

# **Paracetamol induz radiosensibilidade na linhagem celular derivada de glioma humano U-87**

FELIPE UMPIERRE CONTER<sup>1</sup>  
LUCIANA BROSINA DE LEON<sup>2</sup>  
TATIANE VON WERNE BAES<sup>2</sup>  
FÁBIO DAL BELLO<sup>3</sup>  
DANIEL PRETTO SCHUNEMAN<sup>4</sup>  
AROLDO BRAGA FILHO<sup>5</sup>  
ANDRÉA REGNER<sup>6</sup>  
ADRIANA BRONDANI DA ROCHA<sup>6</sup>  
IVANA GRIVICICH<sup>7</sup>

## **RESUMO**

*Neste estudo avaliamos o potencial radiosensibilizante do paracetamol e a participação da enzima Glutathione Peroxidase (GPx) na linhagem celular de glioma humano U-87. Após radiação com 5 Gy, a linhagem U-87 apresentou redução na fração de sobrevivência, quando comparada ao controle. A combinação do paracetamol (0,5 mM) com a radiação ionizante (2 Gy) demonstrou redução no número de colônias formadas, quando comparado com a radiação isolada. Após exposição a 2 Gy de radiação, observamos um aumento de 40% na atividade da GPx na linhagem U87. Por outro lado, a exposição ao paracetamol (0,5 mM) não alterou os níveis basais desta*

<sup>1</sup> Acadêmico do Curso de Biomedicina/ULBRA – Bolsista PROICT/ULBRA

<sup>2</sup> Acadêmica do Curso de Medicina/ULBRA

<sup>3</sup> Mestre em Diagnóstico Genético e Molecular (ULBRA); Professor da Feevale

<sup>4</sup> Mestre em Diagnóstico Genético e Molecular (ULBRA); Médico do Hospital Mãe de Deus de Porto Alegre

<sup>5</sup> Médico, Serviço de Radioterapia do Hospital São Lucas da PUCRS

<sup>6</sup> Professora do Curso de Medicina/ULBRA, PPG em Diagnóstico Genético e Molecular/ULBRA, PPG em Genética e Toxicologia Aplicada/ULBRA

<sup>7</sup> Professora – Orientadora do Curso de Biomedicina/ULBRA, PPG em Diagnóstico Genético e Molecular/ULBRA, PPG em Genética e Toxicologia Aplicada/ULBRA (grivicich@terra.com.br)

enzima. Nossos resultados indicam que o paracetamol aumenta a sensibilidade à radiação na linhagem celular U-87, mas a GPx não está ligada a este efeito.

**Palavras-chave:** glioma humano, paracetamol, radiação ionizante, radiosensibilidade.

## ABSTRACT

*In this study, we evaluated the potential of the radio sensitizing paracetamol and participation of the enzyme GPx in the results observed in the U-87 human glioma cell line. After a 5 Gy irradiation, the U-87 cell line showed a decrease in survival fraction when compared to control. The effect of the combination of paracetamol (0.5 mM) with irradiation (2 Gy) presented a reduction in the number of colonies formed when compared with radiation itself. We observed an increase of approximately 40% in the activity of GPx in the U-87 cell line after an exposure to a 2 Gy irradiation. However, exposure to paracetamol (0.5mM) did not change the basal levels of this enzyme. Our results indicate that paracetamol increases the sensitivity to radiation in the U-87 cell line but the GPx is not related to this effect.*

**Keywords:** human glioma, paracetamol, ionizing radiation, radiosensitivity.

## INTRODUÇÃO

Os tumores do sistema nervoso central (SNC) correspondem a 4% do total das neoplasias malignas no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER; INCA, 2010). Desses, os gliomas representam 60 a 70% dos casos (WEN; KESARI 2008). A sua incidência aumenta de acordo com a idade com um pico entre 65 e 75 anos, onde há o predomínio das espécies mais agressivas de gliomas, particularmente os astrocitomas malignos (NEWTON, 2008). Entre estes, o Glioblastoma Multiforme (GBM) representa 25 % de todas as neoplasias do SNC (BRANDES et al., 2008). A Organização Mundial da Saúde classifica os astrocitomas em quatro estágios, baseando-se em características patológicas. O GBM, por apresentar uma proliferação celular e microvascular incontroláveis, áreas de necrose tecidual e infiltração dos tecidos

adjacentes, é classificado como grau IV (FULLER; SCHEITHAUER, 2007).

