



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

SARAH SANT'ANNA MARANHÃO

**NOVAS ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS PARA O TRATAMENTO DA LEUCEMIA
MIELOIDE AGUDA (LMA): PJOV56, UM AGENTE CAUSADOR DE DANO DE
DNA, E UMA COMBINAÇÃO TERAPÊUTICA ENTRE UM INIBIDOR DE RNA POL
I (CX-5461) E UM INIBIDOR DE CDKS (DINACICLIB)**

FORTALEZA

2020

SARAH SANT'ANNA MARANHÃO

NOVAS ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS PARA O TRATAMENTO DA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA (LMA): PJOV56, UM AGENTE CAUSADOR DE DANO DE DNA; E UMA COMBINAÇÃO TERAPÊUTICA ENTRE UM INIBIDOR DE RNA POL I (CX-5461) E UM INIBIDOR DE CDKS (DINACICLIB)

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Farmacologia. Área de concentração: Ciências Biológicas II.

Orientadora: Profa. Dra. Claudia Pessoa.

FORTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M26n Maranhão, Sarah Sant'Anna.
NOVAS ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS PARA O TRATAMENTO DA LEUCEMIA
MIELOIDE AGUDA (LMA): PJOV56, UM AGENTE CAUSADOR DE DANO DE DNA, E UMA
COMBINAÇÃO TERAPÊUTICA ENTRE UM INIBIDOR DE RNA POL I (CX-5461) E UM
INIBIDOR DE CDKS (DINACICLIB) / Sarah Sant'Anna Maranhão. – 2020.
150 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2020.

Orientação: Prof. Dr. Claudia do Ó Pessoa.

1. LMA. 2. Quinoxalinas. 3. CX-5461. 4. Dinaciclib. 5. C57BL/6. I. Título.

CDD 615.1

SARAH SANT'ANNA MARANHÃO

NOVAS ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS PARA O TRATAMENTO DA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA (LMA): PJOV56, UM AGENTE CAUSADOR DE DANO DE DNA; E UMA COMBINAÇÃO TERAPÊUTICA ENTRE UM INIBIDOR DE RNA POL I (CX-5461) E UM INIBIDOR DE CDKS (DINACICLIB)

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Farmacologia. Área de concentração: Ciências Biológicas II.

Aprovada em: ____/____/_____.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Tiago Veiras Collares
Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

Dr. Ronald Feitosa Pinheiro
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Marcus Vinícius Nora
Farmanguinhos - Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)

Dra. Valdemiro Amaro da Silva Júnior
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)

Dr. Carlos Roberto Koscky Paier
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a orientadora deste trabalho, Profa. Dra. **Claudia do Ó Pessoa**, por acreditar no meu potencial e ter me dado a oportunidade de realizar meu sonho de ser doutora em um Laboratório de excelência nacional. Por ter me apoiado durante todo o processo do doutorado sanduíche na Australian National University (ANU). Por ser tão humana e abraçar seus alunos como filhos. Por toda a vida, levarei ensinamentos seus.

Ao Dr. **Ross Hannan**, *principal investigator* do grupo Hannan, por ter me recebido em seu laboratório e confiado a mim uma pesquisa de suma importância de seu grupo. Aos meus demais supervisores, **Nadine Hein**, **Kate Hannan**, **Amee George** e, em especial, **Rita Ferreira** pela paciência e por todos os ensinamentos.

Ao Prof. Dr. **Manoel Odorico de Moraes** pela contribuição no Laboratório de Oncologia Experimental e por gerir o Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos. Por sempre incentivar a pesquisa e por todos os momentos de descontração.

Ao meu coorientador, **Dr. Carlos Roberto Koscky Paier**, por todo apoio, ajuda e correções acadêmicas.

Aos professores componentes das bancas de qualificação e defesa por estarem disponíveis a ajudar e por acrescentar muito ao meu trabalho.

Ao Prof. **Dr. Marcus Nora** da Farmanguinhos- Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro (Fiocruz-RJ) por disponibilizar a PJOV56 e por ser tão prestativo.

A minha amada família, em especial, meus pais **Livia Sant'Anna** e **Giovanni Maranhão**, meus avós, **Zenaide** e **Jadir Sant'Anna**, e irmãos, **Iuri** e **Sabrina Sant'Anna**, por todo amor, carinho, atenção e incentivo. Sem a força e o apoio deles, eu não teria chegado até aqui.

Ao meu marido e eterno namorado, **Leonardo Barreira Brito**, por todo amor e paciência. Obrigada por ter abraçado os meus sonhos e por tê-los vivido comigo.

