

of ATP and the secretion of High Mobility Group Box 1 (HMGB1). Methods: Here, our objective was to investigate levels of ICD-associated DAMPs induced by chemotherapeutics commonly used in the clinical practice of non-small cell lung cancer (NSCLC) and the prognosis values of these DAMPs. A549 human lung adenocarcinoma cells were treated with cisplatin, carboplatin, etoposide, paclitaxel and gemcitabine using clinically relevant conditions (doses, times and co-treatments). We assessed ICD-associated DAMPs, cell viability, apoptosis and autophagy in an integrated way. Results: We found that cisplatin induced the highest levels of apoptosis, while carboplatin and etoposide were the less cytotoxic. Cisplatin also induced the highest levels of ICD-associated DAMPs, which was not incremented by co-treatments. Etoposide induced the lower levels of ICD and the highest levels of autophagy, suggesting that the cytoprotective role of autophagy is dominant in relation to its pro-ICD role. High levels of CRT were associated with better prognosis in TCGA databank. In an integrative analysis we found a strong negative correlation between cell number and ICD-associated DAMPs as well as between autophagy and ICD-associated DAMPs. We also propose a mathematical integration of ICD-associated DAMPs in an index (InDAMPs) that may represent with greater biological relevance this process. Conclusions: Cisplatin alone induced the highest levels of ICD-associated DAMPs, so that its combination with immunotherapies can be a promising therapeutic strategy in NSCLC.

### eP2339

#### **Alternativas farmacológicas para o controle da geração de Angiotensina II e suas aplicações para alterações vasculares**

Pamela Zanon; Renata Cristina de Souza Ramos; Lucélia Santi; Walter Orlando Beys da Silva; Jorge Almeida Guimarães; Markus Berger

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

**Introdução.** Na visão clássica do sistema renina-angiotensina (RAS), a angiotensina II (Ang II) é gerada pela ação da enzima conversora de angiotensina (ACE). Evidências recentes vêm sugerindo que possam existir vias alternativas de geração de Ang II no ambiente intracelular em determinadas condições patológicas. Nesses casos a principal enzima conversora de Ang II é a quimase. Em condições de hiperglicemia, produtos avançados de glicação podem ativar quimase, desviando toda a rota de geração de Ang II, causando hipertrofia e aumento de proliferação em células musculares lisas de vasos (VSMCs). Neste trabalho descrevemos a caracterização estrutural e farmacológica de uma nova molécula capaz de bloquear a quimase e uma série de eventos mediados por Ang II *in vitro* e *in vivo*. **Metodologia.** A molécula capaz de inibir quimase foi isolada por métodos de cromatografia líquida a partir da leguminosa *Canavalia ensiformes*. Sua estrutura foi caracterizada por espectrometria de massas e métodos de modelagem molecular. As alterações vasculares foram estudadas *in vivo* em modelo de permeabilidade vascular em ratos e *in vitro* em cultura de células da musculatura lisa de aorta (linhagem A7r5-VSMCs). **Resultados.** A nova molécula (denominada CETI) foi isolada por cromatografia de troca aniônica e afinidade. Possui massa molecular de 8173 daltons, é um trímico em solução aquosa, a estrutura é rica em cisteínas, resistente às variações de temperatura e pH e apresenta duas alças inibitórias, sendo capaz bloquear quimase com um IC50 de 13,80 nM. É um inibidor competitivo clássico e ligante tempo-dependente de quimase. CETI bloqueia a geração de Ang II mediada por quimase humana e a atividade tipo-quimase de mastócitos isolados do peritônio de ratos. Também reduz a permeabilidade vascular induzida por um degranulador de mastócitos (composto 48/80) *in vivo*. VSMCs cultivadas em meio hiperglicêmico (glicose 25 mM) apresentam um aumento na geração intracelular de Ang II que é reduzida após o tratamento prévio com CETI. O inibidor também atenua uma série de eventos mediados por Ang II em VSMCs, tais como migração, proliferação e geração de espécies reativas de oxigênio. **Conclusão.** Neste trabalho descrevemos a caracterização inédita de uma molécula capaz de bloquear uma via não clássica do RAS, tendo, possivelmente aplicação terapêutica promissora em distúrbios vasculares.

### eP2357

#### **Novos compostos sintéticos no tratamento antineoplásico: uma avaliação em tumores pediátricos**

Bruno Toson; Martina Lichtenfels; Isadora Serraglio Fortes; Mariane da Cunha Jaeger; Caroline Brunetto de Farias; André Tesainer Brunetto; Alexandre Meneghello Fuentesfria; Saulo Fernandes de Andrade; Rafael Roesler

UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

O câncer é uma doença que tem como característica a reprogramação de células, adquirindo comportamentos como potencial replicativo ilimitado, evasão de mecanismos de apoptose e insensibilidade a sinais anticrescimento. Apesar de as taxas de mortalidade de tumores pediátricos sólidos - como o linfoma, o neuroblastoma e o sarcoma de Ewing - terem decaído significativamente ao longo das últimas décadas, o câncer na infância representa a maior causa de morte em indivíduos abaixo de catorze anos. Atualmente, um dos desafios do tratamento antitumoral é a resistência aos fármacos. Portanto, o desenvolvimento e a triagem de novos compostos citotóxicos devem ser estimulados para que novas opções terapêuticas menos tóxicas e mais eficazes estejam sempre disponíveis à clínica. Na busca por novas terapias antineoplásicas, as oxazolidinas quirais 2,3,4-substituídas mostraram potencial citotóxico em diferentes linhagens tumorais *in vitro*, mas seu potencial terapêutico e mecanismos de ação em tumores pediátricos permanecem a serem elucidados. O objetivo desse trabalho, parte do meu mestrado, foi avaliar a atividade citotóxica de sete oxazolidinas quirais 2,3,4-substituídas (PH135, PH136, PH137, PH138, PH139, PH140 e PH141) em linhagens tumorais de neuroblastoma (SK-N-BE-2), sarcoma de Ewing (RD-ES) e meduloblastoma (Daoy). As linhagens foram cultivadas conforme protocolo padrão (37°C a 5%CO<sub>2</sub>) e os tratamentos foram feitos em doses de 1; 2,5; 5; 12,5; 25, 37 e 50µM por 48h em todas as linhagens. Células controle com veículo DMSO foram expostas às mesmas condições. Após a incubação foi realizada contagem em hemocitômetro para confecção de curva dose/resposta e a obtenção dos valores de IC50 foi realizada com auxílio do software GraphPad Prism. Observou-se maior atividade citotóxica nos compostos PH135 e PH136. Para avaliação em células não tumorais, a atividade de três compostos foi verificada em linhagem MRC5 de fibroblastos. Em comparação com as linhagens tumorais, as células MRC5 apresentaram maiores valores de IC50. Apesar disso, a diferença entre esses valores é relativamente baixa e não demonstra uma grande margem de segurança. Futuramente, a atividade desses compostos também será avaliada em outras células não tumorais para melhor observar sua toxicidade. Estudos de mecanismo de ação e de toxicidade a longo prazo encontram-se atualmente em andamento.