A patogênese do GBM apresenta diversas mutações em genes supressores tumorais e em proto-oncogenes que ocasionam alterações no ciclo e na diferenciação celular, favorecendo a formação das células tumorais (MILLER; PERRY, 2007). Os sinais e sintomas dos pacientes com GBM incluem cefaléia, náusea ou vômitos, e alterações no nível de consciência (ADAMSON et al., 2009).

A ressecção cirúrgica máxima, seguida pela radioterapia, é o tratamento padrão para estes pacientes (DEANGELIS, 2001). A quimioterapia adjuvante pode aumentar em um a três meses a sobrevida mediana, porém, a maioria dos pacientes com GBM sofre recidiva da doença após a terapia inicial (STEWART, 2002). A quimioterapia paliativa é comumente usada no tratamento desses pacientes, mas os únicos resul-

tados promissores foram observados com a associação da radioterapia com o quimioterápico temozolamida (STUPP et al., 2005). Assim, a radioterapia é o principal tratamento adjuvante no GBM, entretanto as respostas terapêuticas são freqüentemente acompanhadas por radiorresistência tumoral (PETERSEN et al., 2000; HUSSAINI et al., 2002). Está bem documentado que a radiorresistência é um dos fatores associados à redução da eficácia do tratamento em GBMs (ROCHA et al., 2004).

Estudos evidenciaram que as espécies reativas de oxigênio (EROs) propiciam a ação da radiação ionizante e sua produção no meio intracelular auxilia a lesão e a morte celular em GBMs (LEE et al., 2002). As lesões oxidativas ocorrem pelo desequilíbrio entre a produção de radicais livres de oxigênio e os efeitos de enzimas antioxidantes, como a glutatona peroxidase (GPx). Estas enzimas também são conhecidas como fatores de radiorresistência e quimiorresistência (FREEMAN; CRAPO, 1982). A GPx é uma seleno-enzima, cuja ação é baseada na oxidação da glutatona (GSH), ao dissulfeto correspondente (GSSH) (SALVADOR; HENRIQUES, 2004). A Glutaciona é responsável pela degradação do peróxido de hidrogênio em água, protegendo as células contra a formação do radical hidroxila (WOZNIAK et al., 2007). Em células tumorais, um fator importante no tratamento radioterápico é a ação diminuída desta enzima, permitindo que as EROs sensibilizem as células tumorais à radiação ionizante a promovam a morte celular (TANRIVERDI et al., 2007). Entretanto, a participação da GPx na radiorresistência apresenta achados conflitantes que indicam que este efeito depende do tipo celular (MANSUR et al., 2001).

O paracetamol é um medicamento amplamente utilizado como analgésico, antipirético e antiinflamatório (BERTOLINI et al., 2006). Este, tem como

mecanismo de ação a inibição da síntese de prostaglandinas através da inibição da enzima ciclooxigenase (COX) (SMITH, DEWITT; GARAVITO, 2000). Foi demonstrado que o paracetamol reduz a proliferação em linhagens celulares de glioblastomas (JOKI et al., 2000; BERNARDI et al., 2006), porém o mecanismo envolvido não está elucidado. Um estudo sugere que o paracetamol poderia causar radiosensibilização através da inibição da síntese de prostanoídes pela COX, reduzindo o crescimento tumoral e aumentando o número de células em apoptose (BERTOLINI et al., 2006).

A radiosensibilidade celular há muito tempo tem sido foco de investigação, devido sua influência nos resultados da terapia. Estudos anteriores mostram que a intrínseca radiosensibilidade das células tumorais é um importante determinante para a resposta à radioterapia. Entre as estratégias de aumentar a sensibilidade do tumor à radioterapia está a associação com medicamentos. Considerando a limitada resposta aos tratamentos dos GBMs, faz-se necessária a investigação de novas estratégias terapêuticas. Neste sentido, este estudo tem por objetivos investigar o potencial radiosensibilizante do paracetamol e avaliar a participação da enzima glutatona peroxidase (GPx) na resposta ao tratamento com radiação ionizante, na presença e ausência do paracetamol na linhagem celular de glioblastoma humano U-87.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Linhagem Celular e Manutenção das Culturas**

A linhagem celular de glioblastoma humano U-87 foi adquirida da *American Type Culture Col-*

lection (Rockville, MD, EUA) e mantida em frascos de cultura de 25 cm<sup>2</sup> com meio de cultura DMEM contendo 2% de L-glutamina (p/v) e 15% de soro fetal bovino (v/v), a 37 °C em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> e umidade relativa de 95%.

