

Efectul citotoxic al tratamentului cu Gleevec asupra celulelor de glioblastom: influența factorilor de creștere

Cytotoxic effect of Gleevec treatment on glioblastoma cells: growth factors influence

Dr. MIHAI BĂNICIOIU¹, Dr. LIGIA TATARANU², Dr. ALEXANDRU MIHAI URDĂ¹, Dr. OANA POPESCU¹, Dr. DANIELA TACHE¹, Dr. ADA MARIA GEORGESCU³, Dr. IULIA D. SCOREI¹, Dr. VASILE CIUBOTARU², Prof. Dr. ANICA DRICU¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova

²Spitalul Clinic de Urgență „Bagdasar-Arseni”, București

³Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București

REZUMAT

În ciuda tratamentului multimodal complex, perioada medie de supraviețuire a unui pacient cu glioblastom nu depășește de regulă un an, necesitatea identificării unor metode terapeutice noi în tratamentul tumorilor cerebrale cu grad înalt de malignitate fiind pe deplin justificată.

Studiile din ultimul deceniu, au ajutat la o mai bună înțelegere a mecanismelor moleculare care stau la baza apariției gliomului malign, ajutând la descoperirea unor terapii experimentale moderne, precum terapiile celulare și moleculare.

Această lucrare are ca scop investigarea potențialului rol al Gleevecului în tratamentul glioblastomului *in vitro*. În acest scop, am analizat două liniile celulare (BT1GB și BT2GB) derivate din glioblastom. Rezultatele noastre arată că citotoxicitatea indusă de Gleevec în cele două liniile celulare analizate a fost dependentă de doza folosită. Studii clinice și experimentale din ultimii ani au arătat că efectul citotoxic al Gleevecului poate fi influențat de nivelul factorilor de creștere. În conformitate cu rezultatele obținute de alte grupuri de cercetare, în urma experimentelor efectuate în actualul studiu, s-a constatat că efectul citotoxic produs de tratamentul cu Gleevec asupra celulelor de glioblastom, a fost diminuat de prezența factorilor de creștere IGF-1, PDGF-BB, VEGF-B, SCF, EGF și FGF-2 în ambele linii celulare analizate.

Cuvinte cheie: glioblastom Gleevec, factori de creștere

ABSTRACT

Despite the complex multimodal treatment, the average survival of glioblastoma patients is not higher than a year; thus, the need to identify new therapeutic approaches to treat high grade glioma, being fully justified.

Several studies conducted in the past decade have helped to better understand the molecular mechanisms underlying the occurrence of malignant glioma, contributing to the discovery of modern experimental therapies, such as cellular and molecular therapies.

Adresă de corespondență:

Prof. Dr. Anica Dricu, Universitatea de Medicină și Farmacie, Str. Petru Rareș, Nr. 2, Craiova

This paper aims to investigate the potential role of Gleevec in the treatment of glioblastoma in vitro. For this reason, in this study we used two cell lines (BT1GB and BT2GB) derived from glioblastoma. Our results show that Gleevec-induced cytotoxicity was dose dependent in both cell lines analyzed.

Clinical and experimental studies in recent years have shown that the cytotoxic effect of Gleevec may be influenced by the growth factors. In accordance with results of other research groups, in the actual study, it was found that the cytotoxic effect induced by treatment with Gleevec on glioblastoma cells was diminished by the presence of growth factors such as IGF-1, PDGF-BB, VEGF-B, SCE, EGF and FGF-2.

Key words: glioblastoma, Gleevec, growth factors

INTRODUCERE

Glioblastomul reprezintă o clasă de tumori cerebrale care include mai multe entități heterogene cu origine neuroectodermală. Glioblastoamele sunt caracterizate de acumularea unor leziuni moleculare ce afectează genele implicate în reglarea proliferării, diferențierii și apoptozei celulare (1). În funcție de transformările moleculare acumulate în procesul de malignizare, glioblastoamele pot fi primare sau secundare.

Glioblastoamele primare sunt formele histologice cele mai frecvente, ele apar *de novo*, fără apariția prealabilă a unei progresii tumorale de la astrocitom cu grad mic la grad mai mare de malignitate (2).

Studiile efectuate până în prezent, au arătat ca glioblastoamele primare sunt însoțite de amplificarea receptorului factorului de creștere epidermal (EGFR) și a genei murine double minute (MDM2), precum și deleția fosfatazei supresorului tumoral și omologul tensinei (PTEN) de pe cromozomul 10 (2).

Glioblastomul secundar este caracterizat de progresia tumorală de la astrocitom difuz anaplastic (gradul II WHO) la astrocitom anaplastic (gradul III WHO) și mai apoi la glioblastom, transformări însoțite de o serie de modificări genice (3).

În glioblastomul secundar, procesul de transformare începe prin afectarea genei ce codifică proteina supresoare tumorală p53, situată pe cromozomul 17p. Această transformare caracterizează astrocitoamele infiltrative de grad inferior și este adesea asociată cu supraexpunerea receptorului factorului de creștere derivat din plachete (PDGFR) și a factorului său PDGF (3).