Aos companheiros de Austrália, **Daniela Borges**, **Ana Luíza Tinoco**, **Lucas Gomes**, **Maria**, **Léo Tedeschi**, **Jéssica Fenker** e **Renato** por terem se tornado minha família do outro lado do mundo, por todos os momentos de apoio e risadas.

Às amigas queridas, em especial **Lara Figueiredo**, por toda compreensão e apoio.

Aos amigos e também companheiros do **Laboratório de Oncologia Experimental (LOE)**: **Daisy Lima, Cássia Evangelista, Andréa Felinto, Bruno Soares, Augusto César, Daniel Pascoalino, Francilene Silva, Claudia Luciano, Danilo Damasceno, José Neto, Renan Santos, Lucas Brito, Gabriel Gusmão, Cristiana Libardi, Maria Júlia e Washington Barros-Nepomuceno**, por terem tornado meus dias mais leves e divertidos, pelos momentos de descontração e ajuda constante.

Às queridas amigas e mães do LOE: **Silvana França e Adelânia Marinho**, por toda ajuda e cuidado.

Aos componentes da **Pós-graduação em Farmacologia**, em especial **Laura Alves**, por toda a ajuda.

À **Deus e Nossa Senhora de Fátima** por sempre escutarem minhas preces e por não me deixarem desistir.

A todos que, direta ou indiretamente, me ajudaram a trilhar meu caminho e a chegar até aqui.

Este trabalho foi realizado com o auxílio das seguintes instituições:

Universidade Federal do Ceará- **UFC**

Australian National University- **ANU**

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- **CNPq**

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- **CAPES**

Fundação Cearense de Amparo à Pesquisa- **FUNCAP**

“Viver é enfrentar um problema atrás do outro. O modo como você o encara é que faz a diferença.” (Benjamin Franklin)

RESUMO

A leucemia mieloide aguda (LMA) é a doença hematológica de medula óssea mais comum em adultos. O tratamento da LMA tem sido pouco satisfatório, havendo poucas mudanças no regime padrão (citarabina e antraciclinas) de tratamento nos últimos anos; apesar do surgimento de novas terapias, que permanecem pouco adequadas, com uma taxa de sobrevivência ainda baixa. Haja vista tal conjectura, objetivou-se com a presente tese buscar duas novas possibilidades terapêuticas para a LMA. A primeira consiste em uma molécula sintética (PJOV56), pertencente à classe das quinoxalinas que, em estudos anteriores, demonstrou o seu potencial anticâncer induzindo autofagia em células de câncer colorretal (HCT-116). Neste estudo, o potencial antitumoral da PJOV56 foi avaliado contra células leucêmicas. A molécula demonstrou ser mais ativa contra células de LMA, induzindo dano de DNA em células KG1, desencadeando a ativação de componentes cruciais das vias de resposta ao dano de DNA, como as proteínas H2AX, CHK1 e CHK2, com consequente parada de ciclo celular nas fases G₀/G₁ ou S e desencadeamento do processo apoptótico. A PJOV56 exibiu-se como uma molécula segura com poder genotóxico reduzido em células não tumorais, avaliado pela formação de micronúcleo e dano de DNA apenas em concentrações 30 vezes superiores aos valores de IC₅₀ em células tumorais. Além disso, não induziu toxicidade em animais saudáveis C57BL/6 após doses escalonadas de 35mg/Kg. A segunda forma de tratamento proposta consiste em uma combinação terapêutica entre um inibidor de RNA Pol I (CX-5461) e um inibidor de CDKs (Dinaciclib) que, em estudos anteriores, demonstraram eficácia terapêutica com aumento da sobrevivência sobre as monoterapias em modelos animais singênicos de LMA. Comprovou-se, portanto, neste estudo, o mecanismo pelo qual essa combinação atua *in vivo* através de análises em células da medula óssea e baço em diferentes tempos de tratamento, utilizando dois modelos murinos de LMA MLL/ENL e AML1/ETO9 Nras p53WT. Os resultados confirmaram a inibição dos alvos específicos RNA Pol I e CDK9 com redução da carga tumoral e desencadeamento do processo apoptótico, comprovado por clivagem da caspase 3 e PARP, externalização da fosfatidilserina e parada do ciclo celular. Desse modo, foi possível validar duas novas terapias com potencial para o tratamento da LMA em modelos pré-clínicos.

Palavras-chave: LMA. Quinoxalinas. CX-5461. Dinaciclib. *In vivo*. C57BL/6.