### **Avaliação da Toxicidade do Paracetamol**

Culturas em triplicatas foram expostas ao paracetamol diluído em etanol (concentração máxima 1%) com doses variando de 0 - 10 mM (CASPER et al., 2000). A dose de IC<sub>50</sub> (concentração que inibe 50% do crescimento celular) do paracetamol foi utilizada associada ao tratamento com radiação.

As respostas celulares ao tratamento com o paracetamol foram avaliadas através de ensaio colorimétrico com sulforodamina B (SRB) (SKEHAN; STORENG; SCUDIERO, 1990). Após 24 h de tratamento, as células foram fixadas *in situ* com ácido tricloroacético (TCA; 50%). O TCA foi removido com água destilada, e após serem secas, as células foram coradas com solução de SRB (0,4%). A seguir, o excesso de SRB foi removido com ácido acético (1%), e o SRB ligado às proteínas foi solubilizado com Trizma base (10 mM; pH 10.5). Cada experimento incluiu um controle contendo meio de cultura ou meio de cultura com paracetamol e sem células, e células que não recebem paracetamol para servir de controle do crescimento celular. As absorvâncias foram quantificadas em comprimento de onda de 540 nm, usando um leitor de microplacas Elisa (Multiskan EX, Labsystems, Finlândia).

### **Avaliação do Efeito da Radiação**

A linhagem celular U-87 foi exposta a doses de 2, 5 e 10 Gy de radiação ionizante, isolada ou

associada ao paracetamol. Tal procedimento foi realizado em acelerador linear Telecobalto Theratron Phoenix Philips SR 7510 (Eindhoven, Holanda), no Serviço de Radioterapia do Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

Para avaliar o efeito tardio da radiação (PETERSEN et al., 2000), as células foram irradiadas na presença ou ausência do paracetamol. Após tratamento, 400 células/2mL foram inoculadas em placas de 6 *well*, em triplicata e incubadas por 14 dias. A seguir, as células foram fixadas com etanol 70% e coradas com violeta cristal (0,1%). Apenas as colônias contendo 50 ou mais células foram contadas sob um microscópio óptico. A fração de sobrevivência (FS) foi calculada como:  $FS = T/C \times 100$ ; onde: T = número de colônias após tratamento e C = número de colônias nos controles não tratados.

### **Determinação da Atividade da Glutathione Peroxidase**

As células foram irradiadas na presença ou ausência do paracetamol, ou expostas ao paracetamol isolado, removidas dos frascos de cultura, lavadas com PBS, sonicadas em gelo e centrifugadas. O sobrenadante foi coletado e uma alíquota utilizada para dosar proteína pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976). A atividade da GPx foi quantificada com base no consumo do NADPH oxidado (LAWRENCE; BURK, 1976). O pellet resultante foi incubado em solução de EDTA, NaN<sub>3</sub>, glutathione, glutathione redutase, por 10 min. Após a adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a oxidação do NADPH foi mensurada em espectrofotômetro em comprimento de onda de 340 nm por 3 min em intervalos de 20 seg. Uma unidade da GPx é definida como a quantidade de proteína necessária para oxidar 1 μmol

de NAPH por min. Os resultados foram expressos em mU de GPx por mg de proteína.

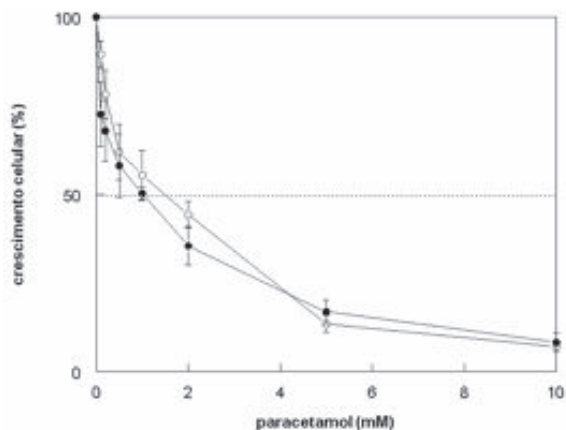
### **Análise Estatística**

Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão de três experimentos individuais. A análise de variância seguida de pós-teste de *Tukey* foi realizada, e as diferenças foram consideradas significativas para valores de  $p < 0,05$ .