Glioblastomul, asemănător altor tipuri de cancere, este însoțit de prezența proliferării și a angiogenezei tumorale, în absența stimulilor externi de creștere (4).

Una dintre cauzele majore ale acestui comportament al glioblastomului, este dat de capacitatea sa de a supraexprima factorii de creștere care au un rol important în stimularea autocrină și

paracrină a celulelor tumorale și de asemenea în stimularea angiogenezei (5).

În plus, în glioblastoame au fost detectate alterări moleculare semnificative la nivelul receptorilor factorilor de creștere și al căilor de semnalizare generate de aceste proteine transmembranare (5, 6, 7).

Până în prezent, au fost identificate gene umane care codifică 7 clase de receptori ai factorilor de creștere: clasa I reprezentată de EGFR, NEU/HER2 și HER3; clasa II reprezentată de IR și IGF-1R; clasa III reprezentată de PDGF receptors și c-Kit; clasa IV reprezentată de FGFR; clasa V reprezentată de VEGFR; clasa VI reprezentată de HGFR și SFR clasa VII reprezentată de familia neurotrofinelor, care include TRKA, TRKB, TRKC și NGFR (8, 9, 10, 11). În celulele maligne, aceste proteine receptori sunt aberant exprimate sau activate, ducând la proliferare celulară necontrolată, subminare a procesului de apoptoză și la alterarea răspunsului la terapie.

Clasele de receptori identificate ca fiind cele mai importante în geneza tumorilor cerebrale includ următorii receptori: IGF-1R, EGFR, PDGFR și VEGFR (12, 13).

O mare parte dintre modalitățile terapeutice moderne utilizate în tratamentul glioblastoamelor și în alte tipuri de neoplazii, au ca scop inactivarea acestor receptori ai factorilor de creștere și a proteinelor mesager implicate în semnalul transdus de receptori (7). Receptorii factorilor de creștere sunt proteine transmembranare cu activitate catalitică intrinsecă, făcând parte din marea clasă de proteine tirozin kinazice (7).

Există la această oră diferite modalități de inactivare a receptorilor tirozinkinazici cum ar fi: anticorpi monoclonali, inhibitori cu moleculă mică, peptide sintetice și RNA etc. Literatura de specialitate actuală susține că utilizarea inhibitorilor cu moleculă mică este eficientă în tratamentul cancerului (14). Cei mai mulți inhibitori cu moleculă mică sunt în faza preclinică, unii dintre ei au ajuns însă în faza clinică. Date preliminare sugerează că Gleevecul (STI571 sau

Imatinib mesylate), un inhibitor cu moleculă mică, direcționat împotriva proteinelor tirozin kinazice PDGFR, cKIT și cABL, este utilizat la această oră în tratamentul în diferite forme de cancer (15).

Principalul obiectiv al acestui studiu a fost de a investiga potențialul rol al inhibitorului Gleevec în tratamentul glioblastomului. În acest scop, s-a folosit o linie celulară derivată din glioblastom. □

MATERIAL ȘI METODĂ

Materiale

Reactivii utilizați pentru tratarea culturilor celulare au fost procurați de la: Invitrogen/Life Technologies, Inc. (Rockville, MD, SUA) și Sigma (St. Louis, MO, USA). Concentrația soluției de DMSO a fost mai mică de 0,1% în momentul în care inhibitorii au fost adăugați în mediul de cultură. IGF-1, PDGF-BB, VEGF-B, SCF, EGF și FGF-2 au fost cumpărați de la R&D Systems (Abington, UK). În studiu au fost incluse grupuri de control tratate numai cu substanțele folosite pentru diluție.

Tratarea celulelor

Liniile celulare de glioblastom BT1GB și BT2GB au fost etablate din segment tumoral colectat de la pacient cu glioblastom și au fost cultivate în MEM ce conține 10% ser fetal bovin (FBS) suplimentat cu 2mM glutamină și antibiotic (100UI/ml penicilină și 100UI/ml streptomycină). Celulele au fost cultivate în sticle de culturi celulare de 200 ml. După atingerea confluenței, celulele au fost tripsinizate apoi au fost transferate în plăcuțe cu 96 de godeuri (în funcție de designul fiecărui experiment) și menținute în incubator umidificat la 37°C, 95%O₂ și 5%CO₂. Pentru determinarea dozei-răspuns, celulele au fost cultivate în condiții standard de cultură (mediu complet cu 10% FBS și suplimente) și tratate cu Gleevec în următoarele concentrații: 0.3125μM, 0.625μM, 1.25μM, 2.5μM, 5μM, 10μM, 20μM, 40μM, 60μM sau 80μM, la interval de 24 de ore, timp de 3 zile. Gleevec a fost diluat în apă. S-a folosit o soluție stoc de 100 mM care a fost păstrată la 20°C. Controlul a constat din celule netratate, cultivate în condiții standard de cultură. Viabilitatea celulară a fost apoi analizată după 72h. Pentru determinarea rolului factorilor de creștere asupra efectului citotoxic al tratamentului cu Gleevec, celulele au fost spălate de două ori cu fosfat soluție tampon salină) și incubate cu mediu cu 1% ser cu sau fără adaos de 50ng/ml IGF-1, PDGF-BB, VEGF-B, SCF, EGF și

FGF-2 și tratate cu 1.25μM, 2.5μM, 5μM sau 10μM Gleevec la interval de 24 de ore, timp de 3 zile. Factorii de creștere au fost diluați în apă. S-a folosit o soluție stoc de 1μg/ml care a fost păstrată la 20°C. Controlul a constat din celule netratate, cultivate în condiții standard de cultură. Viabilitatea celulară a fost apoi analizată după 72h. Un număr de 15x10³celule/godeu/200μl mediu de cultură au fost cultivate pe plăcuțe cu 96 de godeuri, incubate timp de 8h și tratate cu diferite concentrații de Gleevec și/sau factori de creștere.

