

MARGARIDA PERPÉTUO DA SILVA CONCEIÇÃO

Este exemplar corresponde à versão final da
Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso
de Pós-Graduação Ciências Médicas da
Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP,
para obtenção do título de Mestre em Ciências
Médicas, área de Neurologia do(a) aluno(a)
Margarida Perpétuo da Conceição.

Campinas, 16 de dezembro de 2003.

Prof. Dr(a). Edmundo Franco Carelli
Orientador(a)

**O USO COMBINADO DA ONCOSTATIN M COMO
INIBIDOR DA PROLIFERAÇÃO CELULAR DE
GLIOBLASTOMA MULTIFORME**

200407648

CAMPINAS

2003

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

MARGARIDA PERPÉTUO DA SILVA CONCEIÇÃO

**O USO COMBINADO DA ONCOSTATIN M COMO
INIBIDOR DA PROLIFERAÇÃO CELULAR DE
GLIOBLASTOMA MULTIFORME**

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade
Estadual de Campinas para Obtenção do título de Mestre
em Ciências Médicas, área de Neurologia.*

ORIENTADOR: PROF.DR. EDMUR FRANCO CARELLI.

CAMPINAS

2003

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	UNICAMP
	C744u
V	EX
TOMBO BC	57927
PROC.	16P/11704
C	☐
D	☒
PREÇO	R\$11,00
DATA	24/5/04
Nº CPD	

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

CM00197041-9

BIB ID 316066

C744u

Conceição, Margarida Perpétuo da Silva

O uso combinado da Oncostatin M como inibidor da proliferação celular de glioblastoma multiforme / Margarida Perpétuo da Silva
Conceição. Campinas, SP : [s.n.], 2003.

Orientador : Edmur Franco Carelli

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. *Citocinas. 2. Inflamação. 3. Tumor. I. Edmur Franco Carelli
. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências
Médicas. III. Título.

Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Edmur Franco Carelli

Membros:

1. Prof(a). Dr(a). José Daniel Lopes

2. Prof(a). Dr(a). Liana Maria Cardoso Verinaud

3. Prof(a). Dr(a). Edmur Franco Carelli

Curso de pós-graduação em Ciências Médicas, da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 16/12/2003

DEDICATÓRIA

*Dedico esta dissertação a Hernani da Costa
Conceição para que a sua esperança em viver,
continue através dos sonhos da ciência.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus pais, o auxílio incondicional oferecido durante esses anos de formação, possibilitando a realização deste marco na minha formação acadêmica.

Agradeço ao Prof. Dr. Edmur Franco Carelli, a orientação acadêmica dedicada durante toda a minha formação neurocirúrgica e principalmente, pelo exemplo dos seus valores éticos .

Agradeço a Profª. Dra. Liana Maria Cardoso Verinaud pelas orientações oferecidas, que refinaram os meus conhecimentos em Imunologia.

Minha gratidão a Lucas Almeida e Luigi Polezze, pela pureza das suas idéias, que me servem de fonte de inspiração.

Agradeço a Maria das Graças dos Santos Salles por sua paciência e carinho.

Agradeço a família Polezze que me adotou como membro efetivo .

	<i>Pág</i>
RESUMO.....	<i>xi</i>
ABSTRACT.....	<i>xii</i>
INTRODUÇÃO.....	15
Oncostatin M.....	16
Transdução de sinais.....	18
Ação pleiotrófica da Oncostatin M.....	20
Efeitos adversos da Oncostatin M.....	23
Oncostatin M como modificador fenotípico tumoral.....	25
OBJETIVOS.....	28
GLIOBLASTOMA MULTIFORME.....	30
A EXPRESSÃO DA CICLO-OXIGENASE-2 NA TUMORIGÊNESE DOS GLIOBLASTOMAS.....	35
DO USO COMBINADO DOS INIBIDORES DA CICLO-OXIGENASE 2 E DA ONCOSTATIN M : PERSPECTIVAS DE UM TRATAMENTO FUTURO.....	40
CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
ANEXOS	77

LISTA DE ABREVIATURAS

OSM	ONCOSTATIN M
GBM	GLIOBLASTOMA MULTIFORME
ICOX-2	INIBIDORES DA CICLO-OXIGENASE-2
SNC	SISTEMA NERVOSO CENTRAL
IL-2	INTERLEUCINA-2
TNF	FATOR DE NECROSE TUMORAL
IL-6	INTERLEUCINA-6
IL-11	INTERLEUCINA-11
LIF	FATOR INIBIDOR DA LEUCEMIA
G-CSF	FATOR ESTIMULADOR DE COLÔNIAS DE GRANULÓCITOS
CT-1	CARDIOTROFINA-1
PMA	FORBOL-12-13-MIRISTATO ACETATO
DNA	ÁCIDO DESOXIRIBONUCLÉICO
GH	HORMÔNIO DO CRESCIMENTO
GP-130	GLICOPROTEÍNA 130
CNTF	FATOR NEUROTROFICO CILIAR
LIF-R	RECEPTOR DE LIF
OSMR	RECEPTOR DE OSM

JAK	JANUS QUINASES
STAT	PROTEINAS TRANSDUTORAS DE SINAIS E ATIVADORAS DA TRANSCRIÇÃO
MAPK	QUINASE ATIVADA POR MITÓGENOS
MEK	MAP QUINASE -QUINASE
ERK	EXTRACELULAR SINAL-REGULATED KINASE
JNK-SAPK	C-JUN-N-TERMINAL PROTEÍNO QUINASE ATIVADA PELO STRESS
SOCS	SUPRESSORES DA SINALIZAÇÃO DAS CITOCINAS
G6P	GLICOSE 6 FOSFATO
TAT	MARCADOR DE HIPERCOAGULABILIDADE
ACT	ALFA -1- ANTIQUIMOTRIPSINA
ATT	ALFA-1-ANTITRIPSINA
ACTH	HORMÔNIO ADRENOCORTICOTRÓFICO
PAI	FATOR ATIVADOR DO INIBIDOR DO PLASMINOGÊNIO
UPA	FATOR ATIVADOR DO PLASMINOGÊNIO TIPO UROQUINASE
IL-1	INTERLEUCINA-1
IFN- γ	INTERFERON- γ
RNA	ÁCIDO RIBONUCLEÍCO
TNF	FATOR DE NECROSE TUMORAL
IL-8	INTERLEUCINA-8

ACT	ALFA-1-ANTIQUIMOTRIPSINA
ICAM	MOLÉCULAS DE ADESÃO INTERCELULAR DA FAMÍLIA DAS IMUNOGLOBULINAS
VCAM	MOLÉCULAS DE ADESÃO VASCULAR
TIMP-1	INIBIDORA TECIDUAL DE METALOPROTEINASE -1
TIMP-3	INIBIDORA TECIDUAL DE METALOPROTEINASE -3
MMP-9	METALOPROTEINASE -9
WHO	WORLD HEALTH ORGANIZATION
EGFR	RECETOR DO FATOR DE CRESCIMENTO ENDOTELIAL
PDGF	FATOR DE CRESCIMENTO DERIVADO DAS PLAQUETAS
CDKN2	SINÔNIMO DO GEN P16
PTEN	GEN HOMÓLOGO A FOSSFATO-TENSINA
PCNA	ANTÍGENO NUCLEAR DE PROLIFERAÇÃO CELULAR
MDM2	ONCOPROTEINA MURINA DOBRADA POR MINUTO
PGH2	PROSTAGLANDINA H2
PGG2	PROSTAGLANDINA G2
PGE2	PROSTAGLANDINA E2
PGD2	PROSTAGLANDINA D2
PGF2	PROSTAGLANDINA F2
PGI2	PROSTAGLANDINA I2

TXA	TROMBOXANE A 2
COX	CICLOOXIGENASE
COX-1	CICLOOXIGENASE-1
COX-2	CICLOOXIGENASE-2
EGF	FATOR DE CRESCIMENTO ENDOTELIAL
TGF	FATOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADOR
INOS	SINTASE INDUTORA DO ÓXIDO NÍTRICO
VEGF	FATOR DE CRESCIMENTO ENDOTELIAL VASCULAR
IL-10	INTERLEUCINA 10
IL-12	INTERLEUCINA 12
SIDA	SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA
IL-4	INTERLEUCINA-4
IL-5	INTERLEUCINA-5
TSP-1	TROMBOSPONDINA-1
FDA	FOOD AND DRUGS ADMINISTRATION
IL-3	INTERLEUCINA-3
GM-CSF	FATOR ESTIMULADOR DO CRESCIMENTO DE COLÔNIAS DE MACRÓFAGOS E GRANULÓCITOS
hCG	GONADOTROFINA CORI



RESUMO

A presente dissertação visa organizar os conhecimentos sobre a citocina Oncostatin M (OSM) , ao mesmo tempo que realça as vias indiretas de sua expressão com o objetivo de clarear conceitos para aplicabilidade futura.

Esta revisão apresenta a molécula isolada e suas propriedades benéficas e adversas, além de uma discussão sobre as ações biológicas atualmente conhecidas que favorecem a concepção para possíveis protocolos de tratamento nos Glioblastoma Multiforme (GBM). Ressalta também a possibilidade de associação entre os inibidores da ciclo-oxigenase 2 (ICOX-2) e os indutores desta citocina visando o melhor bloqueio da proliferação tumoral em seu uso futuro e também discutir a manipulação da angiogênese.

Desta forma as evidências levantadas favorecem a proposta de uma possibilidade de uso desta citocina combinado com os indutores de sua expressão e os inibidores da ciclo-oxigenase 2 (ICOX-2).



ABSTRACT

The purpose of this article is to organize available information on Oncostatin M as well as highlight its indirect pathways of expression so that concepts are clarified for future applicability.

This review presents the isolated molecule with its adverse as well as beneficial properties and a discussion on known biological activities that favor the development of possible treatment protocols, especially in the case of tumors of the central nervous system.

The possibility of an association between COX-2 inhibitors and this cytokine with a view to its use in the future is also highlighted.



INTRODUÇÃO

ONCOSTATIN M

As citocinas são agrupadas em famílias conforme as suas propriedades biológicas, estruturais e de acordo com os seus receptores funcionais (ABBAS, 2000). A Oncostatin M (OSM) é uma citocina pertencente à família da interleucina 6 (IL-6) da qual participam : interleucina-11 (IL-11), fator inibidor de leucemia (LIF), fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), fator neurotrófico ciliar (FNC), cardiotrofinas-1 (CT-1), interferons do tipo I, neurotrofina /1 fator estimulante de células e a própria IL-6 (ZARLING et al., 1986; ROSE, 1989; ROSE e BRUCE, 1991; HALFTER et al., 1998 a, b; GÓMEZ-LÉCHON, 1999) (ANEXOS I e II).

Em 1976 foi demonstrado que as células de linfoma histiocítico tratadas com forbol – 12 – miristato – 13 – acetato (PMA) liberavam um polipeptídeo que inibia o seu próprio crescimento, induzindo a diferenciação celular e a expressão dos seus marcadores de superfície (SUNDSTROM e NILSSON, 1976).

Em 1986, durante as pesquisas dos fatores inibidores do crescimento tumoral, isolou-se um polipeptídeo que tem a propriedade de inibir o crescimento de células de melanoma e estimular o crescimento de fibroblastos, que foi chamado de Oncostatin M (ZARLING et al., 1986; BROWN et al., 1987).

Em consequência do estudo anterior, foi descrita a análise seqüencial e a clonagem da molécula de OSM, através de um *primer* de ácido desoxiribonucleico (DNA) para o seqüenciamento genômico, demonstrando que esta citocina é uma glicoproteína de baixo peso molecular 28 Kd, homólogo a família das citocinas hematopoiéticas da IL-6 (MALIK et al., 1989) .

Durante a sua investigação estrutural em 1991, a OSM foi localizada no locus gênico do cromossomo humano 22, apresentando a estrutura genômica de três éxons com duas junções íntrons – éxons (ROSE e BRUCE, 1991).

A OSM , LIF, IL-6 e G-CSF, além de pertencerem a mesma família de interleucinas, apresentam semelhante seqüência de aminoácidos, com interrupções nestas seqüências sempre em posições idênticas (ROSE e BRUCE, 1991).

O percentual de semelhança entre as seqüências de aminoácidos da OSM e do LIF é de 22%; devido a preservação do domínio α helicoidal, sugerindo estruturas similares entre estas duas moléculas (ROSE e BRUCE, 1991). Observa-se também, que a cadeia secundária da OSM é semelhante a cadeia secundária do hormônio do crescimento (GH), incluindo-o na extensa família das citocinas (KALLESTAD et al., 1991; GEARING et al., 1992 a, b).

O compartilhamento na organização dos éxons entre a OSM e o LIF, sugere que seus ancestrais genéticos sejam representados por um gen único e comum que sofreu duplicação no decorrer da evolução (BAZAN, 1990; ROSE e BRUCE, 1991; ROSE et al., 1993; GIOVANINNI et al., 1993 a; JEFREY et al., 1993).

A comprovação desta observação foi realizada através do mapeamento gênico da OSM e do LIF. A OSM está no locus gênico 22q12, na mesma banda citogenética que o LIF (ROSE et al., 1993; GIOVANINNI et al., 1993 a, b; JEFREY et al., 1993), estando separados por apenas 10 a 16 quilobase de material genômico (ROSE et al., 1993; GIOVANINNI et al., 1993 b).

A OSM é uma das citocinas que são expressas durante as reações inflamatórias e imunológicas mediadas pela interação leucócito-endotelial (GEARING et al., 1989; BROWN et al., 1991). A cascata inflamatória faz com que linfócitos T, macrófagos (BROWN et al., 1987; MALIK et al., 1989; BROWN et al., 1991; FIORELLI et al., 1995), células endoteliais humanas (BROWN et al., 1991), astrócitos (LIEBERMAN et al., 1989; KASZA et al., 2001), microglia (KORDULA et al., 1989; REPOVIC e BENVENISTE, 2002), fibroblastos humanos e monócitos (BROWN et al., 1991) produzam a OSM.

A redundância e o pleiotrofismo funcional entre as citocinas da mesma família é explicado pelo compartilhamento de receptores, envolvendo tanto a sub-unidade específica de citocinas quanto a unidade sinalizadora comum, a glicoproteína 130 (gp-130) (KISHIMOTO et al., 1995).

A OSM compartilha o receptor do LIF (receptor do tipo I) e tem o seu próprio receptor específico (receptor do tipo II). A OSM compartilha a sub-unidade transdutora de sinais, o gp-130, nos dois tipos de receptores para expressar as suas funções biológicas (LIU et al., 1992; GEARING et al., 1992 a, b; SPORENO et al., 1994; KISHIMOTO et al., 1994; 1995; HIBI et al., 1996; TAGA et al., 1997) (ANEXOS I e II).

O receptor tipo I da OSM, é representado pelo receptor do LIF (LIFR α), constituindo um complexo heterodimérico transdutor de sinais de alta afinidade para a OSM após a sua associação com a sub-unidade gp-130. Este compartilhamento de receptores entre o LIF e a OSM permite que a OSM expresse as mesmas funções biológicas demonstradas pelo LIF (LIU et al., 1992; GEARING et al., 1992 a, b; THOMA et al., 1994; KISHIMOTO et al., 1994; HIBI et al., 1996; MOSLEY et al., 1996).

O receptor do tipo II, é um receptor de sinalização específica para a OSM (OSMR β). A interação entre o receptor OSMR β e o gp-130 representa um sistema único, pois segundo LIU et al.(1992), MOSLEY et al. (1996) e TAGA et al. (1997), a gp-130 liga-se direta e especificamente a OSM, sendo um componente obrigatório para a sinalização desta citocina.

A intensidade da ação da OSM e sua especificidade é imposta pela distribuição tissular dos receptores (específicos e compartilhados), determinando as funções biológicas desta citocina (BROWDER et al., 1989; BAZAN et al., 1990; KISHIMOTO et al., 1992, 1994, 1995; MOSLEY et al., 1996).

Apesar de nenhum destes receptores LIFR e OSMR β possuírem um domínio de tirosino quinase, eles interagem e ativam a tirosino quinase intracitoplasmática (cujo componente mais comum são as Janus-quinases), após o ligante induzir a dimerização (LIU et al., 1992; GEARING et al., 1992 a, b; KISHIMOTO et al., 1992, 1994, 1995; MURAKAMI-MORI et al., 1995; MOSLEY et al., 1996; LEWIS, 2000).

TRANSDUÇÃO DE SINAIS

A transmissão de um sinal envolve a interação de um ligante extracelular com uma proteína transmembrana, que possui domínios em ambos os lados da membrana (extracelular e intracelular). A interação com o ligante, converte o receptor de uma forma

inativa para uma forma ativa. O princípio básico é que a interação com o ligante no lado extracelular, influencie a atividade do domínio do receptor no lado intracelular, permitindo a amplificação do sinal transduzido (LEWIS, 2001).

A OSM sinaliza através dos receptores LIFR e OSMR β (LIU et al., 1992; GEARING et al., 1992 a, b; SPORENO et al., 1994; MOSLEY et al., 1996). Após a dimerização dos receptores, ocorre a ativação das vias : Janus tirosino - quinase e das proteínas transdutoras de sinais e ativadoras da transcrição (JAK -STAT) e a via da proteína quinase ativada por mitógenos (MAPK) (BLANCHARD et al., 2001).

