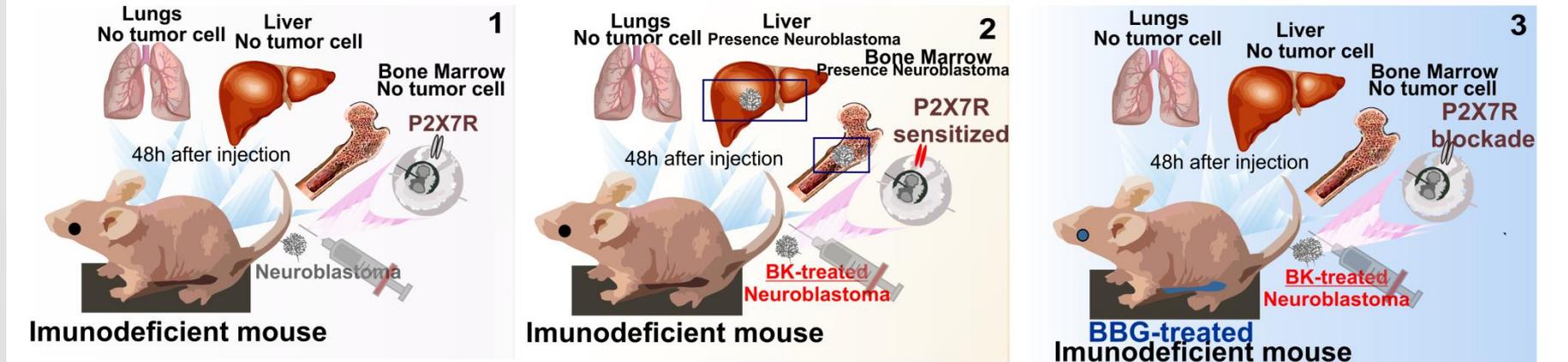


# Metástase: Bradicinina X ATP

Brilliant Blue G - BBG: antagonista do receptor P2X7

## Efeitos do BBG na progressão do tumor

e

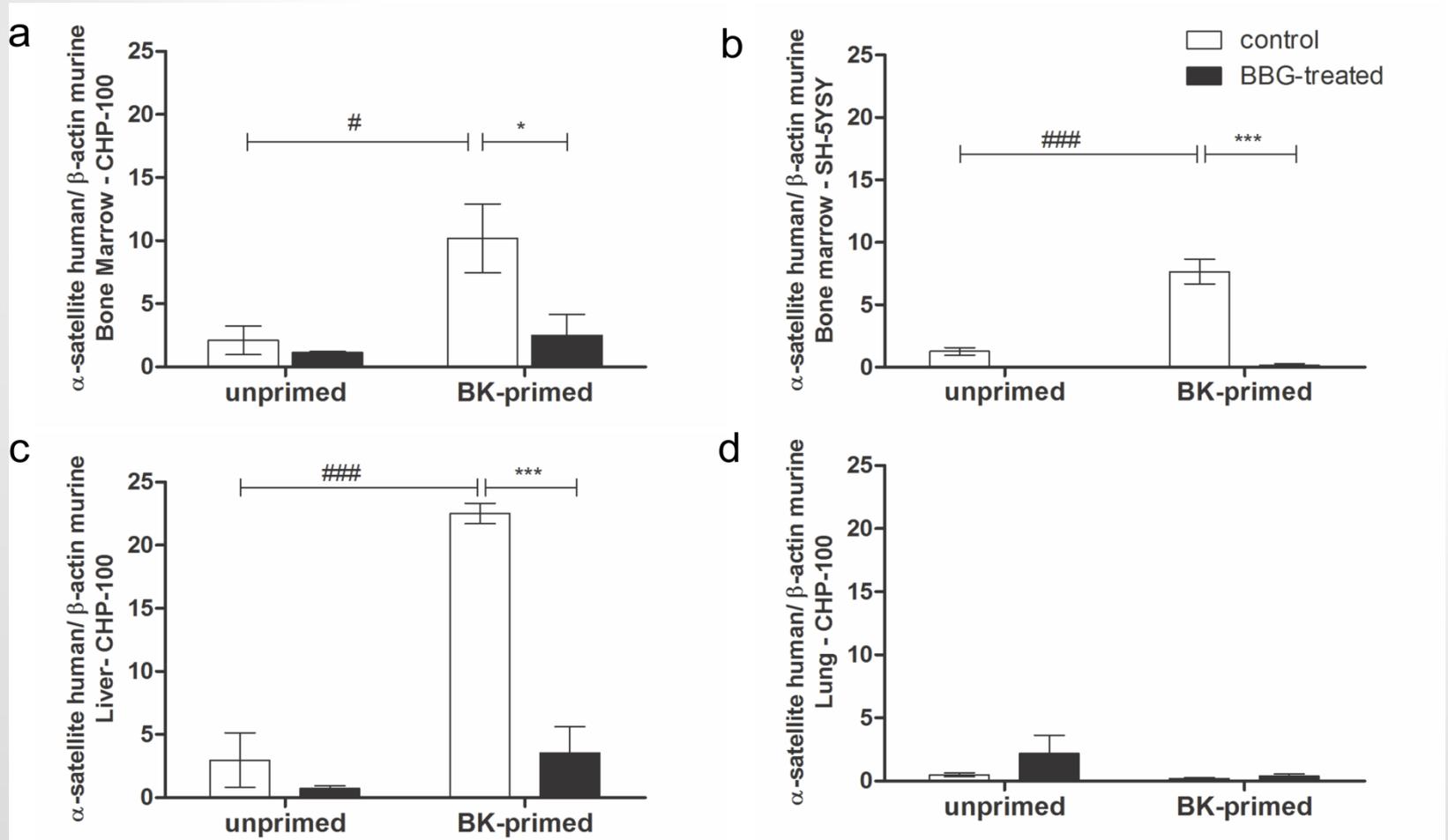


- Injeção de células humanas na veia caudal de camundongos imunodeficientes.
- Após 48h extração dos tecidos: medula óssea, fígado e pulmões.
- Extração de RNA, síntese da primeira fita de cDNA, real time PCR
- A quantificação de células humanas em tecidos murino foi feita pelo grau de quimerismo