Determinarea viabilității celulare

Viabilitatea celulară a fost evaluată la 3 zile după tratament, folosindu-se metoda MTT. Metoda MTT se bazează pe transformarea de către celulele metabolice active a unei sări galbene de tetrazolium MTT [3-(4.5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil bromid de tetrazolium] în cristale de formazan violet.

La terminarea perioadei de tratare a celulelor s-au adăugat 10μl de reactiv MTT în fiecare godeu și plăcuțele au fost apoi incubate la 37°C timp de 4h. Cristalele de formazan rezultate au fost solubilizate cu ajutorul unui tampon de solubilizare și densitatea optică a fost măsurată la 595nm. Rezultatele au fost prezentate ca procent obținut prin comparația cu celulele din proba control (netratate). □

REZULTATE

Tratamentul cu Gleevec induce citotoxicitate în celulele de glioblastom *in vitro*

După cum se observă în Fig. 1, citotoxicitatea produsă de tratamentul cu Gleevec a fost dependentă de doza utilizată, atât în celulele aparținând liniei de glioblastom BT1GB (Fig. 1A), cât și în cele aparținând liniei BT1GB (Fig. 1A).

Celulele BT1GB au supraviețuit în procent de 98% după tratamentul cu 0,3125μM, în procent de 89,5% după tratamentul cu 0,625μM, în procent de 88,2% după tratamentul cu 1,25μM, în procent de 75,1% după tratamentul cu 2,5μM, în procent de 63,9% după tratamentul cu 5μM, în procent de 55,8% după tratamentul cu 10μM, în procent de 29,8% după tratamentul cu 20μM, în procent de 8,8% după tratamentul cu 40μM, în procent de 6,2% 60μM și în procent de 7% după tratamentul cu 80μM μM Gleevec. Supraviețuirea celulelor a fost determinată la 3 zile după tratament (Fig. 1A).

Tratamentul cu 0,3125μM Gleevec nu a avut efect citotoxic asupra celulelor BT2GB. Celulele

BT2GB au supraviețuit în procent de 94,2% după tratamentul cu 0,625 μ M, în procent de 85,2% după tratamentul cu 1,25 μ M, în procent de 94,1% după tratamentul cu 2,5 μ M, în procent de 73,4% după tratamentul cu 5 μ M, în procent de 59,2% după tratamentul cu 10 μ M, în procent de 32,2% după tratamentul cu 20 μ M, în procent de 11,5% după tratamentul cu 40 μ M, în procent de 4,9% după tratamentul cu 60 μ M și în procent de 4,1% după tratamentul cu 80 μ M μ M Gleevec. Supraviețuirea celulelor a fost determinată la 3 zile după tratament (Fig. 1B).

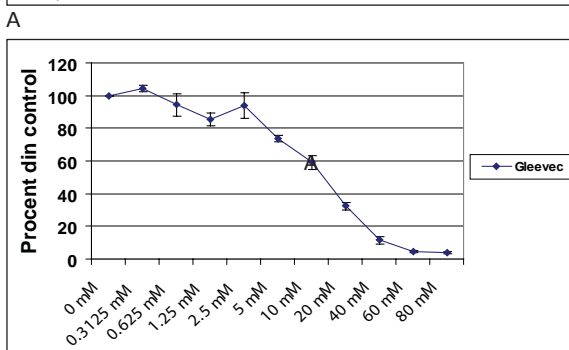
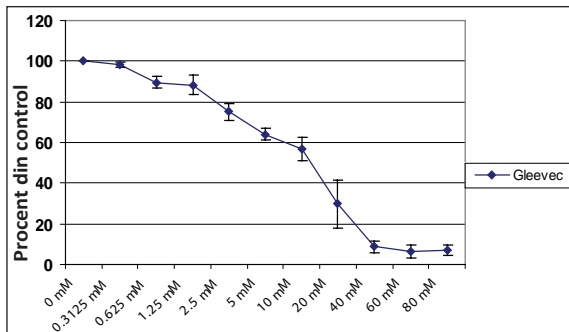