A ativação da via Janus tirosino-quinase promove a fosforilação dos resíduos intra citoplasmáticos de tirosina, criando um local para o *ancoramento* das seguintes proteínas transdutoras de sinais e ativadoras da transcrição (STAT) – STAT-1 , STAT- 3 e da STAT-5 (YOSHIMURA et al., 1995; STANCATO et al., 1997; BONNI et al., 1997; HALFTER et al., 1999; YANAGISAWA et al., 1999; HALFTER et al., 2000 a; VAN WAGONER et al., 2000; BLANCHARD et al., 2001, 2002).

STANCATO et al.(1997); HALFTER et al. (1998 a, 1999; 2000 a); VAN WAGONER et al. (2000); SCHAEFER et al. (2000); ZHANG et al.(2003) relacionam a STAT-3 como a via utilizada pela OSM para promover a inibição do crescimento tumoral . ZHANG et al., 2003 identificou que a OSM através da STAT-3 coordena a expressão dos seguintes genes reguladores do ciclo celular *c-myc*, ciclina D1, EBP delta e o p53 . BROMBERG et al. (1999) ressalta que a STAT-3 também pode se comportar como um oncogene .

A via quinase ativadas por mitógenos (MAPK) é também um mediador para a ação da OSM, pois converte para a forma ativa a STAT - 1 e a STAT –3 (HALFTER et al.,1999). A rota Ras / MAPK leva a ativação das :

- MEK (também chamada de MAP quinase-quinase (o seu nome reflete o fato de ser ela a quinase que fosforila e ativa uma MAP quinase) (LEWIS, 2000)
- ERK 1 / 2 (*extracelular sinal-regulated kinase*) (BOULTON, 1991).
- C – Jun – N – terminal proteína – quinase ativada pelo stress (JNK – SAPK) (DERIJARD et al., 1994).

Supõe-se que a via Ras / Raf /MEK/ MAPK controle a inibição do crescimento tumoral via ERK pois atuam na expressão do gene *c-myc*. (HIBI et al.,1996; LEWIS, 2000; LANGDON et al., 2003) .HALFTER et al. (1999,2000 a, b) demonstram que a OSM utiliza a via Ras/Raf/ERK2 para exercer sua função de inibição do crescimento tumoral.

HALFTER et al. (2000 a) demonstraram uma linhagem de células de GBM que não apresentou inibição do crescimento celular tumoral quando tratadas com OSM. Estes autores explicam tal fato como uma consequência da variação na intensidade da ação das proteínas Raf. MAGRANGEAS et al. (2003) relacionam a ação das proteínas moduladoras para a regularização da sinalização da via JAK-STAT como a causa da resistência tumoral ao uso da OSM. Estas proteínas são chamadas de proteínas supressoras da sinalização de citocinas (SOCS), sendo a expressão desregulada da SOCS-3 uma das causas da resistência tumoral à OSM .

AÇÃO PLEIOTRÓFICA DA ONCOSTATIN M

Promove a modulação do crescimento e a diferenciação de diversos tipos de células como:

- células da leucemia histiocítica em macrófagos (ZARLING et al., 1986; BRUCE et al., 1992),
- células precursoras do córtex cerebral em astrócitos (BONNI et al., 1997; YANAGISAWA et al., 1999; KASZA et al., 2001; STANKOFF et al., 2002),
- células endoteliais para células do Sarcoma de Kaposi (FIORELLI et al., 1995; MURAKAMI-MORI et al., 1995),
- estimula o crescimento de linhagens de células de fibroblastos (ZARLING et al., 1986),
- estimula a proliferação de linhagens de plasmocitomas (GÓMEZ-LÉCHON et al., 1999).

Inibe o crescimento de tumores humanos (RICHARDS et al., 1993) como melanomas (BROWN et al., 1987), tumor de mama (BROWN et al., 1991; SPENCER et al., 1997; DOUGLAS et al., 1998), Sarcoma de Kaposi (MILES et al., 1991) e câncer de próstata (GODOY et al., 1992).

A OSM diminui a expressão dos antígenos e com isso causaria a perda da atividade lítica dos linfócitos T contra o tumor autólogo (DURDA et al., 2003).

Promove a maturação dos hepatócitos e induz a funções hepáticas específicas como a produção de albumina, glicogênese e na expressão dos marcadores da glicose 6 fosfato (G6P) e de marcadores de hipercoagulabilidade como a TAT (MIYAJIMA et al., 2000; SUZUKI et al., 2003).

Aumenta a secreção de proteínas de fase aguda no fígado, sendo as principais a haptoglobulina, o fibrinogênio e a alfa-1-antiquimotripsina (ACT) (GÓMEZ-LECHON, 1999; KAMIYA et al., 1999; MIYAJIMA et al., 2000, MORGAN et al., 2001).

Induz a expressão do gene $\alpha - 1 -$ antitripsina (AAT) em células de hepatócitos (MORGAN et al., 2002) .

Estimula a produção de proteína C reativa e da proteína amilóide sérica A (GÓMEZ-LECHON, 1999; KAMIYA et al., 1999; MIYAJIMA et al., 2000).

Promove a inibição da atividade do citocromo P450 (GÓMEZ-LECHON, 1999).

Promove a biosíntese de fibrinogênio pelos hepatócitos (VASSE et al., 1999).

In vitro promove a destruição das cartilagens pela degradação do colágeno (HUI et al., 2003).

Inibe a decidualização de células endometriais humanas (TANAKA et al., 2003).

OSM inicia a espermatogênese no período fetal tardio e neonatal precoce (DeMIGUEL et al., 1997).

OSM estimula a produção do hormônio do crescimento (GH) e do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) nas células pituitárias fetais (SHIMON et al., 1997; HANISH et al., 2000).

Inibe a proliferação e a sobrevivência de neurônios sensoriais primários e reduz a viabilidade de células quiescentes mitóticas por indução da apoptose (ENSOLI et al., 1999).

Inibe a diferenciação de células tronco totipotentes (ROSE et al., 1994).

Previne a apoptose das células osteoclásticas (DAMIENS et al., 2000).

Promove o desenvolvimento de células hematopoiéticas e endoteliais por estimular seu precursor comum, os hemangioblastos, principalmente das moléculas de adesão endotelial das plaquetas (CD31⁺), a proteína ligante para a L-selectina (CD 34⁺), o antígeno leucocitário comum, que tem por função a transdução de sinais das vias tirosinoquinasas (CD 45⁺), e as proteínas tipo podocalixina (PCLP1⁺) (KAMIYA et al., 1999).

Regula a expressão do fator ativador do inibidor do plasminogênio PAI-1 através da via c-fos e do fator ativador do plasminogênio tipo uroquinase (uPA) nos astrócitos (KASZA et al., 2001, 2002; McFELDA et al., 2002).

Promove a migração de células endoteliais através da indução do sistema ativador do plasminogênio uroquinase (uPAR) (STRAND et al., 2000).

Induz a angiogênese e provoca a desestabilização, ruptura e trombose das placas associada a diminuição da fibrinólise nas células endoteliais, podendo estar envolvido na produção da aterosclerose (VASSE et al., 1999; MIRSHAHI et al., 2000).

Regula a produção da endotelina-1 (SAIJONMAAN et al., 1998).

Interage com outras citocinas como a interleucina – 1 (IL-1) (KNIGHT et al., 2001), interferon γ (IFN- γ) e com o fator de necrose tumoral (TNF) para estimular a liberação de prostaglandinas E2 (BROWN et al., 1987).

Estimula a síntese de IL-6 em células endoteliais e nos astrócitos pelo aumento dos níveis intracelulares do ácido ribonucleico mensageiro (RNAm) da IL-6 (BROWN et al., 1991; VAN WAGONER et al., 2000).

Inibe a produção do fator de necrose tumoral α (TNF- α), do fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF) e da interleucina-8 (IL-8) (WALLACE et al., 1999).

Regula o polimorfismo do gen α -1-antiquimotripsina (ACT) em astrócitos humanos (KORDULA et al., 1998; MORGAN et al., 2001).

Promove a indução das moléculas de adesão (P-selectina, E-selectina), do ICAM-1 (ligante induzido por citocinas) e do VCAM-1 (responsável pela adesão e ativação de células T promovida por células endoteliais, macrófagos, células dendríticas e estromais da medula) (MODUR et al., 1997).

Promove o desenvolvimento de células T CD4⁺ (LOUIS et al., 2003).

Regula o metabolismo da matriz extracelular e promove a *upregulation* da metaloproteinase- 9 (MMP-9) (NAGATA et al., 2003), e do inibidor tecidual de metaloproteinase – 1 (TIMP-1) (RICHARDS et al., 1993; SOHARA et al., 2002).

EFEITOS ADVERSOS DA ONCOSTATIN M

A expressão do OSM durante o desenvolvimento embrionário é deletéria, pois quando se injeta esta citocina nos embriões de ratos transgênicos , estes animais ao nascer apresentam as seguintes anormalidades : (MALIK et al., 1995)

- tremor crônico,
- ataxia ,
- fraqueza progressiva ,

- aumento grosseiro das extremidades distais secundário ao excessivo crescimento ósseo, principalmente no fêmur e nas falanges. O interior da medula óssea estava preenchido por osso imaturo e com depósitos de novo osso periosteal, com completa desorganização do sistema harvesiano,
- incapacidade de deglutição,
- ausência de espermatozoides maduros nos dutos epididimais e ausência de espermatozoides aparentes,
- queratinose severa,
- pancreatite, sem comprometimento funcional apesar da fibrose (nenhum dos animais demonstrou hiperglicemia)
- medula óssea, há estímulo para a produção de plaquetas e megacariócitos
- Timo: Em relação ao desenvolvimento das células T, estes animais desenvolveram um fenótipo com alterações significativas no tecido linfóide em desenvolvimento; com perda da sua citoarquitetura com conseqüente diminuição dos timócitos corticais CD4 e CD8, que foram substituídos por folículos contendo linfócitos B. A esplenomegalia foi secundária a linfoproliferação em nódulos linfóides.

As anormalidades de desenvolvimento relatadas com o uso da OSM já foram descritas com outras citocinas como o LIF e a IL-6 (BORISH et al., 1989; METCALF e GEARING, 1989; CAMPBELL et al., 1993, 1994; SHEN et al., 1994; BAMBER et al 1994).

Além destes estudos experimentais com embriões de ratos transgênicos, a OSM também já foi testada experimentalmente em humanos.

Em artigo único, demonstrando os possíveis efeitos da injeção subcutânea desta citocina em caráter experimental em seres humanos saudáveis, PALMISANO et al. (1999) descrevem que a injeção sub-cutânea da OSM em doses de : 0,3; 1,0; 3,0 e 7,5 mg/kg promovem os seguintes efeitos adversos:

- reação de hiperemia no local da injeção da droga,
- febre,
- cefaléia,

- mialgias,
- diaforese,
- calafrios e palidez.

Estes efeitos foram observados principalmente nas doses compreendidas entre 3,0 e 7,0 mg/kg após 4 a 6 horas da administração da citocina.

ONCOSTATIN M COMO MODIFICADOR DO PADRÃO FENOTÍPICO TUMORAL

Autores como LITCHOR et al. (1995) e GLICK et al. (1995) já descreveram o potencial de citocinas como o IFN- γ e a IL-2 no controle biológico de tumores em modelos experimentais e em protocolos imunoterápicos.

O potencial da OSM visando o controle biológico das neoplasias vem sendo amplamente demonstrado em modelos experimentais, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (SPENCER et al., 1997; DOUGLAS et al., 1998; SCHRELL et al., 1998; HALFTER et al., 1998 a, b, 1999; FRIEDRICH et al., 2001).

A inibição da atividade de crescimento de linhagens tumorais já foi descrita na literatura para diversos tipos de tumor como melanomas (ZARLING et al., 1986), câncer de mama (SPENCER et al., 1997; DOUGLAS et al., 1998), linfoma (ZARLING et al., 1986), GBM (HALFTER et al., 1998 a, b; 1999, 2000 a; FRIEDRICH et al., 2001), câncer de bexiga (SCHRELL et al., 1998), meningiomas (SCHRELL et al., 1998) e adenomas hipofisários (HANISCH et al., 2000).

Em artigo único, demonstrando a expressão da OSM como inibidor da proliferação celular e modificador do padrão fenotípico tumoral em GBM, FRIEDRICH et al. (2001) demonstram em experimentação animal com camundongos *nude*, a completa reversão fenotípica das linhagens de células de GBM para células com padrão astrocítico maduro.

O objetivo principal do trabalho de FRIEDRICH et al. (2001) era testar o potencial anti-tumorigênico da OSM utilizando um modelo animal para observar *in vivo* a ação anti-proliferativa da OSM.

As linhagens de células de GBM, foram geradas para que expressassem a produção de OSM espontaneamente. Para obter o controle da produção da OSM, esta mesma linhagem de células, recebeu um vetor celular chamado “*tetraciclina - off*” (TET-off) (ANEXO 4). Este vetor “TET-off” *não* permite a produção de OSM na presença de tetraciclina.

Os animais foram divididos em 2 grupos, os chamados “TET +” e os “TET -”. Os animais “TET +” receberam por via oral tetraciclina, com a consequente *supressão* da expressão da OSM e os “TET -” *não* receberam a tetraciclina, logo expressando a produção de OSM.

Os achados encontrados após 4 semanas no grupo “TET +” foram : a presença de déficit neurológico, perda de peso, apatia e na análise histopatológica demonstraram nódulos tumorais. O grupo “TET -” apresentou normalidade clínica e a análise histopatológica *não demonstrou* nenhum sinal de formação tumoral.

FRIEDRICH et al. (2001) comprovaram que os efeitos anti- tumorigênicos da OSM em modelo animal, foram similares aos efeitos *in vitro*, já demonstrados na literatura médica para o controle de GBM por autores como HALFTER et al. (1998 a, b ; 1999, 2000 a, b) e por ZHANG et al. (2003) .

Outros tumores do SNC, também já foram testados visando a ação anti-proliferativa desta citocina. Destacaremos o artigo único do uso da OSM em linhagens de células meningiomas descrito por SCHRELL et al. (1998) e o artigo de HANISCH et al. (2000) em linhagem de adenomas pituitários.

O modo pelo qual o OSM promove a inibição do crescimento celular ainda não foi claramente descrito pela literatura médica. Os artigos encontrados até o presente momento relacionam a ação modificadora do fenótipo tumoral e a ação anti-proliferativa da OSM com a ação dos genes que controlam o ciclo celular.

A literatura demonstra que as ações da OSM ocorrem pela diminuição da regulação dos genes c-myc , c-onc e c-fos (YOSHIMURA et al 1996; SPENCE et al., 1997; HALFTER et al., 1998 a, b; DOUGLAS et al., 1998; OBERG et al., 2001; LI et al,2001; KASZA et al., 2002).

A diminuição da regulação do gen c-myc manteria as células na fase G1 do ciclo celular, sugerindo que a OSM bloqueie a progressão no ciclo celular antes da fase S (SPENCE et al., 1997; DOUGLAS et al., 1998).

O efeito da modificação fenotípica é descrito como dependente da concentração da citocina OSM, sendo a concentração ideal para tal efeito de 20 ng/ml nas culturas *in vitro* onde se observam as alterações morfológicas após 24 horas da introdução da citocina (HALFTER et al ., 1998 a ,b)

Espera-se que em um futuro próximo ocorra um maior entendimento sobre a maneira pela qual a OSM demonstra a expressão de suas funções biológicas, permitindo deste modo, a melhor compreensão dos mecanismos de ação desta citocina.



OBJETIVOS

Essa monografia tem por objetivo geral, reunir a experiência mundial através da revisão bibliográfica com a citocina oncostatin m (OSM), pois devido a dispersão de informações na literatura sobre a OSM , propõe-se a organizar os conhecimentos em relação a OSM e as suas diversas ações biológicas, principalmente aquelas relacionadas com a modificação da morfologia tumoral . Propõe também, o estudo da neoangiogênese tumoral relacionada com a ciclo-oxigenase 2.

Os objetivos específicos visam a organização das evidências favoráveis destas moléculas e de seus indutores, visa também o estudo da OSM em ação sinérgica com os inibidores da ciclo-oxigenase 2 (COX-2) e com os inibidores da angiogênese para conduzir a possibilidade de criação de um possível protocolo terapêutico



GLIOBLASTOMA MULTIFORME

A classificação da *World Health Organization* (WHO) para tumores de linhagem astrocitária faz-se na seguinte ordem: (KLEIHUES e CAVENEE, 2000).

- Astrocitoma difuso
- Astrocitoma fibrilar
- Astrocitoma protoplasmático
- Astrocitoma gemistocítico
- Astrocitoma anaplásico
- Glioblastoma

Glioblastoma de células gigantes

Gliosarcoma

- Astrocitoma pilocítico
- Astrocitoma pleomórfico
- Xantoastrocitoma pleomórfico
- Astrocitoma subependimal de células gigantes

Dentro os sub-tipos de tumores astrocíticos o Glioblastoma Multiforme (GBM) é considerado o tumor maligno primário de maior incidência e de maior malignidade. Segundo a classificação WHO, o GBM é enquadrado como um tumor de grau IV (KLEIHUES e CAVENEE, 2000).