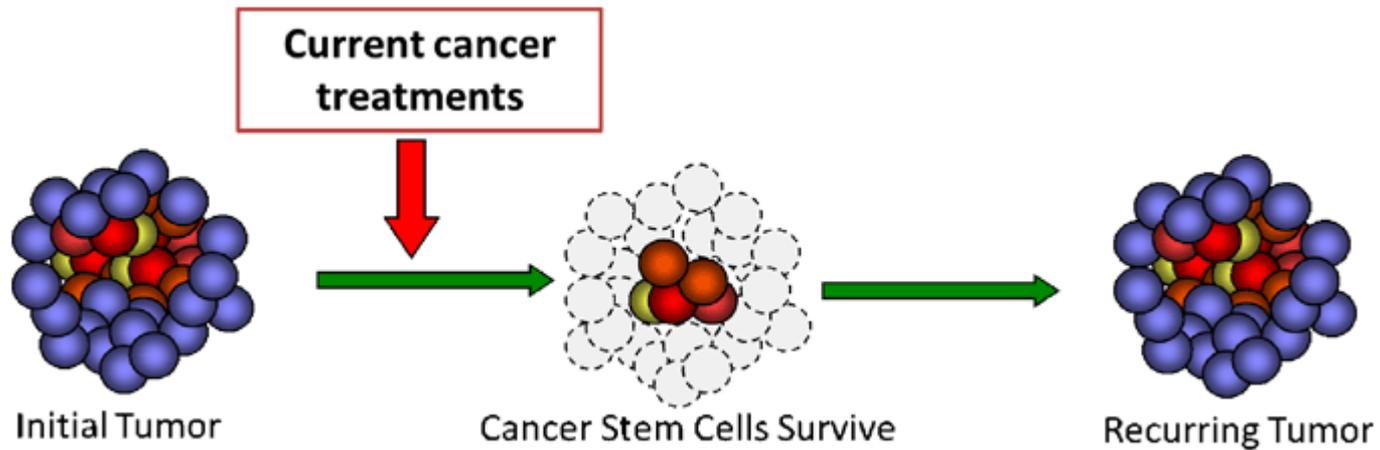
# Metástase: Bradicinina X ATP

Brilliant Blue G - BBG: antagonista do receptor P2X7

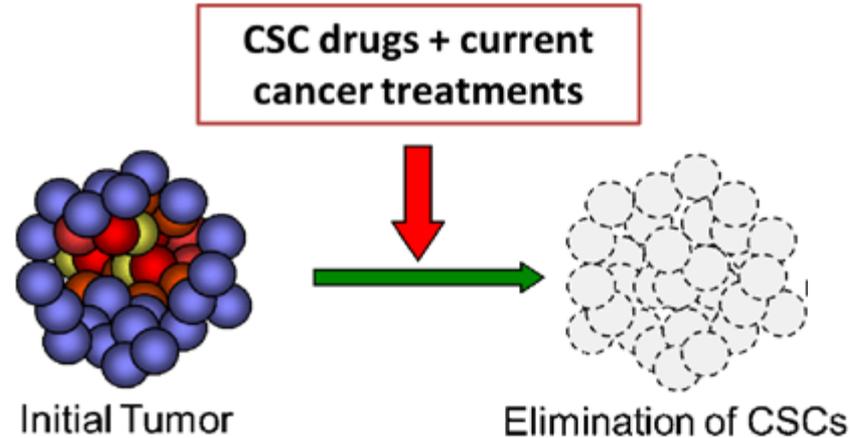
## Efeitos do BBG na progressão do tumor



# Cancer stem cells: reiniciação do tumor e metástase

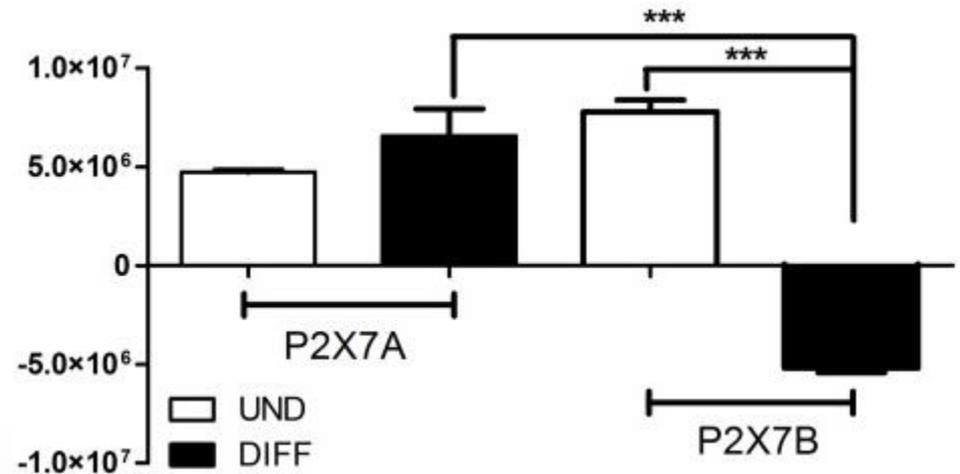
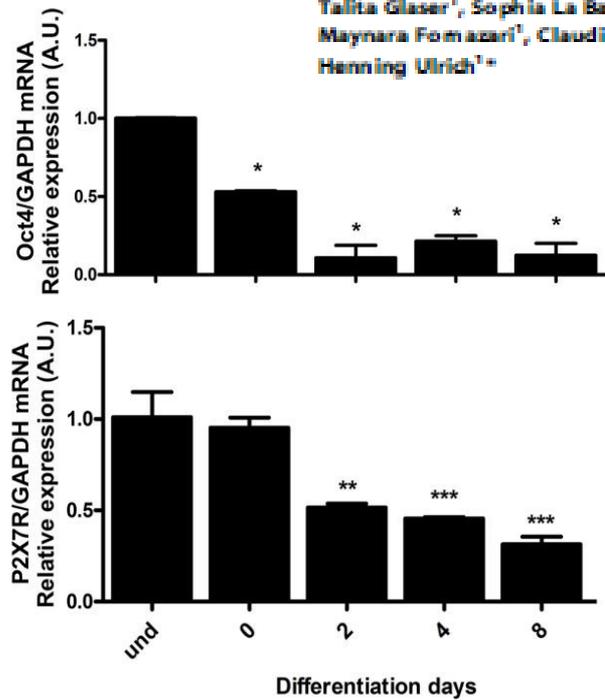


**Neuroblastoma: SOX-2, Oct-4, CD133**



# Modulation of Mouse Embryonic Stem Cell Proliferation and Neural Differentiation by the P2X7 Receptor

Talita Glaser<sup>1</sup>, Sophia La Banca de Oliveira<sup>1</sup>, Arquimedes Cheffer<sup>1</sup>, Renata Beco<sup>1</sup>, Patrícia Martins<sup>1</sup>, Maynara Formazari<sup>1</sup>, Claudiana Lameu<sup>1</sup>, Helio Miranda Costa Junior<sup>2</sup>, Robson Couêrto-Silva<sup>2</sup>, Henning Ulrich<sup>1\*</sup>