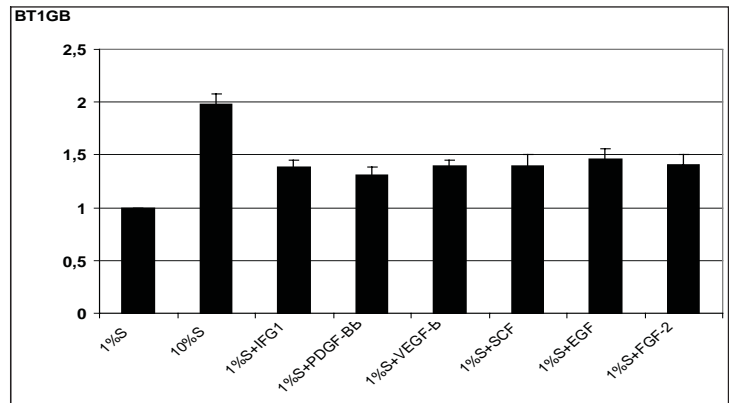
FIGURA 1. Doza-răspuns după tratamentul cu STI571. Celulele BT1GB (A) BT2GB (B) au fost cultivate pe plăcuțe cu 96 de godeuri (15 x 10³ celule/godeu) și tratate cu Gleevec în diferite concentrații. Efectul tratamentului a fost analizat la 3 zile după tratament prin metoda MTT. Rezultatele sunt prezentate ca procent din control. Datele reprezintă medie +/- deviație standard a două experimente independente

Factorii de creștere IGF-1, PDGF-BB, VEGF-B, SCF, EGF FGF-2 au efect stimulatив asupra proliferării celulelor de glioblastom *in vitro*

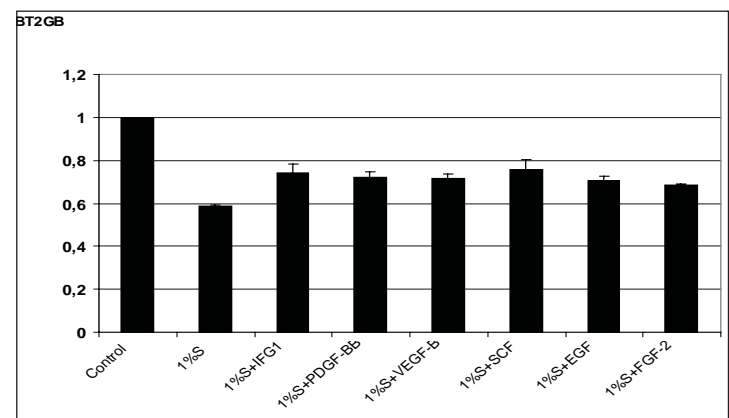
Creșterea celulară a celulelor BT1GB cultivate în mediu cu 10% FBS a fost cu 0,98 fold mai mare decât a celulelor cultivate în mediu cu 1% FBS (Fig. 2A). Stimularea cu IGF1 și VEGF-B, SCF sau FGF-2 a indus o creștere celulară cu 0,4 fold mai mare decât a celulelor cultivate în mediu cu 1% FBS, stimularea cu PDGF-BB sau EGF a indus o creștere celulară cu 0,31 respectiv 0,47 fold mai mare decât a celulelor cultivate în mediu cu 1% FBS (Fig. 2A).

Creșterea celulară a celulelor BT2GB cultivate în mediu cu 10% FBS a fost cu 0,71 fold mai mare

decât a celulelor cultivate în mediu cu 1% FBS (Fig. 2B). Stimularea cu PDGF-BB sau VEGF-B a determinat o creștere celulară cu 0,23 fold mai mare decât a celulelor cultivate în mediu cu 1% FBS, stimularea cu IGF-1, SCF, EGF sau FGF-2 a indus o creștere celulară cu 0,27, 0,3 fold, 0,21 fold respectiv 0,19 fold mai mare decât a celulelor cultivate în mediu cu 1% FBS (Fig. 2B).



A



B

FIGURA 2. Efectul stimulării cu IGF-1, PDGF-BB, VEGF-B, SCF, EGF sau FGF-2 asupra creșterii celulelor de glioblastom BT1GB (A) și BT2GB (B). Un număr de 15x10³ celule/godeu/200 μ l mediu de cultură au fost transferate în plăcuțe cu 96 de godeuri, incubate timp de 8h apoi spălate de două ori cu soluție tampon fosfat salină și incubate în mediu cu 1% ser, în mediu cu 10% ser, în mediu cu 1% ser și stimulate cu 50ng/ml IGF-1, PDGF-BB, VEGF-B, SCF, EGF sau FGF-2. Viabilitatea celulară a fost determinată după 3 zile, prin metoda MTT

Efectul stimulatив al factorilor de creștere reduce efectul citotoxic al tratamentului cu Gleevec în celulele de glioblastom

Celulele BT1GB cultivate în mediu cu 1% FBS au supraviețuit în procent de 52,4%, în comparație cu celulele cultivate în condiții standard din control (Fig. 3).

Tratamentul cu 2,5 μ M Gleevec a redus viabilitatea celulelor BT1GB până la: 29,8%, în celulele cultivate în mediu cu 1% FBS, 63% în celulele stimulate cu IGF-1, 57,7% în celulele stimulate cu ml PDGF-BB, 64,5% în celulele stimulate cu VEGF-B, 58% în celulele cultivate

stimulate cu SCF, 67,1% în celulele stimulate cu EGF și până la 63,7% în celulele stimulate cu FGF-2 (Fig. 3A).