Os GBM que se iniciam a partir da quinta década de vida, são chamados de GBM primários apresentando clinicamente maior agressividade e rápida evolução; já os GBM secundários ocorrem em crianças e jovens até a quarta década e são tumores decorrentes da transformação dos astrocitomas de baixo grau de malignidade (DEANGELIS, 2001).

Os GBM podem estar associados à neurofibromatose tipo I e II, à síndrome de Li-Fraumeni e a síndrome de Turcot. Existem famílias portadoras desta neoplasia, embora sem constituir uma síndrome genética determinada (MARTUZA e ELDRIGRE, 1988; DEANGELIS, 2001) .

LOUIS et al. (1993), LOUIS (1994, 1997) e LOUIS et al.(2001) propõem um modelo genético-molecular para definir estes tumores. Estes autores descrevem que os GBM podem apresentar:

- inativação dos gens supressores tumorais no cromossomo 10 ,
- perdas no cromossomo 17p,
- amplificação do receptor do fator de crescimento endotelial (EGFR),
- inativação do p53,
- ativação do sistema receptor do fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF),
- mutação e deleções em homozigose no gene supressor tumoral p16, também conhecido por CDKN2 (o gene CDKN codifica uma proteína de 16 KDA que inibe as enzimas quinases dependentes CDK4 e CDK6),
- mutações no gene homólogo do fosfato - tensina (PTEN).

Os achados acima descritos já foram corroborados por diversos autores como: LIBERMANN et al., 1985; WONG et al 1987; BIGNER et al., 1988; JAROS et al., 1992; BARBARESCHI et al., 1992; ELLISON et al., 1992; LANG et al., 1994; CHOZICK et al., 1994; ELLISON et al., 1995; HERMANSON et al., 1996; KIMMELMAN et al., 1996; WATANABE et al., 1996; CHATTOPADHYAY et al., 1997; LIU et al., 1997; BIERNAT et al., 1997 a, b; NAKAMURA et al., 1997; DUERR et al., 1998; MAIER et al., 1998; SIMONS et al., 1999; NAKAMURA et al., 2000; FUJISAWA et al., 2000, KLEIHUES e CAVENEE, 2000; BURGER et al, 2001; BIRNER et al., 2003 (anexo III).

Em relação a sua evolução clínica os GBM podem se infiltrar pelas fibras dos tratos compactos e acometer ambos os hemisférios recebendo o nome de "glioblastoma em asa de borboleta". Em geral a distribuição de suas células neoplásicas tem a tendência de se espalhar por fibras de trato compacto como o corpo caloso, radiação óptica, comissura anterior, fórnix e região sub-ependimal. Esta disseminação sublinha um pobre prognóstico visto que a extensão por sobre estas estruturas produz um complexo tumoral tridimensional de contornos imprecisos dificultando sua abordagem terapêutica. Devido ao grau de infiltração tumoral com a agregação de células nos espaços sub-piais e perivascularares, ocorre a chamada "satelitose" neuronal (FULLER e BURGER, 1996; DeANGELIS, 2001).

Os sintomas clínicos evidenciam um déficit neurológico focal que se deve ao efeito de massa e pela destruição do parênquima adjacente, sendo que em alguns casos a hemorragia pode inaugurar os sintomas. Ressalta-se que a alteração do estado mental, a cefaléia e o déficit motor são os sintomas de maior relato nos GBM (DeANGELIS, 2001). A progressão da neoplasia necessita de acompanhamento neuroradiológico, com a ressonância magnética para a triagem das evoluções sendo superior a tomografia e ao exame clínico para demonstrar a progressão tumoral (GALANIS et al., 2000).

A importância da correta classificação histológica dos GBM tem implicações prognósticas e terapêuticas. A caracterização de todas as variações deste tumor é uma tarefa laboriosa, pois a precisão diagnóstica na graduação histopatológica varia com a experiência do observador e diversas classificações vêm sendo propostas baseadas nos seguintes caracteres: tamanho dos núcleos, contagem de mitoses, frações de células endoteliais, presença de necrose e nos índices de amostragem Ki-67 e MIB-1 (KRAUS et al., 2000; SALLINEM et al., 2000).

A imunohistoquímica vem se delineando como o padrão ouro para a caracterização dos GBM. Utilizando-se para tal finalidade a proteína glio-ácido-fibrilar, a vimetina, a proteína S-100, a citoqueratina e o fator de crescimento endotelial (BURGER E SCHEITHAUER, 1993).

Na avaliação dos GBM destaca-se a análise dos índices de proliferação, que são avaliadas pela proteína Ki-67 (índice de amostragem), pelo MIB-1, na avaliação do antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA), da expressão do receptor do fator de crescimento endotelial (EGFR), da expressão da oncoproteína murina dobrada minuto 2 (MDM2) e pelo p53 (BARBARESCHI et al., 1992; LOUIS et al., 1993; REVESV et al., 1993; CHOZICK et al., 1994; CUNNINGHAM et al.,1997).

Atualmente, outros marcadores moleculares têm demonstrado ampla importância para a melhor definição dos GBM. Destacaremos os principais marcadores, que visam não apenas a classificação molecular mas que também traçam alguma relação prognóstica com a sua evolução (MISCHEL et al., 2003), como a atividade da telomerase que demonstra níveis elevados nos GBM secundários e a expressão do hTERT, que se correlaciona com a mutação do p53, demonstrando sua intrínseca ação na carcinogênese destes tumores (HARADA et al., 2000; CHORNY et al., 2000).

Apesar de todos esforços visando a classificação dos GBM, não há até o presente momento uma definição uniforme para estes tumores devido a pobre relação entre a evolução clínica e a classificação histopatológica tradicional.

Os parâmetros moleculares de classificação tumoral surgem como uma esperança para que ocorra uma maior correlação entre os achados histopatológicos e o manejo terapêutico destes tumores. Acredita-se que a classificação genético-molecular dos GBM, em um futuro próximo, criará subsídios para protocolos terapêuticos diferenciados na abordagem desta neoplasia (INO et al., 2000; LOUIS et al., 2001).

Os tratamentos dispostos atualmente para os GBM são frustrantes. A citoredução cirúrgica seguida de radioterapia e quimioterapia promove temporariamente a quiescência tumoral. Entretanto, a reicidiva tumoral é freqüente e a reabordagem cirúrgica muitas vezes se faz de modo repetitivo.

A sobrevida média para os portadores desta neoplasia é de doze meses, quando todas as modalidades terapêuticas vigentes são utilizadas.



**A EXPRESSÃO DA CICLO-OXIGENASE-2
NA TUMORIGÊNESE DOS
GLIOBLASTOMAS**

As ciclo-oxigenases são enzimas responsáveis pela catalisação e conversão de ácido araquidônico em prostaglandinas H_2 e prostaglandinas G_2 as quais são subsequentemente convertidas em prostaglandinas E_2 , prostaglandinas D_2 , prostaglandinas $F_2\alpha$, prostaglandinas I_2 e tromboxane A (TXA) (NARUMYIA et al., 1999).

Duas isoformas de cicloxigenase (COX) são reconhecidas (KUJUBU et al., 1991; DUBOIS et al., 1994; PAIRET et al., 1996) :

COX-1: está envolvida na homeostase de tecidos normais como na regulação da função renal e com a secreção do muco gástrico (WILLIAMS et al., 1997). Seu gen se localiza no cromossomo 9q32-q33.3 (FOSSLIN, 2000 a, b); está presente no retículo endoplasmático e quando expressa no núcleo celular, associa-se a formação de tumores agressivos nos camundongos *nude* (FOSSLIN, 2000 a, b)

COX-2: É uma enzima indutível, expressa por macrófagos ativados e fibroblastos (WILLIAMS et al., 1997). Localiza-se no locus cromossômico 1q25.2-q25.3, que se encontra no envelope nuclear das células e tem sua expressão aumentada em condições inflamatórias e tumorais (TSUJII et al., 1997; WILLIAMS et al., 2000; LIU et al., 2001; SHONO et al., 2001; PRAYSON et al., 2002). O aumento da expressão da COX-2 nos tecidos tumorais está envolvido com a carcinogênese e a metastatização (TSUJII et al., 1997; FOSSLIN, 2000 a, b; JOKI et al., 2000; BING et al., 2001; LIU et al., 2001; PRAYSON et al., 2002).

Existem fatores que promovem a expressão e a inibição da COX-2. Entre os fatores que promovem a expressão da COX-2 encontramos: Fator crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento transformador ($TGF-\beta$), Rous sarcoma vírus, com a enzima sintase indutora do óxido nítrico (iNOS), benzopirenose e os andrógenos. Para o efeito carcinogênico os fatores mais importantes são: fator de crescimento epidermal, fator de crescimento transformador- β e a sintase indutora do óxido nítrico (FOSSLIN, 2000 a, b).

Entre os fatores que promovem a inibição da COX-2 encontram-se a dexametasona, p53, óleo de peixe altamente insaturado, estrógenos e os anti-oxidantes (PDTC, trolox, U74006) (FOSSLIN, 2000 a, b).

A COX-2 promove a carcinogênese por contribuir com a formação da neoangiogênese tumoral através do seu produto, a PGE2 (MASFERRER et al., 2000; BING et al., 2001). Sabe-se que a PGE2 induz a proliferação celular e a síntese do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (WILLIAMS et al., 2000; FOSSLIN, 2001; NABORS et al., 2001).

A COX-2 promove metastatização e a invasão tumoral através da degradação da matriz extra celular pela ação aumentada das metaloproteinases (FOSSLIN, 2000 a, b).

Já foi descrito que os tumores que expressam a COX-2 apresentam um comportamento de maior agressividade pela inibição da apoptose, pelo favorecimento da angiogênese tumoral e pela maior capacidade de invasão e metastatização no hospedeiro (DEININGER et al., 1999; JOKI et al., 2000; NABORS et al., 2001; SHONO et al., 2001; PRAYSON et al., 2002).

LIU et al., (2001) e FOSSLIN, (2000 a, b) demonstraram que tumores expressando COX-2 têm níveis reduzidos das proteínas pro-apoptóticas, como a BAX e BCL-XI e aumento da proteína anti-apoptótica BCL-2. A função da BCL-2 é de fechar os poros mitocondriais e desta forma promover a diminuição da apoptose (FOSSLIN, 2000 a, b).

A ação das drogas inibidoras da ciclo-oxigenase 2 (COX-2) como controladores do crescimento tumoral seria promover a abertura dos poros mitocondriais e restaurar a apoptose, através da diminuição da expressão da proteína BCL-2, e com o auxílio da proteína BAX promoveria a redução da mitogênese e da angiogênese (FOSSLIN, 2000 a, b).

Atualmente o uso dos COX-2 visando o bloqueio da angiogênese tumoral é bastante estudado (TSUJII et al., 1997; JONES et al., 1999; JACOBY et al., 2000; KING et al., 2001; RAZ, 2002).

Sabe-se também que os COX-2 promovem uma diminuição na tumorigênese com o decréscimo nos níveis de interleucina – 10 (IL-10) e o restauro da produção da interleucina – 12 (IL-12) (STOLINA et al., 2000; HARIZI et al., 2002).

A importância da IL-10 se faz por favorecer o crescimento tumoral (SALAZAR et al., 1995; ZHU et al., 2003), ao contrário da IL-12 que tem efeito anti-tumoral (BRUNDA et al., 1993). Sabe-se que a IL-10 promove um efeito inibitório na liberação de citocinas pelos macrófagos assim como a IL-1, IL-6, TNF- α e o IFN- γ (FIORENTINOI et al., 1991).

A função da IL-10 é de inibir a apresentação do antígeno aos linfócitos T citolíticos tumorais, promovendo alterações na imunidade do hospedeiro as custas da diminuição ao acesso aos peptídeos do complexo de histocompatibilidade principal classe I (MHC I). A IL-10 também diminui a sensibilidade dos linfócitos T citolíticos e aumenta a sensibilidade das células matadoras naturais (NK) (SALAZAR et al., 1995).

O tratamento de células tumorais com os ICOX-2 promove a diminuição nos níveis de PGE2 e de IL-10 e o aumento na produção de IL-12, aumentando assim a resposta imune do hospedeiro tumoral (HARIZI et al., 2002).

A expressão aumentada da COX-2 em GBM já foi relatada (PRAYSON et al., 2002; JOKI et al., 2000). Estes autores demonstram que quando existe um alto percentual de células expressando a COX-2 se observa um pobre prognóstico em pacientes com tumores astrocíticos; embora não haja correlação deste achado com os demais marcadores moleculares de agressividade tumoral (SHONO et al., 2001). Sabe-se que os GBM podem ter a amplificação da expressão do fator de crescimento endotelial (EGF) (LOUIS, 1994, 1997; LOUIS et al., 1993, 2001) e da proteína p53 (ELLISON et al., 1992; BARBARESCHI et al., 1992; CHOZICK et al., 1994; ELLISON et al., 1995; BIERNAT et al., 1997 a, b).

Já foi descrito que a proteína supressora tumoral p53 inibe a ação da COX-2 (SUBBARAMAIAH et al., 1999). Recentemente, KING et al., (2001) demonstraram que o uso do anti-inflamatório ICOX-2, o *flurbiprofen*, promove aumento nos níveis da proteína p53 em cultura de células de GBM.

O mecanismo celular pelo qual as drogas ICOX-2 agiriam é baseado no modelo da droga *flurbiprofen*, demonstrando que os anti-inflamatórios inibidores específicos da COX-2 atuam diminuindo os níveis de controle da ciclina B promovendo a lenta progressão das células da fase G1 para S e de S para G2 (KING et al., 2001).

Com o conhecimento destas informações traçamos um correlato entre o uso combinado da molécula OSM e os ICOX-2.

Recentemente REPOVIC e BENVENISTE, (2002) demonstraram que a OSM é produzida na presença de PGE-2. Com isso, o uso combinado destas moléculas poderão vir a ser utilizados visando a obtenção dos efeitos benéficos da OSM, dos ICOX-2 e das drogas inibidoras do VEGF .

O efeito mais importante da OSM é a obtenção da modificação do fenótipo tumoral e o efeito anti-proliferativo. O uso dos ICOX-2 e dos inibidores do VEGF, bloqueariam a ação da expressão elevada da COX-2 e a ação neoangiogênica, obtendo assim o controle sobre a neoplasia.



***DO USO COMBINADO DOS INIBIDORES DA
CICLO-OXIGENASE 2 E DA ONCOSTATIN M :
PERSPECTIVAS DE UM TRATAMENTO
FUTURO***

A OSM tem por função no SNC promover o estímulo da produção de IL-6 e de α 1-antiquimotripsina (VANWAGONER et al., 2000; KORDULA et al., 1998) e está relacionada com a diferenciação dos astrócitos (YANAGISAWA et al., 1999) e com a apoptose neuronal na Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) (ENSOLI et al 1999) .

A OSM modula a expressão dos genes envolvidos no controle do ciclo celular como o c-myc, c-fos e c-onc (SPENCE et al., 1997; DOUGLAS et al., 1998; HALFTER et al., 1998 a, b, 1999). A função anti-proliferativa e modificadora do fenótipo em tumores do SNC já foi descrita por HALFTER et al. (1998 a, b, 1999 , 2000 a, b), SCHRELL et al. (1998) e por HANISH et al. (2000).

A OSM é produzida principalmente por macrófagos e no SNC pela microglia. A produção de OSM na microglia é induzida pela prostaglandina E 2 (PGE 2), que é a prostaglandina mais abundante no SNC (REPOVIC E BENEVISTE, 2002).

A produção de OSM no SNC, também depende das citocinas IL-1 β (interleucina -1 β) e TNF α (fator de necrose tumoral α) (YAMAGATA et al., 2001; VEGETO et al., 2001). Os astrócitos quando estimulados por estas citocinas (IL-1 β e o TNF α) promovem a produção da PGE2, que por sua vez induz a síntese de OSM na microglia (REPOVIC e BENEVISTE, 2002) e segundo REPOVIC e BENVENISTE. (2003) a ação conjunta da IL-1 β com a OSM, leva a *upregulation* do genes da COX-2 .

A importância da COX-2 e da PGE 2 para o comportamento maligno das neoplasias já foi descrita por diversos autores (SATO et al., 1997; FOSSLIEN, 2000 b; MASFERRER et al., 2000; FOSSLIEN, 2001).

A PGE2 através de seus receptores, promove a facilitação ou inibição da expressão de algumas citocinas. As citocinas que apresentam a sua produção reduzida pela PGE2 são o INF- γ , IL-2 (TILLEY et al., 2001), o TNF- α e a IL-12 (NATARAJ et al., 2001, HARIZI et al., 2002). Estas citocinas estão diretamente relacionadas com a cascata inflamatória, e propiciam a expressão das moléculas de histocompatibilidade classe II (NATARAJ et al., 2001).

A PGE 2 pode aumentar a liberação de IL-4, IL-5 (NATARAJ et al., 2001) sendo também um potente indutor da IL-10 (HARIZI et al., 2002), IL-6 (WILLIAMS e SCHACTER, 1997; FOSSLIEN, 2000 a, b) e da OSM (REPOVIC e BENVENISTE, 2002).

Os macrófagos têm um importante papel na mediação dos efeitos da PGE2 porque expressam a COX-2 (WILLIAMS e SCHACTER, 1997). Estas células possuem 3 tipos de receptores da PGE2, o EP2, EP3 e o EP4 (TILLEY et al., 2001). Destacaremos nesta dissertação a ação dos receptores EP2 e EP4, pois eles promovem ações distintas na regulação da resposta imune mediadas pelas PGE2 através do controle de citocinas (NARUMYIA et al., 1999; TILLEY et al., 2001).