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Apesar do aprimoramento nas técnicas cirúrgicas e dos tratamentos empregando a quimioterapia e a radioterapia, o prognóstico dos pacientes com GBM ainda é ruim, pois estes tumores desenvolvem mecanismos de resistência (BUTOWSKI; SNEED; CHANG, 2006; REARDON; WEN, 2006). Ainda hoje, a radioterapia é o principal tratamento pós-operatório para os GBMs (BOGLER e WELLER, 2002). É amplamente aceito que a radiorresistência intrínseca de alguns tumores é um fator limitante da resposta ao tratamento radioterápico (SNEED et al., 1994). Sabe-se que as espécies reativas de oxigênio estão implicadas na carcinogênese, particularmente na indução de morte celular (ZHONG et al., 1999). Por esse motivo as células se defendem, produzindo enzimas, como a glutathiona peroxidase, que degradam essas substâncias, (ROSEN et al., 1995). Diversos trabalhos têm buscado melhorar as respostas terapêuticas, atuando principalmente na sensibilização dos tratamentos já existentes. Neste estudo investigamos a capacidade do paracetamol em radiosensibilizar a linhagem celular de glioma humano U-87, bem como a participação da enzima glutathiona peroxidase nas respostas obtidas.

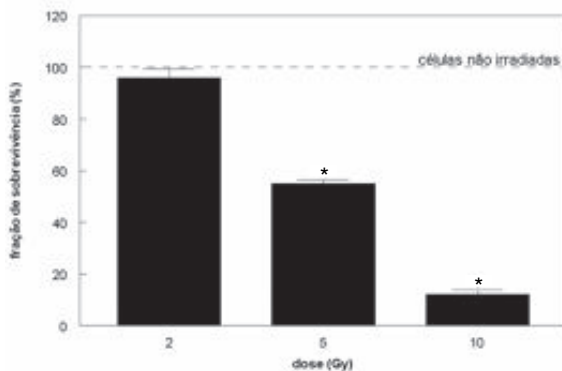
O paracetamol foi avaliado quanto ao seu efeito antiproliferativo após 24 h de exposição à droga. Como demonstrado na Figura 1, o paracetamol apresentou uma citotoxicidade dependente da dose, sendo o valor de  $IC_{50}$  (dose necessária para inibir 50% do crescimento celular) foi de  $1,5 \pm 0,2$  mM. Estes achados estão de acordo com estudos anteriores que demonstraram inibição no crescimento celular nas linhagens celulares de glioblastomas humanos SNB-19 e U-138 com doses próximas a 1 mM de paracetamol após 24 h de tratamento (CASPER et al., 2000; BERNARDI et al., 2006).



**Figura 1** - Efeito do tratamento com paracetamol (1 - 10 mM) na linhagem celular derivada de glioma humano U-87. Os valores representam valores de média e desvio padrão obtidos de 3 experimentos independentes.

Considerando que muitos dos danos celulares desencadeados pela radiação podem ser reparados, a determinação das conseqüências a longo prazo sobre o crescimento do tumor é fundamental (HILL et al., 2004). Com esta finalidade, o efeito tardio da radiação nos cultivos celulares foi avaliado pelo ensaio de formação de colônias 14 dias da irradiação. Para isto as células foram irradiadas com 2, 5 ou 10 Gy e posteriormente, inoculadas em placas de cultivo. As frações de sobrevivência foram calculadas e os resul-

tados mostraram que 2 Gy de irradiação não alterou significativamente a formação de colônias na U-87. Porém, após radiação com 5 Gy, a linhagem celular U-87 apresentou uma diminuição de cerca de 35% na fração de sobrevivência, quando comparada ao controle. E a dose de 10 Gy reduziu a fração de sobrevivência em aproximadamente 92% (Figura 2).