Tratamentul cu 5 μM Gleevec, a redus viabilitatea celulară până la: 30,8% în celulele BT1GB

cultivate în mediu cu 1% FBS, 63,7% în celulele stimulate cu IGF-1, 63,3% în celulele stimulate cu ml PDGF-BB, 64,3% în celulele stimulate cu VEGF-B. 60% în celulele stimulate cu SCF, 66,3% în celulele stimulate cu EGF și până la 65% în celulele stimulate cu FGF-2 (Fig. 3B).

Un tratament cu o doză mai mare de Gleevec (10 μM) a redus viabilitatea celulară până la: 16,3% în celulele cultivate în mediu cu 1% FBS și până la 56,5% în celulele stimulate cu IGF-1, 52,9% în celulele cultivate în 1% FBS, stimulate cu ml PDGF-BB, 59,6% în celulele cultivate în 1% FBS, stimulate cu VEGF-B, 52,8% în celulele cultivate în 1% FBS și stimulate cu SCF, 59,9% în celulele cultivate în 1% FBS și stimulate cu EGF, 59,6% în celulele cultivate în 1% FBS și stimulate cu FGF-2 (Fig. 3C).

Celulele BT2GB cultivate în mediu cu 1% FBS au supraviețuit în procent de 58,8% în comparație cu celulele cultivate în condiții standard din control (Fig. 4).

Tratamentul cu 2,5 μM Gleevec a redus viabilitatea celulelor BT1GB până la: 48,9% în celulele cultivate în mediu cu 1% FBS, 69,9% în celulele stimulate cu IGF-1, 68,5% în celulele stimulate cu ml PDGF-BB, 66,4% în celulele stimulate cu VEGF-B, 63,2% în celulele stimulate cu SCF, 64,1% în celulele stimulate cu EGF, 8% în celulele stimulate cu FGF-2 (Fig. 4A).

Tratamentul cu 5 μM Gleevec a redus viabilitatea celulară până la 52,9% în celulele cultivate în mediu cu 1% FBS și până la: 69,9% în celulele stimulate cu IGF1, la 68,5% în celulele stimulate cu ml PDGF-BB, 66,4% în celulele stimulate cu VEGF-B, 63,3% în celulele stimulate cu SCF, 64,1% în celulele stimulate cu EGF și până la 67,8% stimulate cu FGF-2 (Fig. 4B).

Tratamentul cu 10 μM Gleevec a redus viabilitatea celulară până la: 24,8% în celulele cultivate în mediu cu 1% FBS și până la 59,5% în celulele stimulate cu IGF-1, 53,7% în celulele stimulate cu ml PDGF-BB, 59,4% în celulele stimulate cu VEGF-B, 52,2% în celulele stimulate cu SCF, 59,9% în celulele stimulate cu EGF și până la 54,3% în celulele cultivate în 1% FBS și stimulate cu FGF-2 (Fig. 4C). □

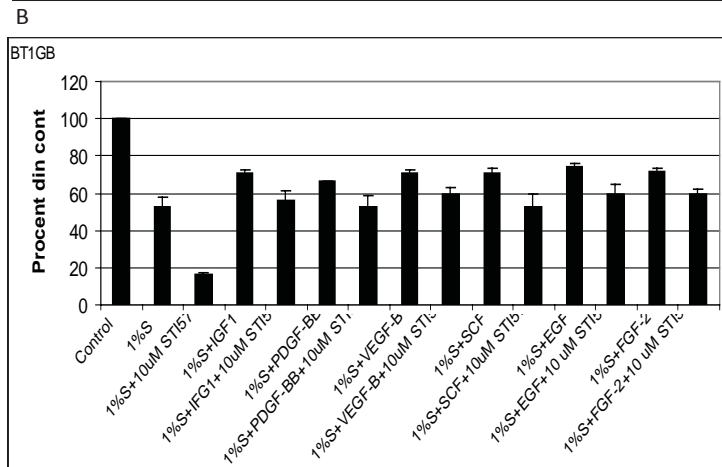
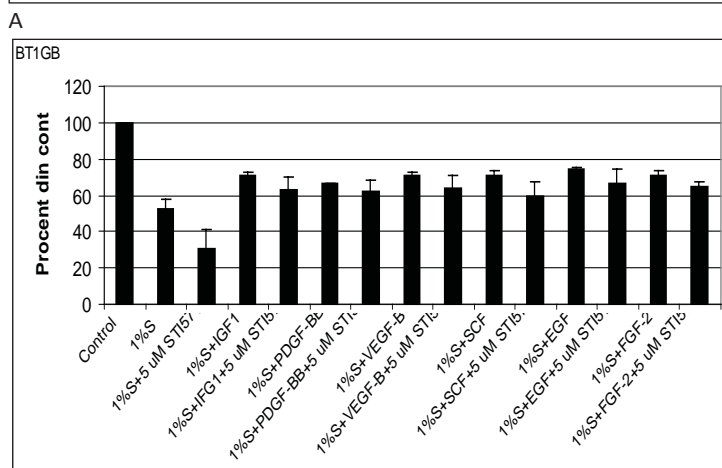
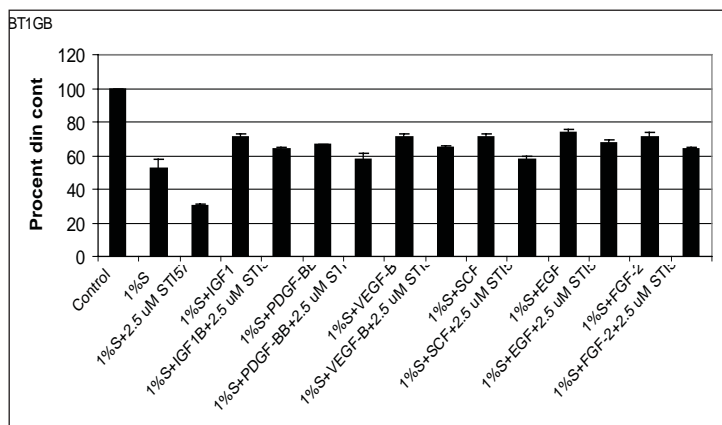
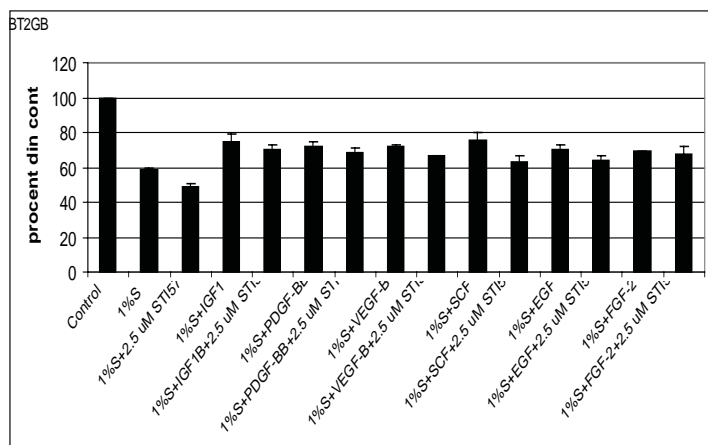