O receptor EP2 é um importante mediador da ação inibitória da PGE2 (NATARAJ et al., 2001), estes receptores também modulam a ação de células B e T (FEDYK et al., 1996; ROCCA et al., 1999 a, b; TILLEY et al., 2001) e são relacionados com a inibição da diferenciação e com a diminuição da função das células dendríticas, promovendo a imunodeficiência do hospedeiro tumoral (YANG et al., 2003). Os receptores EP4 promovem a inibição da liberação de citocinas como a IL-1, IL-6 e TNF- α (FEDYK et al., 1996; ROCCA et al., 1999 a, b).

A proposta desta monografia é o uso combinado da OSM e de seus indutores com as drogas que inibem a PGE2 – os inibidores da ciclo-oxigenase 2 (ICOX-2) e os inibidores do fator de crescimento vascular endotelial (IVEGF).

Sabendo-se que nos GBM, o aumento da expressão da COX-2 está relacionada com a neovascularização tumoral, carcinogênese e a metastatização (JOKI et al., 2000; PRAYSON et al., 2002), o uso de ICOX-2 e IVEGF, promoveriam o controle destes aspectos patofisiológicos dos tumores.

A OSM, tem sua ação diretamente ligada aos genes que promovem a regulação do ciclo celular, promovendo a reversão do padrão fenotípico, de células tumorais para células com características de astrócitos (HALFTER et al 1998 a, b; 1999, 2000 a, b; FRIEDRICH et al 2001).

Porém, apesar do efeito modificador do aspecto das células tumorais, ressalta-se a sua propriedade angiogênica descrita por VASSE et al. (1999), PORTAU et al. (1999) e MIRSHAHI et al. (2000) que poderia obscurecer os efeitos benéficos já relatados, principalmente quando se observa a intermediação entre a OSM e a IL-1 (PORTAU et al., 1999).

HALFTER et al. (2000 b) descreveram que alguns tipos de GBM não apresentaram a reversão fenotípica esperada quando tratados com a OSM. Estes autores sugerem que tais dados ocorram por diferentes níveis de ativação na transdução dos sinais via Raf quinase e na intensidade da ação desta sinalização. SONODA et al. (2003), demonstraram que é necessário alguns fatores para a determinação do comportamento maligno dos GBM, ressaltando o bloqueio da trombospondina-1 (TSP-1) quando associado a maior expressão do VEGF (FOSSLIEN, 2000) e do TGF- β (KAWATAKI et al., 2000) .

Antevendo tal situação o possível protocolo de uso futuro desta citocina deverá dispor de amostras de células tumorais coletadas no ato cirúrgico prévio ao início do tratamento com a OSM para se obter uma linhagem celular tumoral para cada caso estudado, tal fato definiria as características do comportamento celular neoplásico a ser investigado.

Após o estabelecimento desta cultura de células tumorais, seria introduzida a OSM para a observação de sua ação *in vitro*. Caso se observasse as modificações do aspecto histológico da cultura de células tumorais para astrócitos, seria indicada a sua aplicação.

Propõem-se a administração da OSM através das seguintes vias:

- Intravenosa , em bomba de infusão,
- Diretamente no leito cirúrgico, na vigência das reabordagens, devido ao já estabelecimento da possível resposta do tumor a OSM.

A OSM seria administrada a cada 12 (doze) horas na dose mínima de 0,3 até a dose máxima de 7,5 mg/kg, conforme publicado por PALMISANO et al. (1999). O período de 12 horas de intervalo foi escolhido pois segundo HALFTER et al. (1998) e

FRIEDRICH et al. (2001), é necessário um intervalo de 24 horas para se observar a ação desta citocina *in vitro*. Este esquema terapêutico seria mantido por 3 a 6 semanas, com intervalos de sete dias, na dependência à tolerância clínica.

Os efeitos adversos da OSM já descritos após a inoculação sub-cutânea são febre, cefaléia, mialgias, diaforese e palidez (PALMISANO et al., 1999).

O uso dos ICOX-2 já foi amplamente assegurado para finalidade de controle álgico pelo FDA (Food and Drug Administration), dentre os ICOX-2 destaca-se o celecoxib na dose de 400mg/d, para o controle de lesões pré-cancerosas (FOSSLIEN 2000 b, 2001). Autores como JOKI et al. (2000) já demonstraram esta ação *in vitro* para GBM, além dos trabalhos de JONES et al. (1999) e MASFERRER et al. (2000).

A administração dos ICOX-2 poderia ser iniciada no pós-operatório imediato, quer por via oral (celecoxib e rofecoxib), quer por via injetável (valdecoxib) e mantida durante o advento das demais terapias complementares. Os efeitos destas drogas já foram amplamente descritos e encontram-se em seus bulários. Por serem drogas que atravessam a barreira hemato-encefálica, excluiriam-se tais medidas, visto que o próprio tumor já promove esta quebra de barreira.

Devido a possibilidade dos ICOX-2 promoverem a inibição da síntese de OSM, pelo bloqueio da PGE 2, combinar-se-iam ou poderiam ser associadas outras moléculas indutoras da síntese de OSM, como o fator estimulador do crescimento de colônias de macrófagos (GM-CSF) (GRENIER et al., 1999), a gonadotrofina coriônica humana (hCG) (KOMOROWSKI et al., 1997) e os agentes farmacológicos como a cisplatina e o PMA (acetato de forbol-miristato) (MESTRE et al., 1997; SODHI et al., 1997). Estas já são moléculas usadas para outros fins e de amplo conhecimento de suas ações farmacológicas.

Os casos a serem escolhidos para este possível protocolo deverão apresentar as seguintes características:

- Não apresentaram resposta às terapias clássicas previamente instituídas,
- tumores hemisféricos ou biemisféricos, com elevada densidade vascular quantificada por ressonância magnética, de acordo com os critérios expostos por TURETSCHKE et al. (2001),

- Apresentarem espécimens tumorais cultivados em laboratório,
- Adultos maiores de 21 anos, sem qualquer outra patologia associada, após a assinatura e entendimento do consentimento informado onde será relatado que este é um estudo experimental de acordo com as orientações do Comitê de Ética da instituição onde for aplicado.

Na vigência da identificação destes dados positivos, seria indicado a introdução da terapia combinada, com o uso de ICOX-2 e OSM ou OSM e inibidor do VEGF, ou com as moléculas indutoras da síntese de OSM.

Como controle da evolução deste tratamento propõem-se a realização da ressonância magnética com contraste dinâmico para identificar uma possível resposta a terapia combinada, conforme proposto por GOSSMAN et al. (2002) para a avaliação da terapia anti-angiogênica.

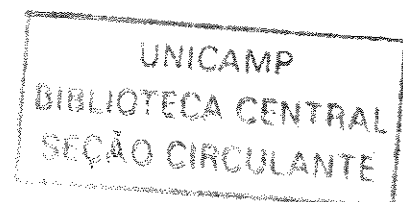
Esta abordagem terapêutica será proposta futuramente, visto que num primeiro momento adquiriu-se conhecimentos sobre a molécula OSM, seus efeitos benéficos e adversos, assim como seu possível uso combinado de acordo com os dados atuais de fisiopatologia tumoral do GBM.

Do ponto de vista molecular está se delineando um possível protocolo para o tratamento de tão difícil neoplasia, pois o bloqueio dos receptores EP2 e EP4 nos fornece um caminho para o manejo destes tumores. Em um futuro próximo o desenvolvimento de drogas antagonistas-seletivas dos receptores EP2 terão o potencial de melhorar a imunidade do hospedeiro contra os tumores e provavelmente serão mais específicos que os ICOX-2 no controle do crescimento tumoral (FEDIK et al., 1996; YANG et al., 2003) .

A orquestração entre o uso de citocinas e das moléculas promotoras de sua síntese, combinadas ao uso das drogas anti-angiogênicas, poderão promover a criação de protocolos terapêuticos que começam a ser delineados no presente (ZLOKOVIC e APUZZO, 1997), como é a proposta deste estudo.



CONCLUSÃO



A proposta desta dissertação foi promover o conhecimento sobre a molécula OSM, agregando as informações dispersas na literatura sobre suas ações biológicas, com especial destaque à sua função anti-proliferativa e modificadora do fenótipo tumoral.

O principal foco de interesse nos GBM foi devido ao caráter recrudescente e maligno desta neoplasia que desafia as diversas modalidades terapêuticas do momento.

O vislumbre da possibilidade da criação de um futuro protocolo terapêutico utilizando os efeitos anti-proliferativos e modificadores do fenótipo tumoral da citocina OSM visando o controle biológico dos GBM nos levou a pesquisar as diversas interações entre a molécula OSM e a tumorigênese dos gliomas, para posterior aplicação prática.

Dentre os fatores de maior inter-relação com a progressão tumoral, destacam-se a expressão da ciclo-oxigenase 2 com a angiogênese tumoral e a orquestração das citocinas necessárias ao desenvolvimento da cascata inflamatória que promove a imunodeficiência do hospedeiro tumoral.

A associação entre as moléculas Oncostatin M e Inibidores da Ciclo -oxigenase-2, resultaria em eventos favoráveis como:

Ao Inibir a COX-2 obtemos :

- Proteção da matriz celular,
- Inibição da angiogênese,
- Diminuição de IL- 10,
- Restauo da IL-12,
- Promoção da manutenção da apoptose.

Ao utilizar-se da OSM obtemos a reversão do fenótipo tumoral e a inibição da proliferação celular. A angiogênese induzida pela OSM poderia ser reduzida pelo efeito anti-angiogênico dos ICox-2, para a obtenção deste efeito pode se utilizar as drogas inibidoras do VEGF.

Como se verifica o efeito mais importante da OSM é a obtenção da modificação do fenótipo tumoral e o efeito anti -proliferativo. O uso dos ICOX-2 e dos inibidores do VEGF poderiam inibir a ação neoangiogênica e provavelmente estas ações combinadas resultariam em um maior controle sobre a neoplasia.

Estas informações nos permitiram inquirir sobre o uso combinado da OSM com outras moléculas que promovam o bloqueio da angiogênese tumoral e estimulem a apoptose, como os inibidores do VEGF (IVEGF) e os inibidores da COX-2 (ICOX-2) .

Logo a terapia combinada promoveria o efeito anti-angiogênico e pró-apoptótico pelo uso dos ICOX-2 e IVEGF somado ao efeito modificador do fenótipo tumoral dado pela OSM e por suas moléculas indutoras.

Os achados da literatura apontam para uma possível ação sinérgicas entre estes 3 grupos de moléculas, possibilitando ações biológicas somatórias, que no total , proporcionariam ao estado de latência tumoral dos GBM.

Desta forma, o uso combinado da OSM pode ser uma vertente interessante de estudos para protocolos de tratamentos a ser avaliada em controle tumoral, sobretudo para os Glioblastoma Multiforme.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, K. A .; LICHTMAN, H. A .; POBER, S. J. Citocinas, In: ABBAS, K. A . (ed), **Imunologia celular & molecular**. Rio de Janeiro : Revinter, 2000. p.233- 414 .
- BAMBER, B.A.; MASTERS, B.; HOYLER, G.W.; BRINSTER, R.L.; PALMITER, R.D..Leukemia inhibitory factor induces neurotransmitter switching in transgenic mice. **Proc Natl Acad Sci USA**, 91 : 7839-43, 1994.
- BARBARESCHI, M.; IUZZOLINO,P.; PENNELLA, A .; ALLEGGRANZA, A .; ARRIGONI,G.; PALMA, D.P. et al . p 53 protein expression in central nervous system neoplasias. **J Clin Pathol**, 45: 583-6, 1992.
- BAZAN, F. J. Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. **Proc Acad Natl Sci USA**, 87 : 6934-38, 1990.
- BENVENISTE, E. N.Inflammmatory cytokines within the central nervous system:sources, functions and mechanism of action.**Am J Physiol**, 263 (1Pt) : C1-16, 1992.
- BIERNAT, W.; TOHMA, Y.; YONEKAWA, Y.; KLEIHUES, P.; OHGAKI, H. Alteration of cell cycle regulatory genes in primary glioblastomas (de novo) and secondary glioblastomas. **Acta Neuropathol (Berl)**, 94 : 303- 9, 1997 a.
- BIERNAT, W.; KLEIHUES, P.; YONEKAWA, Y.; OHGAKI, H. Amplification and overexpression of MDM2 in primary (de novo) glioblastomas. **J Neuropathol Exp Neurol**, 56 : 180-5, 1997 b.
- BIGNER, S. H.; MARK, J.; BURGER, P. C.; MAHALEY, M. S. Jr.; BULLARD, D. E.; MUHLBAIER, L. H.et al. Specific chromosomal abnormalities in malignant human gliomas. **Cancer Res**, 48 (2) : 405-11, 1988.
- BING, R. J; MIYATAKA, M.; RICH, A. K. ; HANSON, N.; WANG, X.; SLOSSER, H. D. et al .Nitric oxide, prostanoids, cyclooxygenase and angiogenesis in colon and breast cancer. **Clin Can Res**, 7 : 3385-92, 2001.

BIRNER, P.; PIRIBAUER, M.; FISCHER, I.; GATTERBAUER, B.; MAROSI, C.; AMBROS, P. F. et al. Vascular patterns in glioblastoma influence clinical outcome and associated with variable expression of angiogenic proteins: evidence for distinct angiogenic subtypes. **Brain Pathol**, 13 : 133-143, 2003.

BLANCHARD, F.; WANG, Y.; KINZIE, E.; DUPLOMB, L.; GODARD, A.; BAUMANN, H. Oncostatin M regulates the synthesis and turnover of gp 130, leukemia inhibitory factor receptor α , and oncostatin M receptor β by distinct mechanism. **J Biol Chem**, 276 : 47038-45, 2001.

BLANCHARD, F.; KINZIE, E.; WANG, Y.; DUPLOMB, L.; GODARD, A.; HELD, A. et al. FR901228, an inhibitor of histone deacetylases, increases the cellular responsiveness to IL-6 type cytokines by enhancing the expression of receptor proteins. **Oncogene**, 21: 6264-77, 2002.

BONNI, A.; SUN, Y.; VICENS-NADAL, M.; BHATT, A.; FRANK, D. A.; ROZOVSKY, I. et al. Regulation of gliogenesis in the central nervous system by JAK-STAT signaling pathways. **Science**, 278 : 477-83, 1997.

BORISH, L. ; ROSENBAUM, R.; ALBURY, L.; CLARK, S. Activation of neutrophils by recombinant IL-6. **Cell Immunol**, 121: 280-89, 1989.

BOULTON, T. G.; NYE, S. H.; ROBBINS, D. J. ; IP, N.Y. ; RADZIEJEWSKA, E. ; MORGENBESSER, S. D. et al. ERKs: a family of protein-serine/threonine kinases that are activated and tyrosine phosphorylated in response to insulin and NGF. **Cell**, 65 (4) : 663-7, 1991.

BROMBERG, J. F.; WRZESZCZYNSKA, H. M.; DEVGAN, G.; ZHAO, Y.; PESTELL, R. G. ; ALBANESE, C. et al. Stat 3 as an oncogene. **Cell** , 98 : 295-303, 1999.

BROWDER, T. M. ; DUNBAR, C.; NIENHUIS, A. W. Private and public autocrine loops in neoplastic cells. **Cancer Cells**, 1 : 9-17, 1989.

BROWN, T. J. ; LIOUBIN, M. N.; MARQUARDT, H. Purification and characterization of cytostatic lymphokines produced by activated human T lymphocytes. **J Immunol**, 139 : 2977-83, 1987.

BROWN, J. T.; ROWE, M. J. ; LIU, J.; SHOYAB, M. Regulation of IL-6 expression by Oncostatin M. **J Immunol**, 147: 2175-80, 1991.

BRUCE, A. G.; HOGGATT, I. H. ; ROSE, T. I. Oncostatin M is a differentiation factor for myeloid leukemia cells. **J Immunol**, 149 : 1271-75, 1992.

BRUNDA, M. J.; LUISTRO, L.; WARRIER, R. R.; WRIGHT, R. B.; HUBBARD, B. R.; MURPHY, M. et al. Antitumor and antimetastatic activity of interleukin 12 against murine tumors. **J Exp Med**, 178 : 1223-30, 1993.

BURGER, C. P.; SCHEITHAUER, W. B. **Tumors of Central Nervous System**. Washington. Washington : Armed Forces Institute of Pathology, 1993. 452 p.

BURGER, C. P.; PEARL, K. D.; ALDAPE, K.; YATES, A. J.; SCHEITHAUER, B. W.; PASSE, S. M. et al. Small cell architecture- A histological equivalent of EGFR amplification in glioblastoma multiforme? **J Neuropathol Exp Neurol**, 60 (11) : 1099-1104, 2001.

BUSSOLINO, F.; WANG, J. M.; DEFILLIPI, P.; TURRINI, F.; SANAVIO, F.; EDGELLI, C. J. et al. Granulocyte- and granulocyte-macrophage-colony stimulating factors induce human endothelial cells to migrate and proliferate. **Nature**, 337 (6206) : 471-3, 1989.