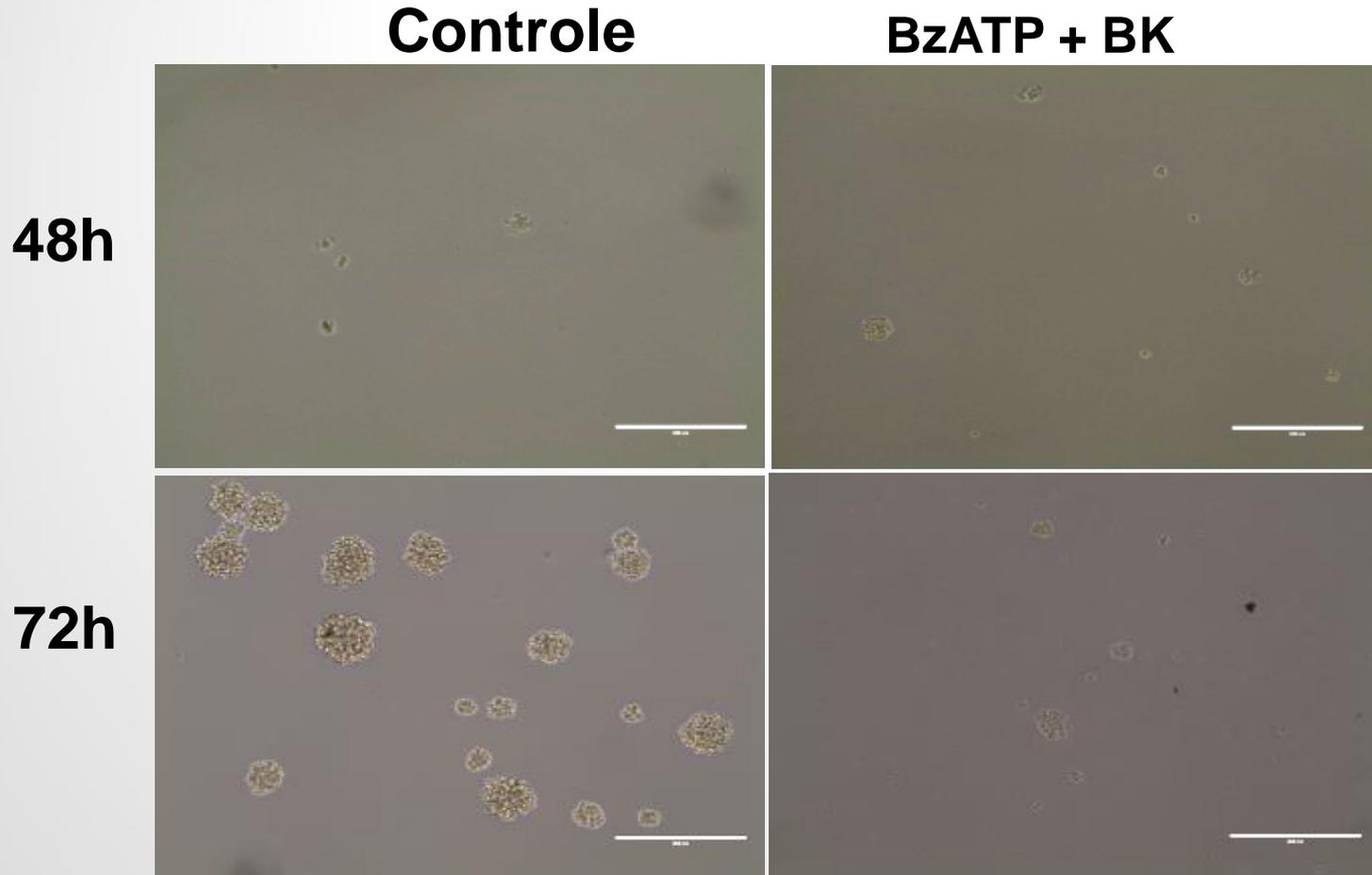


Investigar a contribuição do P2X7 e cada uma das isoformas na manutenção de CSCs na massa tumoral de neuroblastoma.