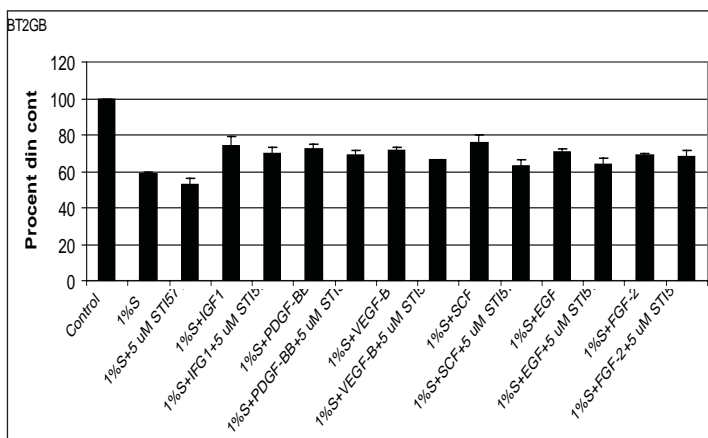
FIGURA 3. Un număr de 15x10³celule/godeu/200μl mediu de cultură au fost transferate în plăcuțe cu 96 de godeuri, incubate timp de 8h apoi spălate de două ori cu soluție tampon fosfat salină și incubate în mediu cu 1% ser, în mediu cu 1% ser și stimulate cu 50ng/ml IGF-1, PDGF-BB, VEGF-B, SCF, EGF sau FGF-2 sau în mediu cu 1% ser, stimulate cu 50ng/ml IGF-1, PDGF-BB, VEGF-B, SCF, EGF sau FGF-2 și tratate cu 2.5 μM Gleevec (A), 5 μM Gleevec (B) sau 10 μM Gleevec (C) la interval de 24 de ore. Controlul a constat din celule netratate, cultivate în condiții standard de cultură. Viabilitatea celulară a fost determinată după 3 zile, prin metoda MTT

DISCUȚII ȘI CONCLUZII

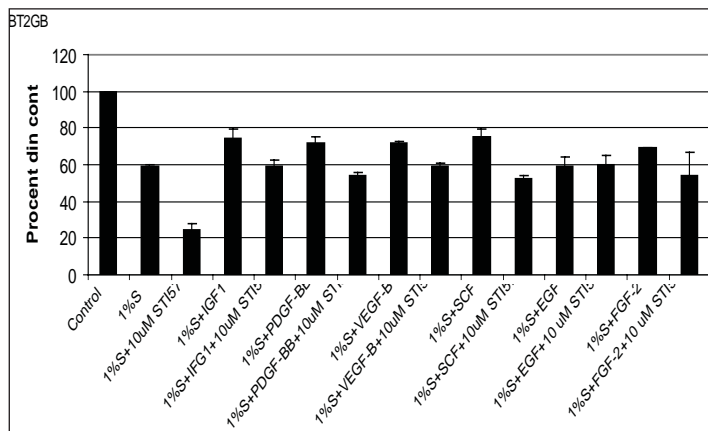
Literatura științifică modernă consemnează o tendință nouă în atitudinea terapeutică în cazul pacienților cu glioblastom și anume „terapia țintită”. În țesuturile maligne cu o expresie înaltă a receptorilor tirozinkinazici sau cu receptori tirozinkinazici constitutiv activi, aceste proteine sunt considerate ținte terapeutice specifice.