CAMPBELL, I. L. ; ABRAHAM, C. R.; MASLIAH, E.; KEMPER, P.; INGLIS, J. D.; OLDSTONE, M. B. et al. Neurologic disease induced in transgenic mice by cerebral overexpression of interleukin 6 . **Proc Acad Natl Sci USA**, 90 : 10061-65, 1993.

CAMPBELL, I. L. ; HOBBS, M. V.; DOCKTEROCKTER, J.; OLDSTONE, M. B.; ALLISON, J. Islet inflammation and hyperplasia induced by the pancreatic islet- specific overexpression of interleukin-6 in transgenic mice. **Am J Pathol**, 145 : 157-166, 1994.

CHATTOPADHYAY, P.; RATHORE, A.; MATHUR, M. et al. Loss of heterozygosity of a locus on 17p13.3, independent of p53, is associated with higher grades of astrocytic tumors. **Oncogene**, 15 : 871-4, 1997.

CHORNY, A. J.; EVANS, C. L.; DeMASTERS, K. K. B. Cerebral granular astrocytomas: a Mib-1, bcl-2, and telomerase study. **Clin Neuropathol**, 19 (4) : 170-9, 2000.

CHOZICK, B. S.; PEZZULLO, J. C.; EPSTEIN, M. H. ; FINCH, P. W. Prognostic implications of p53 overexpression in supratentorial astrocytic tumors. **Neurosurg**, 35 : 831-8, 1994.

CUNNINGHAM, J. M.; KIMMEL, D. W.; SCHEITHAUER, B. W.; FALLON, J. R.; NOVOTNY, P. J.; JENKINS, R. B. Analysis of proliferation markers and p 53 expression in gliomas of astrocytic origin: relationship and prognostic value. **J Neurosurg**, 86:121-30, 1997.

DAMIENS, C.; FORTUN, Y.; CHARRIER, C.; HEYMANN, D.; PADRINES, M . Modulation by soluble factors of gelatinase activities released by osteoblastic cells. **Cytokine**, 12 : 1727-31, 2000.

DAVIS, W.L. Implantation of radionucleotides in brain tumors. In: SCHIMDEK, H.H.; SWEET, H.W. **Operative neurosurgical techniques: indications, methods, and results**. 3rd edition. Philadelphia: W.B.Saunders company, 1995. p.655-666.

DeANGELIS, M. L. Brain tumors . **N.Engl.J.Med.**, 344 (2):114- 23, 2001.

DEBINSKI, W.; GIBO, D.; MINTZ, A. Epigenetics in high grade astrocytomas. Opportunities for prevention and detection of brain tumors. **Ann N Y Acad Scie**, 983 : 232-42, 2003.

DEININGER, M. H.; WELLER, M.; STREFFER, J.; MITTELBRONN, M.; MEYERMANN, R. Patterns of cyclo-oxygenase-1 and 2 expression in human gliomas in vivo. **Acta Neuropathol (Berlin)**, 98 (3) : 240-4, 1999.

- DEMIGUEL, M. P.; BOER-BROUWER, M.; ROOIJ, D. G.; PANIAGUA, R.; VANDISSEL, E. F. M. Ontogeny and localization of na oncostatin m –like proteins in rat testis:its possible role the start of spermatogenesis.**Cell Growth Differ**, 8 : 611-18, 1997.
- DERIJARD, B.; HIBI,M.; WU, H.; BARRET, T.; SU, B.; DENG,T. et al. JNK: a protein kinase stimulated by UV light and Ha-Ras that binds and phospoylates the c-jun activation domain.**Cell**, 76 : 1025-37, 1994.
- DIPERSIO, J. F.; BILLING, P.; WILLIAMS, R.; GASSON, J.C. Human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and other cytokines prime human neutrophils for enhanced arachidonic acid release and leukotriene B4 synthesis. **J Immunol**, 140 (12) : 4315-22, 1988.
- DOUGLAS, M.A.; GRANT, L. S.; GOSS, A. G. Oncostatin M induces differentiation of breast cancer cells. **Inter J Cancer**, 75 : 64-73, 1998.
- DUBOIS, R. N. ; AWAD, J.; MORROW, J.; ROBERTS, L. J.; BISHOP, P. R. Regulation of eicosanoid production and mitogenesis in rat intestinal epithelial cells by transforming growth factor-alpha and phorbol ester. **J Clin Invest**, 93 : 493-98, 1994.
- DUERR, E.; ROLLBROCKER, B.; HAYASHI, Y.; PETERS, N.; PUTTLITZ-MEYER, B.; LOUIS, N. D. et al. PTEN mutations in gliomas and glioneural tumors. **Oncogene**, 16 : 2259-64, 1998.
- DURDA, P. J.; DUNN, S. I.; ROSE, B. L.; BUTERA, D.; BENSON, M. E.; PANDOLFI, F. et al. Induction of “ antigen silencing” in melanomas by oncostatin M:down – modulation of melanocyte antigen expression. **Mol Can Resear**, 1 : 411-19, 2003.
- ELLISON, D. W.; GATTER, K. C.; STEART, P. V.; LANE, D. P.; WELLER, R. O. Expression of the p53 protein in a spectrum of astrocytic tumors. **J Pathol**, 168 : 383-6, 1992.
- ELLISON, D. W.; STEART, P. V.; BATERMAN, A. C.; PICKERING, R. M.; PALMER, J. D.; WELLER, R. O. Prognostic indicators in a range of astrocytic tumors: an immunohistochemical study with ki-67 and p 53 antibodies. **J Neurol Neurosurg**, 59: 413-9, 1995.

ENSOLI, F.; FIORELLI, V.; DECRISTOFARO, M.; MURATORI, D. S.; NOVI, A. ; VANELLI, B. et al. Inflammatory cytokines and HIV-1-associated neurodegeneration: oncostatin-M produced by mononuclear cells from HIV-1-infected individuals induces apoptosis of primary neurons. **J Immunol**, 162 : 6268–77, 1999.

FEDYK, E. R.; PHIPPS, R. P. Prostaglandin E2 receptors of the EP2 and EP4 subtypes regulate activation and differentiation of mouse B lymphocytes to IgE-secreting cells. **Proc Natl Acad Sci USA**, 93 : 10978-83, 1996.

FIORELLI, V.; GENDELMAN, R.; SAMANIEGO, F.; MARKHAM, P. D.; ENSOLI, B. Cytokines from activated T cells induces normal endothelial cells to acquire the phenotypic and functional features of AIDS-Kaposi's sarcoma spindle cells. **J Clin Invest**, 95 : 1723-34, 1995.

FIORENTINO, D. F.; ZLOTNIK, A.; MOSMANN, T. R.; HOWARD, M.; O'GARRA, A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. **J Immunol**, 147 : 3815-22, 1991.

FLETCHER, F. A.; WILLIAMS, D. E.; MALISZEWSKI, C.; ANDERSON, D.; RIVES, M.; BELMONT, J. W. Murine leukemia inhibitory factor enhances retroviral-vector infection efficiency of hematopoietic progenitors. **Blood**, 76 (6) : 1098-103, 1999.

FOSSLIEN, E. Biochemistry of cyclooxygenase 2 (COX-2) inhibitors and molecular pathology of COX-2 in neoplasias. **Crit Rev Clin Lab Sci**, 37 : 431-502, 2000 a.

FOSSLIEN, E. Molecular pathology of cyclooxygenase-2 in neoplasia. **Ann Clin Lab Sci**, 30 : 3-21, 2000 b.

FOSSLIEN, E. Review molecular pathology of cyclooxygenase-2 in cancer induced angiogenesis. **Ann Clin Lab Sci**, 31 : 325-48, 2001.

FRIEDRICH, M.; HOSS, N.; STOGBAUER, F.; SENNER, V.; PAULUS, W.; RINGELSTEIN, E. B. Complete inhibition of in vivo glioma growth by oncostatin M. **J Neurochem**, 76 : 1589-92, 2001.

FUJISAWA, H.; KURRER, M.; REIS, R. M.; YONEKAWA, Y.; KLEIHUES, P.; OHGAKI, H. Acquisition of glioblastoma phenotype during astrocytoma progression is associated with loss of heterozygosity on 10q25-qter. **Am J Pathol**, 155 : 387-94, 1999.

FUJISAWA, H.; REIS, R. M.; NAKAMURA, M.; COLELLA, S.; YONEKAWA, Y.; KLEIHUES, P. et al. Loss of heterozygosity on chromosome 10 is more extensive in primary (de novo) than in secondary glioblastoma. **Lab Invest**, 80 (1) : 65-72, 2000.

FULLER N.G., BURGER C. P. Classification and biology of brain tumors. In: YOUMANS R.J. **Neurological surgery**. 4th edition Philadelphia : W.B. Saunders company , 1996. 2495-2520.

GALANIS, E.; BUCKNER, C. J.; NOVOTNY, P.; MORTON, R. F.; MCGINNIS, W. L.; DINAPOLI, R. et al. Efficacy of neuroradiological imaging, neurological examination, and symptom status in follow-up assessment of patients with high-grade gliomas. **J Neurosurg**, 93 (2): 201-7, 2000.

GARMAN, R. D.; JACOBS, K. A.; CLARK, S. C.; RAULET, D. H. B-cell-stimulatory factor 2 (beta 2 interferon) functions as a second signal for interleukin 2 production by mature murine T cells. **Proc Natl Acad Sci U S A** , 84 (21) : 7629-33, 1987.

GEARING, D. P ; BIRD, C. R.; PRIEST, R.; CARTWRIGHT, J. E.; WADHWA, M. ; THORPE, R. Demonstration of cytokines in biological medicines produced in mammalian cell lines. **Lancet** , 28 : 1011-12, 1989.

GEARING, D. P ; COMEAU, M. R.; FRIEND, D. J.; GIMPEL, S. D.; THUT, C. T., McGOURTY, J. et al. The IL-6 signal transducer, gp 130: An OSM receptor and affinity converter for the LIF receptor. **Science**, 225 : 1434-37, 1992 a.

GEARING, D. P , KING, J. A.; GOUGH, N. M.; THUT, C. J.; NICOLA, A. N. Expression cloning of a receptor of human granulocyte-macrophage colony stimulating factor. **EMBO J**, 12 : 3667-76, 1992 b.

GEARING, D. P. The leukemia inhibitory factor and its receptor. **Adv Immunol**, 53 : 31-58, 1993.

GIOVANNINI, M.; SELLER, L. ; HERMANSON, G. G. ; EVANS, G. A. Localization of the human Oncostatin M gene (OSM) to chromosome 22q12, distal to the Ewing's Sarcoma breakpoint. **Cytogenet Cell Genet**, 62 : 32-4, 1993 a.

GIOVANNINI, M ; DJABALI, M.; McELLIGOTT, D.; SELLER, L. ; EVANS, G. A. Tandem linkage of genes coding for leukemia inhibitory factor (LIF) and Oncostatin M (OSM) on human chromosome. **Cytogen Cell Genet**, 64 : 240- 44, 1993 b.

GIOVANNINI, M.; ROMO, A. J.; EVANS G.A. Chromosomal localization of the human ciliary neurotrophic factor gene (CNTF) to 11q12 by fluorescence in situ hybridization. **Cytogenet Cell Genet**, 63 (1) : 62-3, 1993 c.

GLICK, P. R.; LICHTOR, T.; KIM, S. T. Fibroblast genetically engineered to secrete cytokines suppress tumor growth and induce antitumor immunity to a murine glioma in vivo. **Neurosurg**, 36 : 548-55, 1995.

GODOY-TUNDIDOR, S.; HOBISH, A.; PFEIL, K.; BARTSCH, G.; CULLIG, Z. Acquisition of agonistic properties of nonsteroidal antiandrogens after treatment with oncostatin M in prostate cancer cells. **Clin Can Reser**, 8 : 2356-61, 1992.

GÓMEZ-LECHÓN, M. J. Oncostatin M : Signal Transduction and Biological Activity. **Life Science**, 65 : 2019-30, 1999.

GOSSMAN, A.; HELBICH, T. H.; KURIYAMA, N.; OSTROWITZKI, S.; ROBERTS, T. P.; SHAMES, D. M. et al. Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging as a surrogate marker of tumor response to anti-angiogenic therapy in a xenograft model of glioblastoma multiforme. **J Mag Reson Imaging**, 15 : 233-40, 2002.

GRENIER, A.; DEHOUX, M.; BOUTTEN, A.; ARCE-VICIOSO, M.; DURAND, G.; GOUGEROT-POCIALO, M. A. Oncostatin M production and regulation by human polymorphonuclear neutrophils. **Blood**, 93 (4) : 1413-21, 1999.

HALFTER, H.; LOTFI, R.; WESTEMANN, R.; YOUNG, P.; RINGELSTEIN, E. B.; STOGBAUER, F. T . Inhibition of growth and induction of differentiation of glioma cell lines by oncostatin m (OSM). **Growth Factors**, 15 : 135-47, 1998 a.

HALFTER, H.; KREMERSKOTHEN, J.; WEBER, J.; HACKER-KLOM, U.; BARNEKOW, A.; RINGELSTEIN, E. B. et al. Growth inhibition of newly established human glioma cell lines by leukemia inhibitory factor. **J Neurooncol**, 39 : 1-18, 1998 b.

HALFTER, H ; FRIEDRICH, M.; POSTERT, C. Activation of Jak-stat and mapk-2 pathways by oncostatin M leads to growth inhibition of human glioma cells. **Mol Cell Biol Res**, 1:109-16, 1999.

HALFTER, H ; STOGBAUER, F. T ; FRIEDRICH, M. Oncostatin M mediated growth inhibition of human glioblastoma cells does not depend on Stat 3 or on mitogen-activated protein kinase activation. **J Neurochem**, 75 : 973-81, 2000 a.

HALFTER, H ; POSTERT, C ; FRIEDRICH, M. Activation of jak-stat and mapk-pathways by oncostatin M is not sufficient to cause growth inhibition of human gliomas cells. **Mol Brain Resear**, 80 :198-206, 2000 b.

HANISCH, A.; DIETRICH, K. D.; DIETZMANN, K.; LUDECKE, K.; BUCHFELDER, M.; FAHLBUSCH, R. et al. Expression of members of the interleukin-6 family of cytokines and their receptors in human pituitary and pituitary adenomas. **J Clin Endoc Met**, 85: 4411-14, 2000.

HARADA, K.; KURISU, K.; TAHARA, H.; TAHARA, E.; IDE, T.; TAHARA, E. Telomerase activity in primary and secondary glioblastomas multiforme as a novel molecular tumor marker. **J Neurosurg**, 93 : 618-25, 2000.

HARIZI, H.; JUZAN, M.; PITARD, V.; MOREAU, J. F.; GUALDE, N. Cyclooxygenase-2 induced prostaglandin E2 enhances the production of endogenous IL-10, which down-regulates dendritic cell function. **J Immunol**, 168 : 2255-63, 2002.

- HERMANSON, M.; FUNA, K.; KOOPMANN, J.; MAINTZ, D.; WAHA, A.; WESTERMAN, B. et al. Association of loss of heterozygosity on chromosome 17p with high platelet-derived growth factor alpha receptor expression in human malignant gliomas. **Cancer Res**, 56 : 164-171, 1996.
- HIBI, M.; NAKAJIMA, K.; HIRANO, T. IL-6 cytokine family and signal transduction: a model of cytokine system. **J Mol Med**, 74: 1-12, 1996.
- HILDEBRAND, J.; BADJOU, R.; COLLARD-RONGE, E.; DELFORGE, A.; MALARME, M.; SPIRO, T. et al. Treatment of brain gliomas with high dose of CCNU and autologous bone transplantation. **Biomedicine**, 32 (2): 71-5, 1980.
- HUI, W.; CAWSTON, T.; ROWAN, A. D. Transforming growth factor beta-1 and insulin-like growth factor 1 block collagen degradation induced by oncostatin m in combination with tumor necrosis factor alpha from bovine cartilage. **Ann Rheum Dis**, 62 : 172-4, 2003.
- INO, Y.; ZLATESCU, C. M.; SASAKI, H.; MACDONALD, R. D.; RACHAMIMOV-STEMMER, O. A.; JHUNG, S. et al. Long survival and therapeutic responses in patients with histologically disparate high-grade gliomas demonstrating chromosome 1p loss. **J Neurosurg**, 92 : 983-90, 2000.
- JACOBY, R. F.; SEIBERT, K.; COLE, C. E.; KELLOF, G.; LUBET, R. A. The cyclooxygenase 2 inhibitor celecoxib is a potent preventive and therapeutic agent in the min mouse model of adenomatous polyposis. **Can Res**, 60 : 5040-4, 2000.
- JAROS, E.; PERRY, R. H.; ADAM, L.; KELLY, P.J.; CRAWFORD, P.J.; KALBAG, R.M. et al. Prognostic implications of p53 protein, epidermal growth factor receptor, and Ki-67 labelling in brain tumours. **Br J Cancer**, 66 (2) : 373-85, 1992.
- JEFFREY, E.; PRICE, V.; GEARING, D. P. Close proximity of the genes for leukemia inhibitory factor and oncostatin M. **Cytokine**, 5 : 107-11, 1993.