ABSTRACT

NEW THERAPEUTIC STRATEGIES FOR THE TREATMENT OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA (AML): PJOV56, A DNA DAMAGE AGENT AND A COMBINATION OF POLYMERASE I (CX-5461) AND CDK (Dinaciclib) INHIBITORS

Acute myeloid leukemia (AML) is the malignant hematologic disease most common in adults characterized by clonal proliferation of immature myeloid cells in the peripheral blood, bone marrow and other tissues. Treatment for AML has been less than optimal with little changes in the standard induction regimen (anthracycline and cytarabine) over the past 40 years. AML treatment landscape has been changing with new therapies emerging in recent years, however such progress remains unsatisfactory with a low survival rate. Therefore, the constant search for new therapies or drug combinations that can assist AML treatment. In this thesis, we present two new approaches to treat AML. The first consists of a small synthetic quinoxaline synthesized in Brazil. In previous studies, PJOV56 showed an antineoplastic potential by inducing autophagy in colorectal cancer cells (HCT-116). In the present study, PJOV56 exhibited better cytotoxic activity in AML cell lines, inducing DNA damage in KG1 cells. The activation of DNA damage response pathways included phosphorylation of H2AX, CHK1 and CHK2 with consequent cell cycle arrest in G₀/G₁ and S phases, triggering apoptotic process. PJOV56 also showed safety with reduced genotoxicity in healthy cells (inducing micronucleus formation and DNA damage only at concentrations thirty times higher than the tumor cells IC₅₀ values). In addition, the molecule did not induced toxicity in C57BL/6 healthy mice. The second treatment proposed consists of a combination therapy between and RNA Pol I inhibitor (CX-5461) and an CDKs inhibitor (Dinaciclib). Combination therapy, previously tested in a syngeneic AML mouse model that predicts human response MLL/ENL Nras p53WT, led to a survival benefit indicative of a synergistic effect. Here the molecular mechanism underlying this phenomenon was evidenced *in vivo* by drugs target inhibition, triggering of apoptotic process with capase 3 and PARP cleavage and phosphatidylserine externalization and cell cycle arrest. Along with the combination therapeutic efficacy was proven in another AML mouse model beyond a MLL rearrangement, AML1/ETO9 Nras p53WT. Thus, this thesis suggests two new therapeutic approaches to potentially treat AML.

Keywords: AML. Quinoxalines. CX-5461. Dinaciclib. *In vivo*. C57BL/6.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Esquema dos principais tipos de leucemias.**Error! Bookmark not defined.**
- Figura 2.** Estimativas de incidência e mortalidade de pacientes com LMA nos EUA baseado em sexo e idade.w **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 3 -** Hematopoese normal e leucêmica. **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 4 -** Mapa de distribuição de estudos clínicos que estão ocorrendo no mundo e que envolvem a leucemia mieloide aguda (LMA)..... **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 5 -** Vias de respostas ao Dano de DNA (DDR).**Error! Bookmark not defined.**
- Figura 6 -** Moléculas bioativas que apresentam o núcleo quinoxalínico..... **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 7-** Visão geral das maquinarias das RNA polimerases I, II, III. **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 8-** Esquema geral da biogênese de Ribossomos.**Error! Bookmark not defined.**
- Figura 9-** Representação esquemática da via de estresse nucleolar. **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 10-** Representação molecular do inibidor de RNA Pol I, CX-5461. **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 11-** Representação molecular dos inibidores de CDKs, Dinaciclib e Flavopiridol. **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 12-** Esquema da geração de modelo murino geneticamente modificado baseado em alterações genéticas comuns a humanos.**Error! Bookmark not defined.**
- Figura 13 -** Categorias de dano. **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 14-** Representação molecular da quinoxalina PJOV56.**Error! Bookmark not defined.**
- Figura 15-** Representação esquemática do efeito da PJOV56 em células HCT-116. **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 16.** Avaliação citotóxica in vitro da quinoxalina PJOV56 em linhagens de LMA humanas. **Error! Bookmark not defined.**
- Figura 17 -** Análise microscópica de células KG1 após o tratamento com a quinoxalina PJOV56. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 18 - Avaliação do diâmetro celular e do número de células após o tratamento com a quinoxalina PJOV56. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 19 - Avaliação dos efeitos da PJOV56 na viabilidade de células KG1 após o tratamento com a PJOV56. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 20 - Efeitos da PJOV56 na progressão do ciclo celular de células KG1. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 21 - Avaliação da expressão de proteínas ligadas as vias de sinalização de dano de DNA de células KG1 após tratamento com PJOV56.**Error! Bookmark not defined.**

Figura 22 - Avaliação da formação de focos de p-H2AX no núcleo células KG1 após 1h tratamento com PJOV56. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 23 - Avaliação da formação de focos de p-H2AX no núcleo de células KG1 após 3h tratamento com PJOV56..... **Error! Bookmark not defined.**