A



B



B

FIGURA 4. Un număr de 15x103celule/godeu/200μl mediu de cultură au fost transferate în plăcuțe cu 96 de godeuri, incubate timp de 8h apoi spălate de două ori cu soluție tampon fosfat salină și incubate în mediu cu 1% ser, în mediu cu 1% ser și stimulate cu 50ng/ml IGF-1, PDGF-BB, VEGF-B, SCF, EGF sau FGF-2 sau în mediu cu 1% ser, stimulate cu 50ng/ml IGF-1, PDGF-BB, VEGF-B, SCF, EGF sau FGF-2 și tratate cu 2.5 μM Gleevec (A), 5 μM Gleevec (B) sau 10 μM Gleevec (C) la interval de 24 de ore. Controlul a constat din celule netratate, cultivate în condiții standard de cultură. Viabilitatea celulară a fost determinată după 3 zile, prin metoda MTT

Numeroși inhibitori cu moleculă mică sunt utilizați cu rezultate promițătoare în tratamentul cancerului. Studiile noastre anterioare arată că inhibarea receptorilor factori de creștere reduce viabilitatea celulelor de glioblastom *in vitro* (16, 17, 18).

În anul 2000 a intrat în studiul clinic un inhibitor cu moleculă mică acceptat de FDA (Food and Drug Administration) numit Gleevec, sau Imatinib mesylate, inhibitor cu acțiune țintită asupra unor receptori tirozin-kinazici (15). La această oră, gleevecul se folosește în tratamentul leucemiei limfoblastice cronice cu cromozom Philadelphia pozitiv (LMC Ph+), dar și alte tipuri de cancere cum ar fi tumorile stromale gastro-intestinale, cancerului hepatic sau cancerul pancreatic (19).

Există la această oră trei studii clinice în derulare, cu scopul de a determina eficacitatea tratamentului cu Gleevec, toxicitatea sa precum și farmacocinetica Gleevecului atunci când el este administrat pacienților diagnosticați cu gliome (20). Unul dintre studii (faza II) urmărește efectul administrării Gleevec la pacienții diagnosticați cu glioblastoame, următorul studiu derulat de către Coaliția Nord Americană a Tumorilor Cerebrale (NABTC) (trial clinic fază II), tratamentul cu glivec este administrat pacienților cu gliome maligne sau meningioame recurente (21), iar un al treilea studiu (trial clinic fază II), condus de către Organizația Europeană pentru Cercetarea și Tratamentul Cancerului, urmărește efectul tratamentului cu Gleevec asupra pacienților diagnosticați cu gliome cu grad mic sau mare de malignitate, care nu au răspuns anterior la radioterapie sau la chimioterapie (22).

Principalul obiectiv al acestui studiu a fost de a investiga potențialul rol al Gleevecului în tratamentul glioblastomului. Studiul a fost realizat *in vitro*, folosindu-se două linii celulare derivate din glioblastom. Celulele au fost tratate cu doze crescânde de Gleevec, iar acțiunea citotoxică a inhibitorului a fost evaluată prin metoda MTT. Rezultatele noastre arată că citotoxicitatea indusă de Gleevec a fost dependentă de doza folosită, astfel, supraviețuirea celulelor de glioblastom a scăzut odată cu creșterea dozei de Gleevec în ambele linii celulare studiate.

Se presupune că acțiunea antitumorală a Gleevecului este dată de inhibarea oncoproteinei Bcr-Abl și a receptorilor tirozinkinazici PDGF și cKit, mecanismul de acțiune al acestei molecule nu este însă complet cunoscut până în prezent (15). Studiile clinice și experimentale din ultimii ani au arătat efectul citotoxic al Gleevecului poate fi influențat de nivelul factorilor de creștere (23).

Există la această oră diferite modalități de inactivare a receptorilor tirozinkinazici cum ar fi: anticorpi monoclonali, inhibitori cu molecula mică, peptide sintetice, siRNA etc. (14, 15)

Este deja cunoscut faptul că tumorile cerebrale secretă o mare varietate de factori de creștere care stimulează proliferarea, supraviețuirea, migrarea și angiogeneza tumorală, printr-un sistem de acțiune autocrin sau paracrin (4). Acest studiu a confirmat observațiile anterioare că celulele canceroase secretă factori de creștere, care la rândul lor influențează negativ acțiunea terapeutică a Gleevecului. Astfel, în urma experimentelor efectuate s-a constatat că răspunsul celulelor de glioblastom la tratamentul cu Gleevec a fost afectat de existența factorilor de creștere din mediu. Rezultatele acestui studiu au arătat că stimularea cu factori de creștere a

avut ca efect reducerea citotoxicității produse de tratamentul cu Gleevec în celulele de glioblastom aparținând liniei BT1GB. În cazul celulelor de glioblastom aparținând liniei BT2GB, efectul citotoxic produs de tratamentul cu Gleevec a fost, în general, diminuat de stimularea cu factori de creștere, cu o singură excepție, stimularea indusă de EGF nu a afectat citotoxicitatea produsă de tratamentul cu 10 μ M Gleevec asupra celulelor de glioblastom.