- JOKI, T.; HEESE, O.; NIKAS, D. C.; BELLO, L.; ZHANG, J.; KRAEFT, S. K. et al. Expression of cyclooxygenase 2 (COX-2) in human glioma and in vitro inhibition by a specific COX-2 inhibitor, NS-398. **Can Res**, 60 : 4926-31, 2000.
- JONES, K. M.; WANG, H.; PESKAR, B. M.; LEVIN, E.; ITANI, R. M.; SARFEH, J. et al. Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Insight into mechanisms and implication for cancer growth and ulcer healing. **Nature**, 5 (12) 1418-23, 1999.
- KALESTAD, J. C.; SHOYAB, M.; LINSLEY, P. S. Disulfide bond assignment and identification of regions required for functional activity of oncostatin m. **J Biol Chem**, 266 : 8940-5, 1991.
- KAMIYA, A.; KINOSHITA, T.; ITO, Y.; MATSUI, T.; MORIKAWA, Y.; SENBA, E. et al. Fetal liver development requires a paracrine action of oncostatin m through the gp-130 signal transducer. **EMBO J**, 18181 : 2127-36, 1999 .
- KARLBOM, A. E.; JAMES, C. D.; BOETHIUS, J.; CAVENEE, W. K.; COLLINS, V. P. ; NORDENSKJOLD, M. et al. Loss of heterozygosity in malignant gliomas involves at least three distinct regions on chromosome 10. **Hum Genet**, 92 : 169-74, 1993.
- KASZA, A.; ROGOWSKI, K.; KILARSKI, W.; SOBOTTA, R.; BERNAS, T.; DOBROBRUCKI, J. et al. Differential effects of oncostatin M and leukemia inhibitory factor expression in astrocytoma cells. **Biochem J**, 355 : 307-14, 2001.
- KASZA, A.; KISS, D. L.; GOPALAN, S.; XU, W.; RYDEL, R. E.; KOJ, A. et al. Mechanism of plasminogen activator inhibitor-1 regulation by oncostatin M and interleukin 1 in human astrocytes. **J Neurochem**, 83 : 696-703, 2002.
- KAWATAKI, T.; NAGANUMA, H.; SASAKI, A.; YOSHIKAWA, H.; TASAKA, K.; NUKUI, H. Correlation of thombospondin-1 and transforming growth factor beta expression with malignancy of gliomas. **Neuropathol**, 20 : 161-9, 2000.

KIMMELMAN, A. C.; ROSS, D. A.; LIANG, B. C. Loss of heterozygosity of chromosome 10p in human gliomas. **Genomics**, 34 : 250-4, 1996.

KING, J. G.; KHALILI, K. Inhibition of human brain tumor cell growth by the anti-inflammatory drug flurbiprofen. **Oncogene**, 20 : 6864-70, 2001.

KISHIMOTO, T.; AKIRA, S.; TAGA, T. IL-6 receptor and mechanism of signal transduction. **Int J Immunopharmacol**, 14 : 431-8, 1992.

KISHIMOTO, T.; TAGA, T. ; AKIRA, S. Cytokine signal transduction. **Cell**, 76 : 253-62 , 1994.

KISHIMOTO, T.; AKIRA, S.; NARAZAKI, M.; TAGA, T .Interleukin -6 family of cytokines and gp-130. **Blood**, 86 : 1243-54, 1995.

KLEIHUES, P.; CAVENEE, W. K. **Pathology and Genetics of Tumors of the Nervous system: World Health Classification of Tumors**. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2000. p 6-7.

KNIGHT, D. A.; ASOKANANTHAN, N.; WATKINS, D. N.; MISSO, N. L. ; THOMPSON, P. J.; STEWART, G. A. Oncostatin M synergises with house dust mite protease to induce the production of PGE alpha from cultured lung epithelial cells. **Br J Pharmacol**, 131 : 465-72, 2001.

KOMOROWSKI, J.; GRADOWSKI, G.; STEPIEN, H. Effects of human chorionic gonadotropin (hCG) and beta-hCG on oncostatin M release from human peripheral blood mononuclear cells in vitro. **Cytobios**, 92 (370-371) : 159-63, 1997.

KORDULA, T.; RYDEL, R. E.; BRIGHAM, E. F.; HORN, F.; HEINRICH, P. C. ; TRAVIS, J. Oncostatin M and interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor complex regulate α 1-antichymotrypsin expression in human cortical astrocytes. **J Biol Chem**, 273 : 4112-8, 1998.

- KORNBLITH, P. L.. The role of cytotoxic chemotherapy in the treatment of malignant brain tumors. **Surg Neurol**, 44 (6): 551-2, 1995 .
- KRAUS, A. J.; WENGHOEFER, M.; SCHMIDT, C. M.; VONDEIMILING, A.; BERWEILER, U.; ROGGENDORF, W. et al. Long-term survival of glioblastoma multiforme: importance of histopathological reevaluation. **J Neurol**, 247 (6) : 455-60, 2000.
- KUJUBU, D. A.; FLETCHER, B. S.; VARNUM, B. C.; LIM, R. W.; HERSCHMAN, H. R. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. **J Biol Chem**, 266: 12866-72,1991.
- LANG, F. F.; MILLER, D. C.; KOSLOW, M.; NEWCOMB, E. W. Pathways leading to glioblastoma multiforme a molecular analysis of genetic alteration in 65 astrocytic tumors. **J. Neurosurg**, 81 : 427-36,1994.
- LANGDON, C.; KERR, C.; TONG, L.; RICHARDS, C. D. Oncostatin M regulates eotaxin expression in fibroblasts and eosinophilic inflammation in C77BL/6 mice. **J Immunol**, 170 : 548-55, 2003.
- LARSON, D. A. Radiation therapy and radiosurgery for brain tumors. In: YOUMANS R.J. **Neurological surgery**. 4th edition. Philadelphia: W.B. Saunders company, 1996. p. 2908-22.
- LATCHMAN, D. S. Cardiotrophin-1 (CT-1): a novel hypertrophic and cardioprotective agent. **Int J Exp Pathol**, 80 (4) : 189-96, 1999.
- LE, P.T.; LAZORICK, S.; WHICHARD, L. P.; YANG, Y. C.; CLARK, S. C.; HAYNES, B.F. et al. Human thymic epithelial cells produce IL-6, granulocyte-monocyte-CSF, and leukemia inhibitory factor. **J Immunol**, 145 (10) : 3310-5, 1990.
- LEWIS, B. Transdução de sinais.In: LEWIS, B. **Gene VII**. São Paulo: Artmed , 2000. p.739-907.

- LIBERMANN, A. T.; NUSBAUM, R. H.; RAZON, N.; KRIS, R.; LAX, I.; SOREQ, H. et al. Amplification, enhanced expression and possible rearrangement of EGFR gene in primary human brain tumors of glial origin. **Nature**, 313 (10) 144-7, 1985.
- LICHTOR, T.; GLICK, R.; KIM, T. S.; HAND, R.; COHEN, E. P. Prolonged survival of mice with glioma injected intracerebrally with double cytokine-secreting cells. **J Neurosurg**, 83 : 1038-44, 1995.
- LIEBERMAN, A. P.; PITHA, P. M.; SHIN, H. S.; SHIN, M. L. Production of tumor necrosis factor and other cytokines by astrocytes stimulated with lipopolysaccharide or a neutrophilic virus. **Proc Acad Natl Sci USA**, 86 : 6348-52, 1989.
- LI, C.; AHLBORN, T. E.; TOKITA, K.; BOXER, L. M.; NODA, A.; LIU, J. The critical role of the PE21 element in oncostatin m-mediate transcriptional repression of the p53 tumor suppressor gene in breast cancer cells. **Oncogene**, 20 (57) : 8193-202, 2001.
- LIU, J.; MODRELL, B.; ARUFFO, A.; MARKEN, J. S.; TAGA, T.; YASUKAWA, K. et al. Interleukin-6 signal transducer gp-130 mediates Oncostatin M signaling. **J Biol Chem**, 267 : 16763-66, 1992.
- LIU, W.; JAMES, D.; FREDERICK, L.; ALDERETE, E. B.; JENKINS, R. B. PTEN/MMAC1 mutations and EGFR amplifications in glioblastomas. **Cancer Res**, 57: 5254-57, 1997.
- LIU, J.; CHANG, S. H.; NARKO, K.; TRIFAN, O. C.; WU, M. T.; SMITH, E. et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 is sufficient to induce tumorigenesis in transgenic mice. **J Biol Chem**, 276 : 18563-69, 2001.
- LO, D.C. A central role for ciliary neurotrophic factor? **Proc Natl Acad Sci USA**, 90 (7) : 2557-8. 1993.
- LOUIS, N. D.; VON DEIMLING, A.; CHUNG, R. Y. Comparative study of p53 gene and protein alterations in human astrocytic tumors. **J Neuropathol Exp Neurol**, 52 : 31-8, 1993.

LOUIS, N. D. The p53 gene and protein in human brain tumors. **J Neuropathol Exp Neurol**, 53 (1) : 11-21, 1994.

LOUIS, N. D. A molecular genetic model of astrocytoma histopathology. **Brain Pathol**, 7 : 755-64, 1997.

LOUIS, N. D.; HOLLAND, C. E.; CAIRNCROSS G. J. Glioma classification: a molecular reappraisal. **Am J Pathol**, 159 (3) : 779-86, 2001.

LOUIS, I. ; DULUDE, G. ; CORNEAU, S.; BROCHU, S.; BOILEAU, C.; MEUNIER, C. et al. Changes in lymph node microenvironment induced by oncostatin M . **Blood**, 102(4) : 1397-404, 2003.

MACFELDA, K.; WEISS, T. W.; KAUN, C.; BREUSS, J. M.; ZORN, G.; OBERNDORFER, U. et al. Plasminogen activator inhibitor 1 expression is regulated by the inflammatory mediators interleukin-1 α , tumor necrosis factor α , transforming growth factor β and oncostatin M in human cardiac myocytes. **J Mol Cell Cardiol**, 34 : 1681-91, 2002.

MAGRANGEAS, F.; BOISTEAU, O.; DENIS, S.; JACQUES, Y.; MINVIELLE, S. Negative regulation of oncostatin M signaling by suppressor of cytokine signaling (SOC3). **Eur Cytokine Netw**, 12 : 309-15, 2001.

MAIER, D.; ZHANG, Z.; TAYLOR, E.; HAMOU, M. F, GRATZL, O.; MEIR, E. G. Somatic deletion mapping on chromosome 10 and sequence analysis of PTEN/MMAC1 point to the 10q25-26 region as the primary target in low-grade and high-grade gliomas. **Oncogene**, 16: 3331-5, 1998.

MALIK, N.; KALLESTAD, J. C.; GUNDERSON, N. L.; AUSTIN, S. D.; NEUBAUER, M. G.; OCHS, V. et al. Molecular cloning sequence analysis, and functional expression of a novel growth regulator, Oncostatin M. **Mol Cell Biol**, 9 : 2847-53, 1989.

MALIK, N.; HAUGEN, S. H.; MODRELL, B.; SHOYAB, M.; CLEGG, C. H. Developmental abnormalities in mice transgenic for bovine Oncostatin M. **Mol Cell Biol**, 15 : 2349-58, 1995.

- MARTUZA, L. R.; ELDRIDGE, R. Neurofibromatosis 2: Bilateral acoustic Neurofibromatosis. *N Engl J Med*, 318: 684-8, 1988.
- MASFERRER, J. L. ; LEAHY, K. M.; KOKI, A. .T.; ZWEIFEL, B. S.; SETTLE, S. L. ; WOERNER, M.et al. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors.*Can Res*, 60 : 1306-11, 2000.
- McDERMOTT, W. M.; WILSON, B. C. Meningiomas. In: YOUMANS R.J. **Neurological Surgery**. 4th edition. Philadelphia: W.B. Saunders company, 1996.p.2782-2825 a.
- McDERMOTT, W. M.; SNEED, K. P.; GUTIN, H. P. Interstitial and intracavitary irradiation of brain tumors. In: YOUMANS R.J. **Neurological Surgery**. 4th edition. Philadelphia: W.B. Saunders company, 1996. p.2923-34 b.
- MESTRE, J. R.; SUBBARAMAIAH, K.; SACKS, P. G.; SCHANTZ, S. P.; DANNENBERG, A. J. Phorbol ester-mediated induction of cyclooxygenase-2 gene expression is inhibited by retinoids.*Ann N Y Acad Sci*, 833 : 173-8, 1997.
- METCALF, D. Clonal analysis of proliferation and differentiation of paired daughter cells: action of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on granulocyte-macrophage precursors.*Proc Natl Acad Sci U S A*, 77 (9) : 5327-30, 1980.
- METCALF, D.; GEARING, D. P. Fatal syndrome in mice engrafted with cells producing high levels of leukemia inhibitory factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86 : 5948-52, 1989.
- MILES, S. A. ; MARTINEZ-MAZA, O. ; REZAI, A ; MAGPANTAY, L. ; KISHIMOTO, T.; NAKAMURA, S. et al. Oncostatin M as a potent mitogen for AIDS-Kaposi's sarcoma-derived cells. *Science*, 255 : 1432-4, 1992.
- MIRSHAHI, F.; VASSE, M.; VINCENT, L.; TROCHON, V.; POURTAU, V.;VANNIER, J.P. et al. Fibrinogen: a vascular risk, why? Contributting effect of oncostatin M on both fibrinogen biosynthesis by hepatocytes and participation in atherothromotic risk related to modification of endothelial cells. *Ann N Y Acad Sci*, 936 : 621-4, 2001.

- MISCHEL, P. S.; NELSON, S. F.; CLOUGHESY, T. F. Molecular Analysis of Glioblastoma: Pathway Profiling and Its Implications for Patient Therapy. **Cancer Biol Ther**, 2(3) : 242-247, 2003.
- MIYAJIMA, A. A.; KINOSHITA, T.; TANAKA, M.; KAMIYA, A.; MUKOUYAMA, Y.; HARA, T. Role of Oncostatin M in hematopoiesis and liver development. **Cytokine Growth Factor Rev**, 11 : 177-83, 2000.
- MODUR, V.; FELDHAUS, M. J.; WEYRICH, A. S.; JICHA, D. L.; PRESCOTT, S. M.; ZIMMERMAN, G. A. et al. Oncostatin M is a proinflammatory mediator. *In vivo* effects correlate with endothelial cell expression of inflammatory cytokines and adhesion molecules. **J Clin Invest**, 100 : 158-68, 1997.
- MORGAN, K.; LICASTRO, F.; TILLEY, L.; RITCHIE, A.; MORGAN, L.; PEDRINI, S. et al. Polymorphism in the alpha -1 -antichymotripsin (ACT) gene promoter: effect on expression of transfected glial and liver cells lines and plasma ACT concentration. **Hum Genet**, 109 : 303-10, 2001.
- MORGAN, K.; MARSTERS, P.; MORLEY, S.; VANGENT, D.; HEJAZI, A.; BACKX, M. et al. Oncostatin M induced α 1-antitrypsin (ATT) gene expression in Hep G2 cells mediated by a 3 enhancer. **Biochem J**, 365 : 555-60, 2002.
- MOSLEY, B.; DEIMUS, C.; FRIEND-BOIANI, N.; THOMAS, B.; PARK, L. S.; COSMAN, D. D. Dual Oncostatin M receptors: cloning and characterization of an alternative signaling subunit conferring OSM-specific receptor activation. **J Biol Chem**, 271 : 32635- 43, 1996.
- MUNDINGER, F. Stereotactic biopsy and implantation of radionucleotides guided by computed tomography or magnetic ressonance for therapy of brain tumors. In: SCHIMDEK, H.H.; SWEET, H.W. **Operative neurosurgical techniques: indications, methods, and results**. 3rd edition. Philadelphia: W.B.Saunders company, 1995. p.443-68.

- MURAKAMI-MORI, K. ; TAGA, T.; KISHIMOTO, T.; NAKAMURA, S. AIDS associated Kaposi's sarcoma cells express Oncostatin M-specific receptor but not leukemia inhibitory factor/Om receptor or interleukin-6 receptor. **J Clin Invest**, 96 : 1319-27, 1995.
- NABORS, L. B.; GILLESPIE, G. Y.; HARKINS, L.; KING, P. H. HuR, a RNA stability factor, is expressed in malignant brain tumors and binds to adenine-and uridine rich elements within the 3' untranslated regions of cytokine and angiogenic factors mRNA. **Can Res**, 61 : 2154-61, 2001.
- NAGATA, T.; KAI, H.; SHIBATA, R. ; KOGA, M.; YOSHIMURA, A. ; IMAIZUMI, T. Oncostatin M ,an interleukin 6 family cytokine, upregulates matrix metalloproteinase-9 through the mitogen-activated protein kinase, kinase extracellular signal regulated kinase pathway in cultured smooth muscle cells. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 23 : 588-93, 2003.
- NAKAHARA, N.; OKADA, H.; WITHAM, F. T; ATTANUCCI, J.; FELLOWS, W. K.; CHAMBERS, W. et al. Combination of stereotatic Radiosurgery and cytokine gene-transduced tumor cell vaccination: a new strategy against metastatic brain tumors. **J Neurosurg** , 95 (6): 984-9, 2001.
- NAKAMURA, M.; KONISHI, N.; TSUNODA, S. HIASA, Y.; TSUZUKI, T.; INUI, T. et al. Retinoblastoma protein expression and MIB-1 correlate with survival of patients with malignant astrocytoma. **Cancer**, 80(2) : 242-9, 1997.
- NAKAMURA, M.; YANG, F.; FUJISAWA, H.; YONEKAWA, Y.; KLEIHUES, P.; OHGAKI, H. Loss of heterozygosity on chromosome 19 in secondary glioblastoma. **J Neuropathol Exp Neurol**, 59 : 539-43, 2000.
- NARUMIYA, S.; SUGIMOTO, Y.; USHIKUBI, F. Prostanoid receptors: structure, properties and functions. **Phys Rev**, 79 : 1193-1226, 1999.
- NATARAJ, C. ;THOMAS, D. W.; TILLEY, S. L.; NGUYEN, M.; MANNON, R. ; KOLLER, B. H. et al. Receptors for prostaglandin E2 that regulates cellular immune responses in the mouse. **J Clin Invest**, 108 (8) : 1229-35, 2001.