Figura 24 - Avaliação da formação de focos de p-H2AX no núcleo de células KG1 após 6h tratamento com PJOV56..... **Error! Bookmark not defined.**

Figura 25. Estudo eletroquímico da interação entre PJOV56 e dsDNA. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 26 – Avaliação do potencial genotóxicos da PJOV56 em células não tumorais. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 27 - Determinação do perfil físico-químico da PJOV56.**Error! Bookmark not defined.**

Figura 28 – Toxicologia inicial da PJOV56 in vivo em camundongos C57BL/6. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 29 - Análise de sobrevivência da combinação terapêutica CX-5461 e Flavopiridol no modelo de LMA MLL/ENL Nras p53WT.**Error! Bookmark not defined.**

Figura 30 - Análise de sobrevivência para a combinação terapêutica do CX-5461 e Dinaciclib no modelo murino de LMA MLL/ENL Nras p53WT.**Error! Bookmark not defined.**

Figura 31 - Mecanismo de ação do CX-5461 e do Dinaciclib**Error! Bookmark not defined.**

Figura 32 – Confirmação do engraftment da LMA MLL/ENL Nras p53WT em camundongos C57BL/6. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 33 – Efeitos terapêuticos e inibição de alvos específicos do CX-5461 e do dinaciclib no baço e na medula óssea depois de 3h de dosagem.**Error! Bookmark not defined.**

Figura 34 - Efeitos da terapia combinatória na morte celular no baço e medula óssea após 3h de tratamento..... **Error! Bookmark not defined.**

Figura 35 - Efeitos terapêuticos combinatórios após 10h de tratamento na medula óssea e no baço de animais C57BL.6 com AML MLL/ENL Nras p53WT..... **Error! Bookmark not defined.**

Figura 36 - Efeitos da combinação terapêutica na inibição de alvo específico na medula óssea e baço após 10h de tratamento..... **Error! Bookmark not defined.**

Figura 37 - Efeitos da combinação terapêutica na viabilidade celular e distribuição do ciclo celular de células provenientes da medula óssea e baço.**Error! Bookmark not defined.**

Figura 38 - Avaliação do hemograma completo dos animais após 10h de tratamento. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 39 - Efeitos da terapia combinatória na carga tumoral da medula óssea, baço e sangue periférico de animais com AML/ETO Nras p53WT após 24h de tratamento **Error! Bookmark not defined.**

Figura 40 - Efeitos da combinação terapêutica no baço, medula óssea e sangue periférico de animais com LMA AML/ETO Nras p53WT após 48h de tratamento. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 41. Representação esquemática do provável mecanismo de ação da PJOV56 baseado neste estudo e em estudos anteriores..... **Error! Bookmark not defined.**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estratificação atual de alterações genéticas e citogenéticas de acordo com as recomendações da ELN. **Error! Bookmark not defined.**

Tabela 2 - Agentes causadores de dano de DNA utilizados na quimioterapia do câncer **Error! Bookmark not defined.**

Tabela 3 - Classificação e características das Linhagens celulares humanas de leucemias..... **Error! Bookmark not defined.**

Tabela 4 - Linhagens celulares humanas de leucemias e suas condições de cultura. **Error! Bookmark not defined.**

Tabela 5 - Critérios para avaliação diária dos animais após indução de LMA..... **Error! Bookmark not defined.**

LISTA DE ABREVIATURA

ACS	American Cancer Society
Allo-HSCT	<i>Allogenic Hematopoietic Transplantation</i>
ANOVA	Análise de Variância
ANU	<i>Australian National University</i>
AVOs	<i>Acidic vacuolar organelles</i>
BCRJ	Banco de Células do Rio de Janeiro
BM	<i>Bone Marrow /Medula Óssea</i>
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
CHK1	<i>Checkpoint kinase 1</i>
CHK2	<i>Checkpoint kinase 2</i>
CI50	Concentração Inibitória Média

