

SHOJAEI, Shahla et al. Online e-poster presentation: Simvastatin sensitize glioblastoma cells to temozolomide-induced apoptosis through autophagy pathway. In: 2017 International Conference: *Primum Non Nocere*. LIPH Science Journal, v.4, n.3, p. 20, Sept./Dec., 2017. <www.liphscience.com>

Simvastatin sensitize glioblastoma cells to temozolomide-induced apoptosis through autophagy pathway

Simvastatina sensibiliza células do glioblastoma para apoptose induzida por temozolomida via sinalização autofágica

Shahla Shojaei, Javad Alizadeh*, James Thliveris*, Navid Koleini*, Elissavet Kardami*, Sabin Hombach-Klonisch*, Thomas Klonisch*, Saeid Ghavami*

Abstract: Glioblastoma multiforme (GBM) that is a prevalent and aggressive type of brain tumors with low survival rate about 14 months after diagnosis and treatment with Temozolomide (TMZ), the most common used chemotherapeutic drug. Simvastatin (Simva) that inhibit mevalonate (MEV) cascade can pass the blood brain barrier. We aimed to study the mechanism of GBM sensitization cells by simvastatin to TMZ-induced apoptosis regarding autophagy regulation. First, we pretreated human GBM cells (U251 and U87) with low doses of Simva. (1 and 2.5 μ M) in the presence or absence of MEV (5 mM), CH (50 μ M), Farnesyl pyrophosphate (FPP) (15 μ M), Geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP) (15 μ M). After 4 hours incubation, we treated the cells with TMZ (100 μ M) for 48-96h. The viability of cell and the percentage of apoptotic cell death were evaluated by MTT assay and propidium iodide flow cytometry. We did Immunoblotting, immunocytochemistry and transmission electron microscopy to explore the role of autophagy in sensitization of GBM cells in combination of Simva and TMZ treatment. We detected a significant increase ($P < 0.01$) in the apoptotic cell death in both U87 and U251 cells upon co-treatment of TMZ with Simva. This increase was accompanied by the alteration in autophagy markers (increase in LC3- β II and p62 level, and accumulation of double-membrane vacuoles) in Simva-TMZ treated cells in compare to TMZ alone. Interestingly, the effect was not reversed by addition of MEV, CH, FPP and GGPP ($P > 0.5$) that suggest that sensitization of GBM cells to TMZ-induced apoptosis in Simva co-treatment is independent of cholesterol metabolism and it is possibly through the autophagy pathway.

Keywords: Glioblastoma. Simvastatin. Temozolomide. Autophagy. Apoptosis. Mevalonate.

Resumo: Glioblastoma multiforme (GBM) é um tipo prevalente e agressivo de tumor do cérebro com baixa taxa de sobrevivência, aproximadamente 14 meses após o diagnóstico e tratamento com Temozolomide (TMZ), o fármaco quimioterapêutico mais utilizado. A droga Simvastatina (Simva) inibe a cascata de mevalonato (MEV) e pode ultrapassar a barreira hematoencefálica. Portanto, o objetivo desse estudo é entender o mecanismo de sensibilização de células GBM por simvastatina para a apoptose induzida por TMZ em relação à regulação de autofagia. Primeiramente, células GBM humanas (U251 e U87) foram pré-tratados com baixas doses de Simva (1 e 2.5 μ M) na presença ou ausência de MEV (5mM), CH (50 μ M), pirofosfato de farnesil (FPP) (15 μ M), pirofosfato de geranylgeranilo (GGPP) (15 μ M). Após 4 horas de incubação, células foram tratadas com TMZ (100 μ M) por 48-96h. A viabilidade das células e a porcentagem de morte celular apoptótica foram avaliadas através do ensaio MTT e citometria de fluxo de iodeto de propídio. Fizemos Imunotransferência, imunocitoquímica e microscopia eletrônica de transmissão para explorar o papel da autofagia na sensibilização de células GBM em combinação com o tratamento Simva e TMZ. Detectamos um aumento significativo ($P < 0,01$) na morte celular apoptótica em células U87 e U251 após o co-tratamento de TMZ com Simva. Este aumento foi acompanhado pela alteração nos marcadores de autofagia (aumento do nível de LC3- β II e p62 e acumulação de vacúolos de membrana dupla) em células tratadas com Simva-TMZ em comparação com TMZ sozinho. Interessantemente, o efeito não foi revertido pela adição de MEV, CH, FPP e GGPP ($P > 0,5$), sugerindo que a sensibilização de células GBM para a apoptose induzida por TMZ no co-tratamento Simva é independente do metabolismo do colesterol e é possivelmente pelo caminho de autofagia.

Palavras-chave: Glioblastoma. Simvastatina. Temozolomida. Autofagia. Apoptose. Mevalonato.

Rapporteur: Shahla Shojaei; **e-poster Review Board:** [Maria Emília Soares Martins dos Santos](#), [Aldo Rogelis Aguires Rodrigues](#), [André Luiz Pedrosa](#), [Igor de Oliveira Loss](#), [José Bento de Oliveira Neto](#), [Magna Aspásia da Silva Fontinele Godinho](#), [Nilza Consuelo Alves Pinheiro](#), [Vicente de Paula Antunes Teixeira](#) * Children's Hospital Research Institute of Manitoba, Department of Human Anatomy and Cell Science, Rady Faculty of Health Sciences, College of Medicine, University of Manitoba (UofM), Canada. *Department of Human Anatomy and Cell Science; St-Boniface Hospital, Albrechtsen, Research Centre, University of Manitoba (UofM), Canada.