NEET, K. E.; CAMPENOT, R. B. Receptor binding, internalization, and retrograde transport of neurotrophic factors. **Cell Mol Life Sci**, 58 (8) : 1021-35, 2001.

NIJSTEN, M.W.; DE GROOT, E. R.; TEN DUIS, H. J.; KLASSEN, H. J.; HACK, C. E.; AARDEN, L. A. Serum levels of interleukin-6 and acute phase responses. **Lancet**, 2 (8564) : 921-2, 1987.

OBERG, F.; WU, S.; BAHRAM, F.; NILSSON, K.; LARSSON, L. G. Cytokine-induced restoration of differentiation and cell cycle arrest in v-Myc transformed U-397 monoblast correlates with reduced Myc activity. **Leukemia**, 15 (2) : 217-27, 2001.

PAILLARD, F. Tet-on: a gene switch for the exogenous regulation of transgene expression. **Hum Gen Ther**, 9 (7) 983-5, 1998 .

PAIRET, M.; ENGELHARDT, G. Distinct isoforms (COX-1 and COX-2) of cyclooxygenase: possible physiological and therapeutic implications. **Fundam Clin Pharmacol**, 10 : 1-17, 1996.

PALMISANO, M.; SUMMERILL, R. S.; HAGERTY, D. T.; DAMLE, B.; STEWART, M. B. A double blind placebo controlled, single subcutaneous dose escalation trial of oncostatin M in healthy male subjects. **Blood**, 94 :56, 1999.

PENNICA, D.; SHAW, K. J.; SWANSON, T. A.; MOORE, M. W.; SHELTON, D. L.; ZIONCHECK, K. A. et al. Cardiotrophin-1. Biological activities and binding to the leukemia inhibitory factor receptor/gp130 signaling complex. **J Biol Chem** , 270 (18) : 10915-22, 1995.

PRADOS, D. M.; CHANG, S.; MACK, E. E. Chemotherapy of brain tumors. . In: YOUMANS R. J. **Neurological surgery**. 4th edition. Philadelphia: W.B. Saunders company, 1996. p.2893-2907.

PRAYSON, R. A. ; CASTILLA, E. A. ; VOGELBAUM, M. A. ; BARNETT, G. H. Cyclooxygenase 2 (COX-2) expression by immunohistochemistry in glioblastoma multiforme. **Ann Diagn Pathol**, 6 : 148-53, 2002.

- PORTAU, J.; MIRSHAHI, F.; LI, H.; MURAINÉ, M.; VINCENT, L.; TEDGUI, A. et al. Cyclooxygenase-2 activity is necessary for the angiogenic properties of oncostatin M **FEBS Lett**, 459 : 453-7, 1999.
- RAM, Z.; CULVERK, W. K.; OSHIRO, M. E et al. Therapy of malignant brain tumors by intratumoral implantation of retroviral vector-producing cells. **Nat Med**, 3 : 1354-61, 1997.
- RAZ, A .Is inhibition of cyclooxygenase required for the anti-tumorigenic effects of nonsteroidal, anti-inflammatory drugs? *in vitro* versus *in vivo* results and the relevance for prevention and treatment of cancer.**Biol Pharmacol**, 63 : 343-7, 2002.
- REPOVIC, P.; BENVENISTE, E. N. Prostaglandin E2 is a novel inducer of the oncostatin M expression in macrophages and microglia. **J Neurosci**, 22 : 5334-43, 2002.
- REPOVIC, P.; BENVENISTE, E. N. Oncostatin M enhances the expression of prostaglandin E2 and cyclooxygenase2 in astrocytes: synergy with interleukin 1 β , tumor necrosis factor α and bacterial lipopolysaccharide.**Glia**, 42 : 433-46, 2003.
- REVESV, T.; ALSANJARI, N.; DARLING, J. L. et al. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): expression in samples of human astrocytic gliomas. **Neuropathol App Neurobiol**, 19 : 152-8, 1993.
- RICHARDS, C. D.; SHOYAB, M.; BROWN, T. J.; GAULDIE, J. Selective regulation of metalloproteinase inhibitor (TIMP-1) by oncostatin M in fibroblasts in culture.**J Immunol**, 150 : 5596-603, 1993.
- ROCCA, B.; SPAIN, L. M.; PURÉ, E.; LANGENBACH, R.; PATRONO, C.; FITZGERALD, G. A. Distinct roles of prostaglandin H synthases 1 and 2 in T cell development. **J Clin Invest**, 103 : 1469-77, 1999 a.
- ROCCA, B.; SPAIN, L. M.; CIABATTONI, G.; PATRONO, C.; FITZGERALD, G. Differential expression and regulation of cyclooxygenase isozymes in thymic stromal cells.**J Immunol**, 162 : 4589-97, 1999 b.

- ROSE, T. M. Molecular cloning sequence analysis, and functional expression of a novel growth regulator, Oncostatin M. **Mol Cell Biol**, 9 : 2847-53, 1989.
- ROSE, T. M ; BRUCE, G. Oncostatin M as a member of a cytokine family that includes leukemia inhibitory factor, granulocyte colony stimulating factor and interleukin 6. **Proc Natl Acad Sci USA**, 88 : 8461-65, 1991.
- ROSE, T. M ; LAGROU, M.; FRANSSON, I.; WERELIUS, B.; DELATTRE, O.; THOMAS, G. et al. The genes of oncostatin M and leukemia inhibitory factor are tightly linked on human chromosome 22. **Genomics**, 17 : 136-40, 1993.
- ROSE, T. M ; WEIFORD, D. M.; GUNDERSON, N. L.; BRUCE, A. G. Oncostatin M (OSM) inhibits the differentiation of pluripotent embryonic stem cells in vitro. **Cytokine**, 6 : 48-54, 1994.
- SAIJONMAA, O.; NYMAN, T.; PACEK, P.; FYHRQUIST, F. Oncostatin M regulates endothelin-1 production in human endothelial cells. **Am J Physiol**, 275 (2 Pt 2) : H662-7, 1998
- SALAZAR-ONFRAY, F.; PETERSON, M.; FRANKSSON, L.; MATSUDA, M. IL-10 converts mouse lymphoma cells to a CTL- resistant, NK sensitive phenotype with low but peptide inducible MHC class I expression. **J Immunol**, 154 : 6291-99, 1995.
- SALIBA, E.; HENROT, A. Inflammatory mediators and neonatal brain damage. **Biol Neonate**, 79 (3-4) : 224-7, 2001.
- SALLINEN, K. P.; SALLINEN, L. S.; HELÉN, T. P.; RANTALA, I. S.; RAUTIAINEN, E.; HELIN, H. J. et al. Grading of diffusely infiltrating astrocytomas by quantitative histopathology, cell proliferation and image cytometric DNA analysis. **Neuropathol App Neurobiol**, 26 (4) : 319-31, 2000.
- SANTOS, J. A N. **Controle genético dos tumores do sistema nervoso central**. São Paulo, 1999 (Tese-Mestrado -Escola Paulista de Medicina).

SATO, T.; NAKAJIMA, H.; FUJIO, K.; MORI, Y. Enhancement of prostaglandin E2 production by epidermal growth factor requires the coordinate activation of cytosolic phospholipase A2 and cyclooxygenase 2 in human squamous carcinoma A431 cells. **Prostaglandins**, 53 (5) : 355-69, 1997.

SAUDER, D. N. Inductive effects of immunological cytokines in the skin. **Immunol Ser**, 46 : 97-108, 1989.

SCHAEFER, L. K.; MENTER, D. G.; SCHAEFER, T. S. Activation of STAT-3 and STAT-1 binding and transcriptional activity in human brain tumor cell lines by gp-130 cytokines. **Cell Signal**, 12 : 143 – 151. 2000

SCHRELL, U.; KOCH, H.; MARSCHALEK, R.; SCHRAUZER, T.; ANDERS, M.; ADAMS, E. et al. Formation of autocrine loop in human cerebral meningioma tissue by leukemia inhibitory factor, interleukin-6, and oncostatin M : Inhibition of meningioma cell growth in vitro by recombinant oncostatin M. **J Neurosurg**, 88 : 541- 8, 1998.

SENALDI, G.; VARNUM, B. C.; SARMIENTO, U.; STARNES, C.; LILE, J.; SCULLY, S. et al. Novel neurotrophin-1/B cell-stimulating factor-3: a cytokine of the IL-6 family. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 96 (20) : 11458-63, 1999.

SHEN, M. M.; SKODA, R. C.; CARDIFF, R. D.; CAMPOS-TORRES, J.; LEDER, P. ; ORNITZ, D. M. Expression of LIF in transgenic mice results in altered thymic epithelium and apparent interconversion of thymic and lymph node morphologies. **EMBO J**, 13 : 1375-85, 1994.

SHIMON, I.; YAN, X.; RAY, D. W.; MELMED, S. Cytokine-dependent gp130 receptor subunit regulates human fetal pituitary adrenocorticotrophin hormone and growth hormone secretion. **J Clin Invest**, 100 : 357-63, 1997.

SHONO, T.; TOFILON, P. T.; BRUNER, J. M.; OWOLABI, O.; LANG, F. F. Cyclooxygenase 2 expression in human gliomas: prognostic significance and molecular correlations. **Can Res**, 61 : 4375-81, 2001.

- SIMONS, A.; JEUKEN, J. W. M.; ELEVELD, M. J.; BOERMAN, R. H.; GEURTS, V. K. A. Isolation and characterization of glioblastoma-associated homozygously deleted DNA fragments from chromosomal region 9p21 suggests involvement of multiple tumour suppressor genes. **J Pathol**, 189 : 402-9, 1999.
- SODHI, A.; SHISHODIA, S.; SHRIVASTAVA, A . Cisplatin-stimulate murine bone marrow derived macrophage secrete **Oncostatin M**. **Immunol Cell Biol**, 75 (5) : 492-6, 1997
- SOHARA, N.; TROJANOWSKA, M.; REUBEN, A. Oncostatin M stimulates tissue inhibitor of metalloproteinase 1 via a MEK sensitive mechanism in human myofibroblasts. **J Hepatol**, 36 : 191-9, 2002.
- SONODA, Y.; KANAMORI, M.; DEEN, D. F.; CHENG, S. Y.; BERGER, M. S.; PIEPER, R. O. Overexpression of vascular endothelial growth factor isoforms drives oxygenation and growth but not progression to glioblastoma multiforme in a human model of glioma genesis. **Cancer Res**, 63 (8) : 1962-8, 2003.
- SPENCE, J. M.; VESTAL, E. R.; LIU, J. Oncostatin M mediated transcriptional suppression of the c-myc gene in breast cancer cell. **Can Res**, 57 : 2223-8, 1997.
- SPORENO, E.; PAONESSA, G.; SALVATTI, A. L.; GRAZIANI, R.; DELMASTRO, P.; CILIBERTO, G. et al. Oncostatin M bind directly to gp-130 and behaves as interleukin-6 antagonist on a cell line expressing gp-130 but lacking of functional oncostatin M receptors. **J Biol Chem**, 269 : 10991-5, 1994.
- STANCATO, L. F.; SAKATSUME, M.; DAVID, M.; DENT, P.; DONG, F.; PETRICON, E. F. et al. Beta interferon and oncostatin M activate Raf-1 and mitogen-activated protein kinase through a JAK1-dependent pathway. **Mol Cell Biol**, 17 : 3833-40, 1997.
- STANKOFF, B.; AIGROT, M. S.; NOEL, F.; WATTILLIAUX, A.; ZALC, B.; LUBETZKI, C. Ciliary neurotrophic factor (CNTF) enhances myelin formation : a novel role for CNTF and related molecules. **J Neurosci**, 22 : 9221-7, 2002.

STEINER,L.; PRASAD, D.; LINDQUIST, C. Gamma-knife surgery in vascular, neoplastic, and functional disorders of the nervous system. In: SCHIMDEK, H.H.; SWEET,H.W. **Operative neurosurgical techniques: indications, methods, and results.**3rd edition. Philadelphia: W. B. Saunders company,1995, p.667-94.

STOLINA, M.; SHARMA, S.; LIN, Y.; DOHADWALA, M.; GARDNER, B.; LUO, J. et al. Specific inhibition of cyclooxygenase-2 restores antitumor reactivity by altering the balance of IL-10 and IL-12 synthesis.**J Immunol**, 164 : 361-70, 2000.

STRAND, K.; MURRAY, J.; AZIZ, S.; ISHIDA, A.; RAHMAN, S.; PATEL, Y. et al. Induction of the urokinase plasminogen activator system by oncostatin M promotes endothelial migration. **J Cell Biochem**, 79 : 239-48, 2000.

SUBBARAMAIAH, K.; ALTORKI, N.; CHUNG, W. J.; MESTRE, J. R.; SAMPAT, A.; DANNENBERG, A. J. Inhibition of cyclooxygenase-2 gene expression by p53.**J Biol Chem**, 274 (16) : 10911-5, 1999 .

SUNDSTROM, C.; NILSSON, K. Establishment and characterization of a human histiocytic lymphoma cell line (U-937). **Int J Can**, 17 : 565-77, 1976.

SUZUKI, A.; IWAMA, A.; MIYASHITA, H.; NAKAUSHI, H.; TANIGUCHI, H. Role for growth factors and extracellular matrix in controlling differentiation of prospectively isolated hepatic stem cells. **Development**, 130 (11) : 2513-24, 2003.

TAGA, T.; HIBI, M.; HIRATA, Y.; YAMASAKI, K.; YASUKAWA, K.; MATSUDA, T. et al. The interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, GP-130. **Cell**, 58 (3) : 573-81, 1989

TAGA, T. Gp-130 and the interleukin-6 family of cytokines. **Ann Rev Immunol**, 15 : 797-819, 1997.

TANAKA,T.; UMESAKI, N. Oncostatin M inhibits decidualization of normal human endometrial stromal cells. **Int J Mol Med**, 11 : 627-30, 2003.

- THOMA, B.; BIRD, T. A.; FRIEND, D. J. ; GEARING, D. P.; DOWER, S. K. Oncostatin M and leukemia inhibitory factor trigger overlapping and different signals through partially shared receptor complexes. **J Biol Chem**, 269 : 6215-22, 1994.
- TILLEY, S. L.; COFFMAN, T. M.; KOLLER, B. H. Mixed messages:modulation of inflammation and immune response by prostaglandins and thromboxanes.**J Clin Invest**, 108 : 15-23, 2001.
- TSUJII, M.; KAWANO, S.; DUBOIS, R. N. Cyclooxygenase-2 expression in human colon cancer cells increases metastatic potential.**Proc Natl Acad Sci USA**, 94 : 3336-40, 1997.
- TURETSCHKE, K.; FLOYD, E.; SHAMES, D. M.; ROBERTS, T. P.; PREDA, A.; NOVIKOV, V. et al. Assessment of a rapid clearance blood pool MR contrast medium (P792) for assays of microvascular characteristics in experimental breast tumors with correlations to histopathology. **Magn Reson Med**, 45 : 880-6, 2001.
- VANWAGONER, N. J.; CHOI, C.; REPOVIC, P.; BENVENISTE, E. N. Oncostatin M regulation of interleukin-6 expression in astrocytes biphasic regulation involving the mitogen activated protein kinase ERK1 / 2 and p38. **J Neurochem**, 75 : 563-75, 2000.
- VASSE, M.; POURTAU, J.; TROCHON, V.; MURAINÉ, M.; VANNIER, J. P.; LU, H. et al. Oncostatin M Induces Angiogenesis *in Vitro* and *in Vivo*. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, 19 : 1835-42, 1999.
- VEGETO, E.; BONINCONTRO, C.; POLLIO, G.; SALA, A ; VIAPPANI, S.; NARDI, F. et al. Estrogen prevents the lipopolysaccharide-induced inflammatory response in microglia. **J Neurosci**, 21 : 1809-18, 2001.
- VON DEIMLING, A.; LOUIS, D. N.; WIESTLER, O. D. Molecular pathways in the formation of gliomas. **Glia**, 15 : 328-38, 1995.
- WALLACE, P. M.; MACMASTER, J. F.; ROULEAU, K. A.; BROWN, T. J.; LOY, J. K., DONALDSON, K. L. et al. Regulation of inflammatory responses by oncostatin M. **J Immunol**, 162 : 5547-55, 1999.