DDR	<i>DNA damage response</i>
DMEM	<i>Dulbecco's modified Eagle's Medium</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ELN	<i>European LeukemiaNet</i>
FBS	Fetal Bovine Serum
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FSC	<i>Forward Scatter</i>
GFP	<i>Green Fluorescent Protein</i>
HSCs	<i>Hematopoietic stem cells</i>
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LLA	Leucemia Linfóide Aguda
LLC	Leucemia Linfóide Crônica
LMA	Leucemia Mieloide Aguda
LMC	Leucemia Mieloide Crônica
LOE	Laboratório de Oncologia Experimental
LSCs	<i>Leukemic stem cells</i>
MLL	<i>Mixed Lineaged Leukaemia</i>
MMP	Potencial da membrana mitocondrial
mRNA	RNA mensageiro
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil- brometo de tetrazólio
NCI	National Cancer Institute
nm	Nanometers
Nras	Oncogene que primariamente regula a divisão celular
p53WT	Gene supressor tumoral <i>wild type</i>
PBS	Phosphate Buffer Solution
PI	<i>Propidium Iodide</i>
rDNA	DNA ribossômico
rpm	Rotações por minuto
RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medium

ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
rRNA	RNA ribossômico
RT	<i>Room Temperature/</i> Temperatura Ambiente
SEC	<i>Super Elongation Complex</i>
SD	<i>Standard Deviation/</i> Desvio Padrão da Média
SSC	Side Scatter
tRNA	RNA transportador
UV	Ultravioleta
WHO	World Health Organization
μM	Micromolar
γH2AX	H2AX fosforilado na Ser139

SUMÁRIO

1.	CAPÍTULO 1: Introdução.....	Error! Bookmark not defined.
1.1	Câncer.....	Error! Bookmark not defined.
1.2	Leucemia Mieloide Aguda	Error! Bookmark not defined.
1.3	Fisiopatologia da LMA.....	Error! Bookmark not defined.
1.4	Classificação e Heterogeneidade.....	Error! Bookmark not defined.
1.5	Tratamento e Desafios.....	Error! Bookmark not defined.
1.6	Dano ao DNA e a terapia antitumoral com agentes causadores de dano ao DNA	Error! Bookmark not defined.
1.7	Quinoxalinas como agentes antitumorais	Error! Bookmark not defined.

1.8	A desregulação da transcrição e o câncer	Error! Bookmark not defined.
1.9	A nova geração de inibidores de CDKs	Error! Bookmark not defined.
2.	CAPÍTULO 2: METODOLOGIA.....	Error! Bookmark not defined.
2.1	Materiais.....	Error! Bookmark not defined.
2.2	Cultura de Células.....	Error! Bookmark not defined.
2.3	Compostos para os estudos.....	Error! Bookmark not defined.
2.4	Dose resposta <i>in vitro</i>	Error! Bookmark not defined.
2.5	Estudos de morfologia celular.....	Error! Bookmark not defined.
2.6	Estudos <i>in vivo</i>	Error! Bookmark not defined.
2.7	PCR em tempo real.....	Error! Bookmark not defined.
2.8	Análise da imunofenotipagem, viabilidade celular e padrão de morte celular utilizando análise de Citometria de fluxo	Error! Bookmark not defined.
2.9	Análise de Dano de DNA através de imunofluorescência e microscopia de fluorescência	Error! Bookmark not defined.
2.10	Análise do perfil de expressão proteica através da técnica de <i>Western Blot</i> Error! Bookmark not defined.	
2.11	Avaliação do dano de DNA causado em células não tumorais utilizando o ensaio do cometa.	Error! Bookmark not defined.
2.12	Avaliação da formação de micronúcleos em células não tumorais.....	Error! Bookmark not defined.
2.13	Análise inicial do perfil farmacocinético da PJOV56 através do estudo da estabilidade química e plasmática	Error! Bookmark not defined.
2.14	Análise da interação eletroquímica da PJOV56 com o DNA	Error! Bookmark not defined.
3.	CAPÍTULO 3: Efeito antitumoral da PJOV56, um novo agente causador de dano de DNA, em células de LMA.....	Error! Bookmark not defined.
3.1	Resultados Prévios	Error! Bookmark not defined.
3.2	Objetivos	Error! Bookmark not defined.
3.3	Resultados	Error! Bookmark not defined.

3.4	Discussão	Error! Bookmark not defined.
4.	CAPÍTULO 4: Nova combinação terapêutica no tratamento da LMA: um Inibidor de RNA Pol 1 (CX-5461) em associação com um inibidor de CDKs (Dinaciclib)	Error! Bookmark not defined.
	Bookmark not defined.	
4.1	Resultados Prévios	Error! Bookmark not defined.
4.2	Objetivos	Error! Bookmark not defined.
4.3	Resultados	Error! Bookmark not defined.
4.4	Discussão	Error! Bookmark not defined.
5.	Considerações finais	Error! Bookmark not defined.
6.	REFERÊNCIAS	Error! Bookmark not defined.
	Anexo A- Soluções, reagentes e kits.....	Error! Bookmark not defined.
	Anexo B- Padronização do experimento de eletroquímica	Error! Bookmark not defined.