

Inibição da adesão de células de tumor de mama por ALT-C, uma desintegrina do veneno de *Bothrops alternatus*, ao colágeno I

Milene N. O. Moritz¹, Victória B. D. Agostinho², Heloísa S. S. Araujo³.

1. Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Genética Evolutiva e Biologia Molecular da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos/SP; *milenemoritz@gmail.com
2. Estudante de IC do Depto. de Ciências Fisiológicas, UFSCar, São Carlos/SP
3. Pesquisadora do Depto. de Ciências Fisiológicas, UFSCar, São Carlos/SP

Palavras Chave: *desintegrina, colágeno tipo I, câncer de mama.*

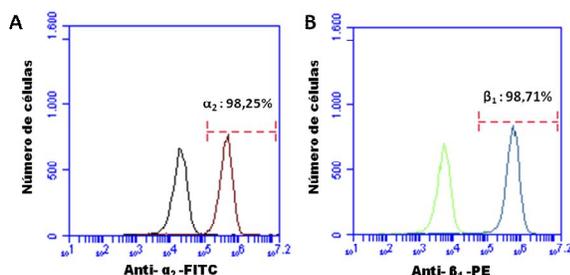
Introdução

A capacidade das células para aderirem à matriz extracelular é central para a manutenção da estrutura dos tecidos e migração celular. Nesse contexto, as integrinas estão envolvidas como importantes moléculas de adesão. Um dos tumores mais comuns em mulheres é o de mama que se caracteriza pela frequente metástase em tecidos ósseos. Uma possibilidade que poderia explicar a seletividade ao osso é que as células tumorais expressam integrinas que facilitam a sua adesão às proteínas presentes na matriz extracelular do osso, principalmente ao colágeno, abundante na matriz óssea. Estudos recentes tem demonstrado uma relação entre uma maior expressão da integrina $\alpha_2\beta_1$, um receptor de colágeno, e o desenvolvimento de metástases. Dessa forma, compreender os mecanismos pelos quais essa integrina promove o tumor pode proporcionar um importante alvo para intervenções farmacológicas para a prevenção de metástases. Este estudo tem por objetivo avaliar o efeito da ALT-C, um proteína ligante da integrina $\alpha_2\beta_1$ purificada do veneno da serpente *Bothrops alternatus*, na inibição da adesão ao colágeno I (Col I) por células tumorais de mama (MDA-MB 231), comparado ao efeito em células de mama não tumorais (MCF-10A). Foram utilizadas as concentrações de 10 nM, 100 nM e 1000 nM de ALT-C em ensaio de adesão estática ao Col I. A linhagem celular MDA-MB 231 foi cultivada em meio DMEM e a linhagem MCF-10A em DEMEM/F12 ambos suplementados com soro fetal bovino e antibiótico. Para análise estatística, utilizou-se o teste ANOVA seguido de Tukey pelo programa GraphPad Prism 5.0.

Resultados e Discussão

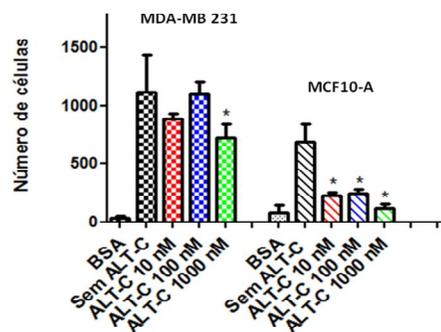
As duas linhagens celulares foram caracterizadas para a expressão das subunidades α_2 e β_1 por citometria de fluxo. Observa-se que cerca de 100% da população celular apresenta α_2 e β_1 , tanto as células tumorais (Fig. 1) como as não tumorais (dados não mostrados).

Figura 1. Citometria de Fluxo da linhagem tumoral de mama MDA-MB 231. A: Controle não marcado vs células marcadas para α_2 . B: Controle não marcado vs células marcadas para β_1 .



Para o ensaio de adesão, 10 μ g/mL de Col I foi imobilizado em placas de 96 poços e 10^4 células mamárias tratadas previamente ou não com ALT-C foram incubadas por 45 min para interagirem com o Col I. Em seguida, os poços foram lavados com PBS, para retirada das células não aderidas. As células foram fixadas com formaldeído e os núcleos corados com DAPI. As imagens foram adquiridas por microscópio de fluorescência automatizado (ImageXpress[®]) e os dados analisados pelo software MetaXpress. Para controle negativo foi usado BSA, e como controle positivo foram usadas células de mama não tratadas com ALT-C.

Figura 2. Inibição de células mamárias ao Col I *Valores significativos em relação ao Controle +(ANOVA/ Tukey).



Observa-se que a ALT-C só inibiu a adesão das células tumorais ao colágeno na concentração de 1000 nM e as células não tumorais foram significativamente inibidas em todas as concentrações de ALT-C, mostrando serem mais sensíveis a essa desintegrina. Uma hipótese para esse fato é que as células tumorais apresentam maior aderência ao Col I devido à existência de outros receptores que foram insensíveis à ALT-C. Para comprovar essa hipótese será realizada a caracterização da expressão de outras integrinas para as duas linhagens celulares.

Conclusões

A desintegrina ALT-C inibe a adesão das células de mama ao colágeno tipo I. A linhagem não tumoral apresenta-se mais sensível à ALT-C em relação às células tumorais.

Agradecimentos

Ao apoio financeiro: CAPES e FAPESP.

GEIGER, B.; YAMADA, K. *Molecular Architecture and Function of Matrix Adhesions*. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, v. 3, n. 5, 2011.

SELISTRE-DE-ARAUJO, H. et al. *Snake Venom Disintegrins and Cell Migration*. Toxins, v. 2, n. 11, p. 2606-2621, 2010.