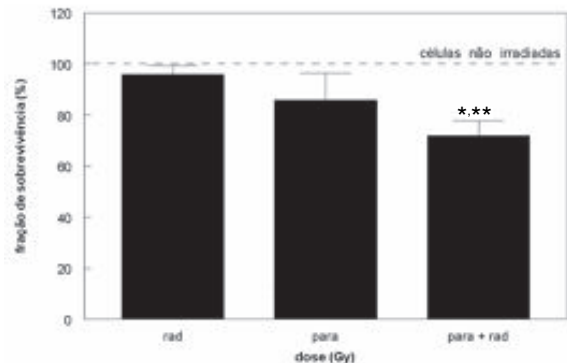


**Figura 2** - Fração de sobrevivência da linhagem celular derivada de glioma humano U-87 irradiada com 2, 5 ou 10 Gy. Os valores representam valores de média e desvio padrão obtidos de 3 experimentos independentes. Os dados são apresentados como fração de sobrevivência obtida a partir da razão do número de colônias irradiadas pelo número de colônias controle, expresso em percentual. \*Valor considerado significativamente diferente do controle  $p < 0,05$ .

De um modo geral, é possível dizer que a linhagem U-87 é sensível aos danos induzidos pela radiação, visto que ela demonstrou inibição de crescimento dependente da dose de radiação administrada (Figura 2). De fato, estudos anteriores (ZÖLZER; STREFFER, 2002; KANG et al., 2007) verificaram que a radiação induz uma redução no potencial clonogênico em diversas linhagens celulares de GBM, incluindo a U-87.

Com o objetivo de determinar se o paracetamol poderia sensibilizar a linhagem U-87 ao efeito da

radiação, as células foram tratadas com uma dose sub-letal de paracetamol (0,5 mM) por 4 h e a seguir irradiadas com 2 Gy (dose que apresentou pouco efeito na linhagem U-87). Após os tratamentos as células foram avaliadas quanto a formação de colônias depois de 14 dias. Os resultados são apresentados na Figura 3.



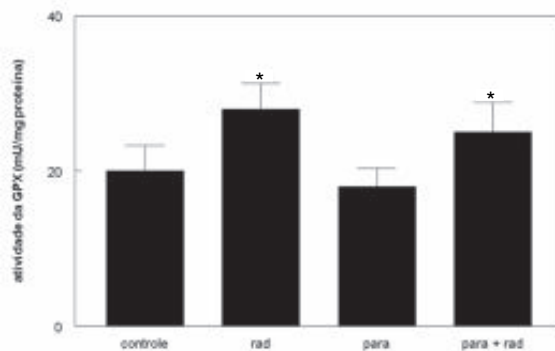
**Figura 3** - Fração de sobrevivência da linhagem celular derivada de glioma humano U87 tratada com 2 Gy de radiação (rad), 0,5 mM de paracetamol (para) ou com 0,5 mM de paracetamol por 4 h e após irradiadas com 2 Gy (para+rad). Os valores representam valores de média e desvio padrão obtidos de 3 experimentos independentes. Os dados são apresentados como fração de sobrevivência obtido a partir da razão do número de colônias tratadas pelo número de colônias controle, expresso em percentual. \*Valor considerado significativamente diferente das células não tratadas  $p < 0,01$ . \*\*Valor considerado significativamente diferente das células tratadas com radiação sozinha  $p < 0,05$ .

Nestas condições (0,5 mM), o paracetamol isolado não demonstrou efeito citotóxico. Isto resultou na ausência de diferença significativa no número de colônias formadas após o tratamento com paracetamol ( $90\% \pm 10,4$ ) quando comparado com as células não tratadas ( $98\% \pm 11,1$ ). Estes resultados estão de acordo com Casper et al., (2000) que também não observaram toxicidade do paracetamol na

formação de colônias. Mais recentemente, em um estudo na linhagem de glioblastoma humano U-87, com outro antiinflamatório não esteroidal, o celecoxib, também não apresentou redução na formação de colônias (KANG et al., 2007). Por outro lado, o efeito da combinação do paracetamol (0,5 mM) com a radiação (2 Gy) demonstrou uma redução de 20% ( $p < 0,05$ ) no número de colônias formadas, quando comparado com a radiação isolada (Figura 3), sugerindo um aumento de radiosensibilidade. Nossos resultados estão de acordo com Casper et al. (2000), que demonstrou que o paracetamol aumentou a radiosensibilidade da linhagem celular de glioblastoma humano SNB-19 em 40%. Em outro estudo, o antiinflamatório não esteroidal SC-236, aumentou a radiosensibilidade da linhagem celular de glioblastoma humano U-251 (PETERSEN et al., 2000).