Considerando o sinergismo dos sistemas cininérgico e purinérgico na metástase, pretendemos também investigar se a BK induz a expressão diferencial de P2X7A e P2X7B em CSCs para manter seu estado “stemness” ou levar a diferenciação á células cancerígenas

# TUMORESFERAS = Spheroid formation

*Características de CSCs*

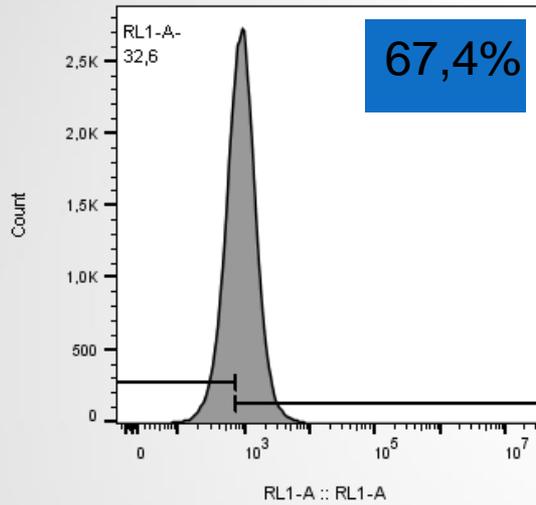


•SH-5YSY: human neuroblastoma cell line

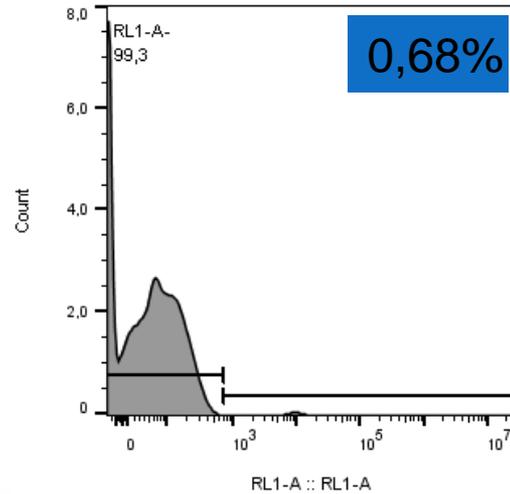
•Defined medium: DMEM-H (N2), B(27), EGF and FGF-2b in ultralow attach plates

# Marcadores de Células-tronco (SOX-2)

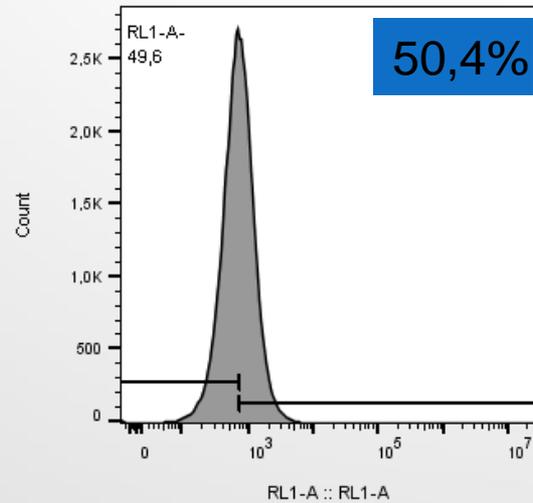
S/ tratamento



BzATP (100 uM) + BK (10 nM)



BzATP (100 uM) + BK (10 nM) + A438079 (5 uM)



# Agradecimentos

## **Universidade de Louisville - US**

Prof. Dr. Mariusz Ratajczak  
Dra. Gabriela Schneider

## **Universidade de Ferrara - Itália**

Prof. Dra. Elena Adinolfi  
Dra. Elisa Orioli

## **UNIFESP**

Prof. Dr. João Bosco Pesquero  
Prof. Dr. Luiz Juliano Neto

## **Universidade de São Paulo**

Prof. Dr. Henning Ulrich  
Dr. Micheli Mainardi  
Dr. Talita Glaser

Dr. Juliana Correa-Veloso  
Ana Paula Santos

## **UFRG**

Prof. Dr. Ana Maria Battastini  
Dr. Letícia Bergamin



# LEM<sup>3</sup>

## Laboratório de Estudos dos Mecanismos Moleculares da Metástase

Pós-doutorado



*Dra. Poliana Maritns*

Técnica



*Denise Yamamoto*

Pós-graduação

Doutorado



*Vanessa Arnaud*

Mestrado



*Adverson Lopes*



*Izadora Rabelo*



*Rodrigo Seeger*

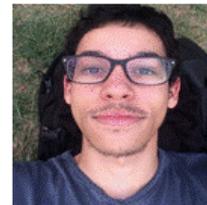
Iniciação Científica



*Fernanda Coutinho*



*Carolina Bento*



*Lucas Lacerda*