- WATANABE, K.; TACHIBANA, O.; SATO, K.; YONEKAWA, Y.; KLEIHUES, P.; OHGAKI, H.. Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas. **Brain Pathol**, 6 : 217-23, 1996.
- WILLIAMS, J. A.; SCHACTER, E. Regulation of macrophage cytokine production by prostaglandin E2. **J Biol Chem**, 272 : 25693-99, 1997.
- WILLIAMS, C. S.; TSUJII, M. ; REESE, J.; DEY, S. K.; DUBOIS, R. N. Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth. **J Clin Invest**, 105 : 1589-94, 2000.
- WONG, A. J.; RUPPERT, J. M.; BIGNER, S. H., et al. Structural alterations of the epidermal growth factor receptor gene in human gliomas. **Proc Nat Acad Sci**, 89 : 2965-9, 1992.
- YAMAGATA, K.; MATSUMURA, K.; INOUE, W.; SHIRAKI, T.; SUZUKI, K.; YASUDA, S. et al. Coexpression of microsomal-type prostaglandin E synthase with cyclooxygenase-2 in brain endothelial cells of rats during endotoxin-induced fever. **J Neurosci**, 21 : 2669-77, 2001.
- YAMAMORI, T.; FUKADA, K.; AEBERSOLD, R.; KORSCHING, S.; FANN, M. J.; PATTERSON, P.H. The cholinergic neuronal differentiation factor from heart cells is identical to leukemia inhibitory factor. **Science**, 246 (4936) : 1412-6, 1989.
- YANAGISAWA, M.; NAKASHIMA, K.; TAGA, T. STAT-3 mediated astrocyte differentiation from mouse fetal neuroepithelial cells by mouse oncostatin M. **Neurosci Lett**, 269 : 169-72, 1999.
- YANG, L.; YAMAGATA, N.; YADAV, R.; BRANDON, S.; COURTNEY, R. L.; MORROW, J. D. et al. Cancer associated immunodeficiency and dendritic cell abnormalities mediated by the prostaglandin EP2 receptors. **J Clin Invest**, 111 : 727-35, 2003.

YASARGIL, G. M. Gliomas. In: YASARGIL, G. M. **Microneurosurgery for CNS tumors**. Stuttgart: Thieme Verlag, 1996. p.344-62.

YOSHIMURA, A.; ICHIHARA, M.; KINJYO, I.; MORIYAMA, M.; COPELAND, N. G. ; GILBERT, D. J. et al. Mouse oncostatin M : an immediate early gene induced by multiple cytokines through the JAK-STAT 5 pathway.**EMBO J**, 15 : 1055-63, 1996.

ZARLING, M. J.; SHOYAB, M.; MARQUARDT, H. Oncostatin M : A growth regulator produced by differentiated histiocytic lymphoma cells. **Proc Natl Acad Sci USA**, 83 : 9739-43, 1986.

ZHANG, F.; LI, C.; HALFTER, H.; LIU, J. Delineating an oncostatin M activated STAT 3 signalling pathways that coordinate the expression of genes involved in cell cycle regulation and extracellular matrix deposition of MCF-7 cell. **Oncogene**, 22 : 894-905, 2003.

ZHU, L. X.; SHARMA, S.; GARDNER, B.; ATIANZAR, K.; TASHKIN, D. P.; DUBINETT, S. M. IL-10 mediates sigma 1 receptor dependent supression of antitumor immunity. **J Immunol**, 170 : 3585-91, 2003.

ZLOVICK, V. B.; APUZZO, L. J. M. Cellular and molecular neurosurgery: pathways from concept to reality_ Part II : vector systems and delivery methodologies for gene therapy of the central nervous system. **Neurosurg**, 40 (4) : 805-13, 1997.



ANEXOS

CITOCINAS

As citocinas são hormônios protéicos responsáveis pela mediação da fase efetora da imunidade inata e específica (KISHIMOTO et al., 1995, ABBAS et al., 2000). Como muitas das citocinas são provenientes das células de defesa, foram genericamente chamadas de interleucinas, termo este consagrado pelo uso (GEARING et al., 1989, SAUDER, 1989).

As citocinas produzidas pelas células T atuam tanto na fase de ativação quanto na fase efetora da imunidade, sendo responsáveis pela regulação e diferenciação de várias populações linfocitárias, assim como, pela comunicação entre as células do sistema imune e inflamatório (ABBAS et al., 2000).

As citocinas atuam como moduladoras da resposta biológica, sendo que foram divididas em famílias visando o entendimento didático (ABBAS et al., 2000).

1-Citocinas reguladoras da imunidade inata ou natural; tem por função a inibição e/ou o estímulo das reações inflamatórias, são elas: interferon-1 (IFN-1), interleucina 15 (IL-15), interleucina 12 (IL-12); as citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral (TNF), a interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), a oncostatin M (OSM) e as quimiocinas; e a interleucina 10 (IL-10).

2- Citocinas reguladoras da imunidade específica, a interleucina 2 (IL-2), a interleucina 4 (IL-4), a interleucina 5 (IL-5), o fator de crescimento transformador (TGF), o interferon γ (IFN- γ) e a linfotoxina.

3-Citocinas que estimulam o crescimento das células precursoras da medula óssea e têm importância na linfopoiese.

As citocinas são produzidas durante a fase de ativação e efetora da imunidade inata e da imunidade específica, orquestram respostas imunes e inflamatórias, sendo sua produção e excreção um evento rápido e autolimitado já que a sua síntese é iniciada por

uma atividade transcricional transitória, pois os ácidos ribonucleicos mensageiros (RNA m) que codificam as citocinas são instáveis e iniciam a produção logo após a união citocina – receptor.

As citocinas são produzidas por diversos tipos de células e atuam em diversos sistemas a esta propriedade é denominada de pleiotrofismo. Seus efeitos sobre a célula alvo podem ser simultâneos a sua liberação ou após minutos ou horas. Muitas das citocinas tem efeito redundante e influenciam a síntese das demais, propiciando efeitos regulatórios positivos e / ou negativos, quanto a resposta imune e inflamatória.

A ação das citocinas ocorre através de sua ligação com os receptores das células alvo. As ações podem ser:

- autócrinas – quando atuam na própria célula alvo que a produziu;
- parácrina - quando atuam na célula vizinha
- endócrina - quando atuam em células distantes após serem liberadas na circulação sanguínea.

As citocinas de diferentes famílias compartilham propriedades funcionais. Nesta dissertação destacaremos apenas a família de citocinas a qual pertence a OSM, que é a família da IL-6.

FAMÍLIA DA IL-6 E SUAS CITOCINAS CORRELATAS.

São citocinas pró-inflamatórias que iniciam a imunidade inata e regulam respostas imunes específicas (ABBAS et al., 2000), também tem por função o controle de inúmeros processos fisiológicos como a proliferação celular e a regulação de grupos específicos de genes (BENVENISTE et al., 1992).

Participam desta família as seguintes citocinas: interleucina-6 (IL-6), fator inibidor de leucemia (LIF), fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), a oncostatin M (OSM), a interleucina 11 (IL-11), o fator neurotrófico ciliar (CNTF), nova neurotrofina – 1 / fator estimulador de células B-3 (NNT-1/BSF-3), cardiotrofinas 1 (CT-1) e interferons do tipo I (ZARLING et al., 1986 ; ROSE e BRUCE, 1991; HALFTER et al., 1998 b; GÓMEZ-LECHON, 1999) .

INTERLEUCINA-6

É uma citocina multifuncional, geralmente detectada após a infecção por bactérias gram-negativas e atua na resposta de defesa do hospedeiro através de seus múltiplos efeitos hematopoiéticos, neuroendócrinos e hematológicos (GARMAN et al., 1987).

Inicialmente foi identificada como um fator que induziria a maturação das células B e em células produtoras de anticorpos, mas observou-se que também atuam em hepatócitos induzindo a síntese de proteínas de fase aguda (NIJSTEN et al., 1987), ativando os neutrófilos (BORISH et al., 1989), estimulando a liberação do hormônio adrenocorticotrófico pelas células pituitárias e promovendo maior secreção de glicocorticóides pela adrenal (NIJSTEN et al., 1987), induz a febre (GARMAN et al., 1987), o crescimento neuronal (SALIBA e HENROT., 2001), serve como fator de crescimento autócrino para os linfócitos B e T (GARMAN et al., 1987).

É sintetizada por fagócitos mononucleares, células endoteliais vasculares, fibroblastos, astrócitos, células epiteliais tímicas quando em presença da IL-1 e TNF (fator de necrose tumoral) (KASZA et al., 2001). Seu gen está localizado no cromossomo 7 (SALIBA e HENROT, 2001) .

A transdução de sinais pela IL-6 é realizada através de receptores do tipo:

-IG (ABBAS,2000),

-com duas cisteínas/triptofano-serina X triptofano-serina (BAZAN, 1990),

FATOR ESTIMULADOR DE COLÔNIAS DE GRANULÓCITOS (G-CSF)

São citocinas encontradas nas linhagens de células monocíticas, neutrofílicas e eosinofílicas (DiPERSIO et al., 1988). São produzidas também por células endoteliais e por fibroblastos (BUSSOLINO et al., 1989).

Esta citocina compartilha o mesmo receptor que é utilizado pela IL-6 (GEARING et al., 1989).

Sua função é aumentar a produção de leucócitos inflamatórios, recuperar a medula óssea após a quimioterapia, induzir a liberação de células indiferenciadas na circulação sanguínea, o que permite a sua coleta e uso nos transplantes (METCALF et al., 1980 ; ABBAS, 2000).

FATOR INIBIDOR DA LEUCEMIA (LIF)

São produzidos pelas células epiteliais tímicas (LÊ et al., 1990), linfócitos T ativados pela concavalina A (GEARING et al., 1989), por clones de células T aloreativas e por linhagens do estroma da medula óssea (SHEN et al., 1994). Sua ação fisiológica é promover a diferenciação de células neuronais, osteoblastos, mioblastos e adipócitos (GEARING et al., 1993 ; FLETCHER et al., 1990; YAMAMORI et al ., 1989).

É similar à OSM, tanto na organização de sua estrutura de aminoácidos, quanto no uso da sub-unidade gp-130 e no locus gênico do cromossomo 22 (ROSE e BRUCE., 1991).

INTERLEUCINA 11 (IL-11)

(ABBAS, 2000)

Sua função é estimular a formação de megacariócitos e plaquetas. Aparentemente, não tem função fisiológica conhecida, mas se observa o seu aumento durante as infecções virais.

É uma citocina de 20 KD produzida pelas células do estroma da medula óssea principalmente após a ativação com agentes farmacológicos como o forbol-esteres.

CARDIOTROFINA-1 (CT-1)

É uma citocina que compartilha o receptor do LIF (LIFR- β) e o receptor específico de cardiotrofina (CT-1R), sendo a cascata de sinais orquestrada pelas vias JAK-STAT-MAPK (LATCHMAN et al., 1999). Sua estrutura de aminoácidos de 4 – α – hélices e sua conformação estrutural é semelhante as encontradas no LIF, CNTF e IL-11 em 88% dos casos (PENNICA et al., 1995).

Suas atividades biológicas compreendem a inibição do crescimento de linhagens de leucemia mielóide (PENNICA et al., 1995), a promoção da sobrevivência dos neurônios dopaminérgicos e dos neurônios ciliares do SNC (PENNICA et al., 1995) e a hipertrofia dos miócitos cardíacos (LATCHMAN et al., 1999); permitem a manutenção do padrão indiferenciado das células tronco (PENNICA et al., 1995) e o efeito cardioprotetor na vigência de isquemia (LATCHMAN et al., 1999).

FATOR NEUROTROFICO CILIAR (CNTF)

Possui a estrutura de aminoácidos em 4 - α - hélices sugerindo origem ancestral comum com as citocinas IL-6, OSM, LIF e G-CSF (LO, 1993).

Encontra-se predominantemente no SNC, ressaltando-se nos neurônios do gânglio ciliar, da raiz dorsal do gânglio simpático, no neurônio motor inferior, na camada V do neo-córtex, no hipocampo, no tálamo, na zona sub-ependimal do ventrículo lateral, na *pars reticularis* da substância nigra (LO, 1993).

Seu gen se localiza-se no cromossomo 11q12 (GIOVANINI et al., 1993 c) e utiliza o receptor do LIF (LIFR)(PENNICA et al., 1995; NEET et al., 2001).

NOVA NEUROTROFINA-1/FATOR ESTIMULANTE DE CÉLULAS B-3(NNT-1/BSF-3)

É uma citocina homóloga ao CNTF e a CT-1. Sua localização cromossômica é próxima ao gen do CNTF (fator neurotrófico ciliar) (SENALDI et al., 1999).

Sua função é induzir o desenvolvimento das células B e produzir anticorpos IgM e IgG, potencializar a ação da IL-1 e da IL-6 através da corticosterona sérica, induz a perda ponderal e estimula a produção de plaquetas (SENALDI et al., 1999).

*MODELO DE EVOLUÇÃO GENÉTICO-MOLECULAR DOS
GLIOBLASTOMAS.*

LOUIS, (1994, 1997) e LOUIS et al.(1993, 2001) demonstraram que nos GBM quando ocorre a inativação do cromossomo 10, esta se manifesta com a diminuição da trombospondina e o aumento da angiogênese, concomitante pode também ocorrer a amplificação do gen do receptor do fator de crescimento endotelial (EGFR) que por sua vez promoveria a *upregulation* do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF); o aumento da proliferação celular e a diminuição da apoptose (DEBINSKI et al., 2003).

As 3 deleções mais encontradas na perda da heterozigose no cromossomo 10 são (KARLBOM et al., 1993, KIMMELMAN et al., 1996, FUJISAWA et al., 2000) :

10p14-pter

10q23-24

10q25qter

FUJISAWA et al .(2000) observaram que a amplificação do EGFR está associada a perda da heterozigose no cromossomo 10, corroborando os achados de LOUIS et al (1993, 2001), e definem que a perda da heterozigose do cromossomo 10 está presente nos GBM primários e secundários, sendo que o padrão de perda alélica é que difere entre eles. Existe a perda completa do cromossomo 10 nos GBM primários e parcial nos GBM secundários (restrita a perda no 10 q).

BIERNAT et al. (1997a) mostram que a inativação dos genes controladores das fases G1/S são comuns nos GBM primários e secundários. As deleções do gene p16, amplificação do CDK 4 (ciclina dependente quinase 4) e a perda da expressão do gene no locus do retinoblastoma (RB) são mutuamente exclusivas, sugerindo que a disrupção de qualquer uma destas alterações pode levar a perda do controle do ciclo celular nos GBM.

BIERNAT et al. (1997b) relacionam também a importância do gen MDM2, que está localizado no cromossomo 12q13-14 que interage com a proteína RB e inibir a chave regulatória do ciclo celular, pela modulação da atividade apoptótica do *p53*.

BIERNAT et al. (1997a, b) definem que as alterações do ciclo celular em GBM primários e secundários, baseiam-se nas vias genéticas, sendo que:

GBM primários : aumento da expressão do EGFR, aumento da expressão do gen MDM2 , deleção do *p16* e poucas mutações do *p53*.

GBM secundários haveria a diminuição da expressão do EGFR e do MDM2, a amplificação do CDK4, raras deleções no *p16* e se encontraria em maior frequência a mutação do *p53*.

DUERR et al. (1998) demonstram que a perda da heterozigosidade do cromossomo 10 relacionados aos gens PTEN e DMBT1 seriam candidatos aos gens de supressão tumoral relacionados a gênese dos GBM, achados estes corroborados por VON DEIMLING et al. (1995), MAIER et al. (1998) e LIU et al. (1997).

“TET-ON” : UM GEN PERMUTADOR DA REGULAÇÃO EXÓGENA DA EXPRESSÃO TRANSGÊNICA .

Na terapia gênica , a entrega do transgene está sobre o controle de um promotor que permite a sua expressão constitutiva . Nestes casos, não se pode exercer controle no nível nem no tempo da expressão transgênica, embora em algumas situações tal controle fosse desejável.

PAILLARD. (1998) cita inúmeros promotores originados de genes eucariotas já utilizados como “genes de entrega” . Estes promotores são induzidos por hormônios e estímulos físicos, porém muitos deles não podem ser utilizados em humanos por apresentarem limitações como a possibilidade de afetarem a transcrição dos genes do hospedeiro endógeno, ou por não demonstrarem segurança para a sua modulação em níveis elevados .

PAILLARD. (1998) destaca a necessidade do sistema promotor/indutor utilizado ser um indutor inerte e um não-endógeno para a sua segurança utilização. Destacando os sistemas híbridos de regulação procariótica. Os sistemas mais estudados para tal finalidade atualmente são:

- o *lac operon* da *Escherichia coli* que regula a transcrição do gene β -galactosidade,
- o *operon* de tetraciclina (TET) regulando a transcrição dos genes de resistência

Ambos sistemas são baseados na repressão dos genes de transcrição, o qual é abolido com a adição do seu indutor apropriado.

Na bactéria, a resistência gênica a tetraciclina é *negativamente* regulada por um repressor constitutivo que é unido a sequência TET do operador. Na presença de tetraciclina, o repressor é inativado (por sua interação com a tetraciclina) e a transcrição do gen ocorre .

O sistema TET-off, foi assim chamado por ter a sequência repressora do gen unida a sequência trans-ativadora – chamando-se tTa. Com a presença de tetraciclina, que inativa o tTa, ocorre o “ fechamento da transcrição”, daí o nome TET-off

Por sua vez, o sistema TET – on, o tratamento com a tetraciclina induz a transcrição, já que a forma mutante de tTa (rtTa) se une a sequência operon na presença de tetraciclina.