În concluzie, prezența factorilor de creștere în mediu are ca efect reducerea efectului citotoxic al tratamentului cu Gleevec. □

BIBLIOGRAFIE

1. **Maher EA, Furnari FB, Bachoo RM, et al** – Malignant glioma: genetics and biology of a grave matter. *Genes Dev.* 2001 Jun 1;15(11): 1311-33).
2. **Hiroko Ohgaki, Paul Kleihues** – Genetic Pathways to Primary and Secondary Glioblastoma, *The American Journal of Pathology*, Vol. 170, Nr. 5: 1445- 1453 Ohgaki H. Genetic pathways to glioblastomas. *Neuropathology.* 2005 Mar; 25(1):1-7.). (2007)
3. **Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK** – The 2007 WHO Classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol*, 114:97–109) (2007)
4. **Hanahan D, Weinberg RA** – The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000 Jan 7; 100(1):57-70.)
5. **Marc-Alexander Brockmann, Ulrike Ulbricht, Katrin Grüner et al.** – Glioblastoma and Cerebral Microvascular Endothelial Cell Migration in Response to Tumor-Associated Growth Factors: *Neurosurg*, Vol.52; 1391-1399) (2003)
6. **Gurpreet S. Kapoor and Donald M. O'Rourke** – Mitogenic Signaling Cascades in Glial Tumors, *Neurosurgery*, vol.52, Nr.6, 1425-1435, (2003)
7. **Manash K. Paul, Anup K. Mukhopadhyay** – Tyrosine Kinase: Role and Significance in Cancer; *Int. J. Med. Sci.* 1(2); 101-115, (2004)
8. **Doolittle R F, Hunkapiller M W, Hood L E. et al.** – Simian sarcoma virus onc gene, v-sis, is derived from the gene (or genes) encoding a platelet-derived growthfactor. *Science.* 1983; 221: 275–277.
9. **Downward J, Yarden Y, Mayes E. et al.** – Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. *Nature.* 1984; 307: 521–527.
10. **Levi-Montalcini R.** – The nerve growth factor 35 years later. *Science.* 1987; 237: 1154–1162.
11. **Ronald E. van Kesteren, Michael Fainzilber, Garry Hauser, et al** – Early evolutionary origin of the neurotrophin receptor family. *The EMBO Journal* Vol.17 No.9 pp.2534–2542, 1998
12. **Gammeltoft S, Balloti R, Kowalski A, et al** – Expression of two types of receptor for insulin-like growth factors in human malignant glioma. *Cancer Res* 48:12331237, 1988
13. **Gliomas Marjut Puputti, Olli Tynninen, Harri Sihto, et al** – Amplification of *KIT, PDGFRA, VEGFR2*, and *EGFR* in Mol Cancer Res 2006;4(12), 2006
14. **Mischel PS, Cloughesy TF** – Targeted Molecular Therapy of GBM, *Brain Pathol* 13:52-61). (2003)
15. **Jose Baselga** – Targeting Tyrosine Kinases in Cancer: The Second Wave. *Science* 26 May 2006: Vol. 312. no. 5777, pp. 1175–1178. DOI: 10.1126/science.1125951)
16. **Alexandru O, Dragutescu L, Tataranu L, Ciubotaru V, et al** – Helianthin induces antiproliferative effect on human glioblastoma cells in vitro. *J Neurooncol.* 2010 Jul 16.
17. **Carapancea M, Alexandru O, Fetea AS, Dragutescu L, et al** – Growth factor receptors signaling in glioblastoma cells: therapeutic implications.. *J Neurooncol.* 2009 Apr;92(2):137-47. Epub 2008 Nov 30.
18. **Carapancea M, Cosaceanu D, Budiu R, Kwiecinska A, et al**– Dual targeting of IGF-1R and PDGFR inhibits proliferation in high-grade gliomas cells and induces radiosensitivity in JNK-1 expressing cells. *J Neurooncol.* 2007 Dec;85(3):245-54. *Epub* 2007 Jun 14.
19. **DeMatteo, R. et al.** – Adjuvant imatinib mesylate after resection of localised, primary gastrointestinal stromal tumour: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet.*
20. <http://www.clinicaltrials.gov/ct/gui/show/NCT00039364>
21. <http://www.nabtc.org/PUB-NABTC99-08.shtml>
22. <http://www.eortc.be/protoc/details.asp?protocol=16011>
23. **Marion T Weigel, Linda Dahmke, Christian Schem, et al** – In vitro effects of imatinib mesylate on radiosensitivity and chemosensitivity of breast cancer cells. *BMC Cancer.* 2010; 10: 412).

Vizitați site-ul

SOCIETĂȚII ACADEMICE DE MEDICINĂ A FAMILIEI

www.samf.ro