Tem sido demonstrado que o paracetamol pode induzir fragmentação no DNA (SHENOY; GOPALAKRISHNA, 1977). Além disso, a radiação ionizante causa lesões no DNA de forma direta ou indireta através da formação de radicais livres (LI et al., 2001). A remoção de parte das EROs pela GPx foi proposta como uma das formas de resistência à radiação em linhagens celulares humanas (MARKLUND et al., 1984). Neste sentido avaliamos se a GPx estava envolvida na radiosensibilização da linhagem U-87. A linhagem celular U-87 apresentou atividade basal de GPx de  $20 \pm 3,3$  mU/mg proteína. Após exposição a 2 Gy de radiação, observamos um aumento de aproximadamente 40% na atividade da GPx. Por outro lado a exposição ao paracetamol (0,5 mM) não alterou os níveis basais desta enzima na linhagem estudada (Figura 4). Da mesma forma, a combinação do paracetamol com radiação não alterou a atividade da GPx quando comparado com o efeito da radiação isolada (Figura 4). Estes achados indicam que o paracetamol não

interfere na atividade da GPx nas nossas condições de estudo.



**Figura 4** - Atividade da enzima glutatona peroxidase na linhagem celular derivada de glioma humano U87 tratada com 2 Gy de radiação (rad), 0,5 mM de paracetamol (para) ou com 0,5 mM de paracetamol por 4 h e após irradiadas com 2 Gy (para + rad), após 24 h. Os valores representam valores de média e desvio padrão obtidos de 3 experimentos independentes. Os dados são apresentados como mU da GPx/mg de proteína. \*Valor considerado significativamente diferente das células não tratadas  $p < 0,05$ .

## CONCLUSÃO

Em síntese nossos dados indicam que o paracetamol aumenta a radiosensibilidade à radiação na linhagem celular derivada de glioblastoma humano U-87. Porém, este efeito não parece estar associado com a atividade da enzima glutatona peroxidase.

## REFERÊNCIAS

ADAMSON, C. et al. Glioblastoma multiforme: a review of where we have been and where we are going. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, v. 18, p. 1061-1083, 2009.

- BERNARDI, A. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs inhibit the growth of C6 and U138-MG glioma cell lines. **European Journal of Pharmacology**, v. 532, p. 214-222, 2006.
- BERTOLINI, A. et al. Paracetamol: new vistas of an old drug. **CNS Drug Reviews**, v. 12, p. 250-275, 2006.
- BOGLER, O.; WELLER, M. Apoptosis in gliomas, and its role in their current and future treatment. **Frontiers in Bioscience**, v. 7, p. 339-353, 2002.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of micogram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRANDES, A. A. et al. Glioblastoma in adults. **Critical Reviews in Oncology**, v. 67, p. 139-152, 2008.
- BUTOWSKI, N. A.; SNEED, P. K.; CHANG, S. M. Diagnosis and treatment of recurrent high-grade astrocytoma. **Journal of Clinical Oncology**, v. 24, p. 1273-1280, 2006.
- CASPER, D. et al. Acetaminophen selectively reduces glioma cell growth and increases radiosensitivity in culture. **Journal of Neurooncology**, v. 46, p. 215-229, 2000.
- DEANGELIS L. M. Brain tumors. **New England Journal of Medicine**, v. 344, p. 114-123, 2001.
- FREEMAN, B. A.; CRAPO, J. D. Biology of disease: free radicals and tissue injury. **Laboratory Investigation**, v. 47, p. 412-426, 1982.
- FULLER, G. N.; SCHEITHAUER, B. W. The 2007 Revised World Health Organization (WHO) Classification of Tumours of the Central Nervous System: newly codified entities. **Brain Pathology**, v. 17, p. 304-307, 2007.
- HILL, M. A. et al. Relative sensitivities of repair-deficient mammalian cells for clonogenic survival after alpha-particle irradiation. **Radiation Research**, v. 162, p. 667-676, 2004.
- HUSSAINI, I. M. et al. Protein kinase C-eta regulates resistance to UV- and gamma-irradiation-induced apoptosis in glioblastoma cells by preventing caspase-9 activation. **Neuro-Oncology**, v. 4, p. 9-21, 2002.
- JOKI, T. et al. Expression of cyclooxygenase 2 (COX-2) in human glioma and in vitro inhibition by a specific COX-2 inhibitor, NS-398. **Cancer Research**, v. 60, p. 4926-4931, 2000.
- KANG, K. B. et al. Enhancement of glioblastoma radioresponse by a selective COX-2 inhibitor celecoxib: inhibition of tumor angiogenesis with extensive tumor necrosis. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, v. 67, p. 888-896, 2007.
- LAWRENCE, R. A.; BURK, R. F. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. **Biochemical and Biophysical Research Communication**, v. 71, p. 952-958, 1976.
- LEE, Y. J. et al. Induction of adaptive response by low-dose radiation in RIF cells transfected with Hspb1 (Hsp25) or inducible Hspa (Hsp70). **Radiation Research**, v. 157, p. 371-377, 2002.
- MANSUR, D. B. et al. Radiosensitivity of mammalian cell lines engineered to overexpress cytosolic glutathione peroxidase. **Radiation Research**, v. 155, p. 536-542, 2001.
- MARKLUND, S. L. et al. Radiation resistance



- and the CuZn superoxide dismutase, Mn superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities of seven human cell lines. **Radiation Research**, v. 100, p. 115-123, 1984.
- MILLER, C. R.; PERRY, A. Glioblastoma: morphologic and molecular genetic diversity. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 131, p. 397-406, 2007.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **O problema do câncer no Brasil: Estimativa 2010, Incidência de Câncer no Brasil**. Disponível em: <<http://www.inca.orggov.br>> Acesso em: 16 abr. 2010.
- NEWTON, H. B. Glioblastoma multiforme. **Current Treatment Options in Neurology**, v. 10, p. 285-294, 2008.
- PETERSEN, C. et al. Enhancement of intrinsic tumor cell radiosensitivity induced by a selective cyclooxygenase-2 inhibitor. **Clinical Cancer Research**, v. 6, p. 2513-2520, 2000.
- REARDON, D. A.; WEN, P. Y. Therapeutic Advances in the Treatment of Glioblastoma: Rationale and Potential Role of Targeted Agents. **The Oncologist**, v. 11, p. 152-164, 2006.
- ROCHA, A. B. et al. Radioresistance is associated to increased Hsp70 content in human glioblastoma cell lines. **International Journal of Oncology**, v. 25, p. 777-785, 2004.
- ROSEN, G. M. et al. Free radicals and phagocytic cells. **The FASEB Journal**, v. 9, p. 200-209, 1995.
- SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. **Radicaís livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. Canoas: Ed. Ulbra, 2004.
- SHENOY, M. A.; GOPALAKRISHNA, K. Some mechanisms involved in the radiosensitization of *E. coli* B/r by paracetamol. **International Journal of Radiation Biology and Related Studies in Physics, Chemistry and Medicine**, v. 31, p. 577-587, 1977.
- SKEHAN, P.; STORENG, R.; SCUDIERO, D. New colorimetric assay for anticancer drug screening. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 82, p. 1107-1115, 1990.
- SMITH, W. L.; DEWITT, D. L.; GARAVITO, R. M. Cyclooxygenases: structural, cellular and molecular biology. **Annual Reviews in Biochemistry**, v. 69, p. 145-182, 2000.
- SNEED, P. K. et al. Patterns of recurrence of glioblastoma multiforme after external irradiation followed by implant boost. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, v. 29, p. 719-727, 1994.
- STEWART, L. A. Chemotherapy in adult high-grade glioma: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 12 randomised trials. **Lancet**, v. 359, p. 1011-1018, 2002.
- STUPP, R. et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. **New England Journal of Medicine**, v. 352, p. 987-996, 2005.
- TANRIVERDI, T. et al. Glutathione peroxidase, glutathione reductase and protein oxidation in patients with glioblastoma multiforme and transitional meningioma. **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v. 133, p. 627-633, 2007.
- WEN, P. Y.; KESARI, S. Malignant Gliomas

in Adults. **New England Journal Medicine**, v. 359, p. 492-507, 2008.

WOZNIAK, B. et al. Lipid peroxidation and activity of some antioxidant enzymes in patients with glioblastoma and astrocytoma. **Journal of Neuro-oncology**, v. 81, p. 21-26, 2007.

ZHONG, W. et al. Expression of superoxide dis-

mutases, catalase, and glutathione peroxidase in glioma cells. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 27, p. 1334-1345, 1999.

ZÖLZER, F.; STREFFER, C. Increased radiosensitivity with chronic hypoxia in four human tumor cell lines. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, v. 54, p. 910-920, 2002.