

Efeito da DisBa-01, uma desintegrina recombinante, na progressão tumoral de mama *in vitro*

Rafael Luis Bressani Lino^{1*}, Kelli Cristina Micocci², Heloisa Sobreiro Selistre-de-Araújo³

1. Estudante de Iniciação Científica da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar; *rafael.bressani.lino@gmail.com
2. Doutora em Ciências Fisiológicas pela Universidade Federal de São Carlos, UFSCar, São Carlos/SP
3. Docente Pesquisador do Departamento de Ciências Fisiológicas, UFSCar, São Carlos/SP

Palavras Chave: Câncer de mama, Integrinas, DisBa-01

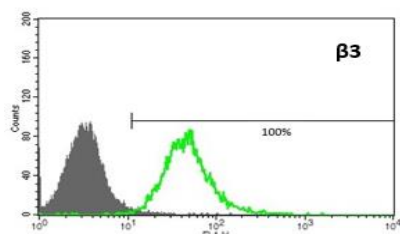
Introdução

O câncer é uma doença multifatorial crônica que abrange um conjunto de mais de 100 tipos. No Brasil, a estimativa para o ano de 2014 apontou uma ocorrência de aproximadamente 576 mil novos casos, sendo que, nas mulheres o mais prevalente foi o câncer de mama (INCA, 2014). A progressão tumoral é um processo complexo que inclui o crescimento do tumor, a migração, invasão, angiogênese e metástase, sendo esta a principal causa de morbidade e mortalidade em pacientes com câncer (YAN & HUANG, 2012). Neste contexto, o desenvolvimento de novas estratégias para o diagnóstico e a terapia oncológica são fundamentais (PAVELIC *et al.*, 2011; YAN & HUANG, 2012). Nesta perspectiva, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da DisBa-01, uma desintegrina-RGD derivada do veneno da serpente *Bothrops alternatus*, como possível molécula antitumoral por suas propriedades antiadesivas.

Resultados e Discussão

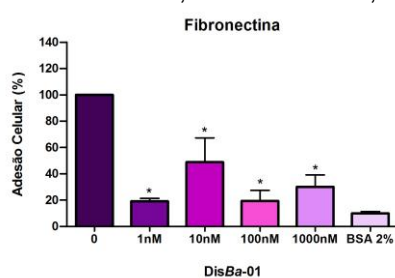
A desintegrina DisBa-01, derivada do veneno da serpente *Bothrops alternatus* e ligante da integrina $\alpha\beta 3$ foi obtida através do processo de expressão heteróloga em *Escherichia coli* e purificação, já estabelecidas em nosso laboratório. Os ensaios foram realizados em uma linhagem de câncer murino denominada 4T1BM2 CH11 proveniente do *Metastasis Research Laboratory, Peter MacCallum Cancer Center/East* - Melbourne, Austrália.

Figura 1. Caracterização da subunidade de integrina $\beta 3$ na linhagem tumoral 4T1BM2 CH11. A leitura foi realizada em citômetro de fluxo (FACSCalibur-BD). A curva preenchida representa o controle não marcado do experimento.



A caracterização por citometria de fluxo, nos mostrou que 100% da população celular apresenta a subunidade de integrina $\beta 3$ (Figura 1).

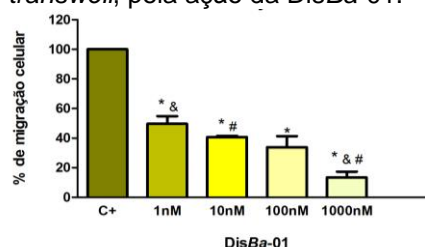
Figura 2. Efeito da DisBa-01 na inibição da adesão de células tumorais de mama, 4T1BM2 CH11, à fibronectina.



A DisBa-01 foi capaz de reduzir significativamente a adesão da linhagem tumoral à fibronectina em todas as concentrações testadas (1 nM, 10 nM, 100 nM e 1000 nM) (Figura 2). Também avaliou-se a adesão desta linhagem à vitronectina, colágeno I e III e à Laminina, porém não houve redução significativa.

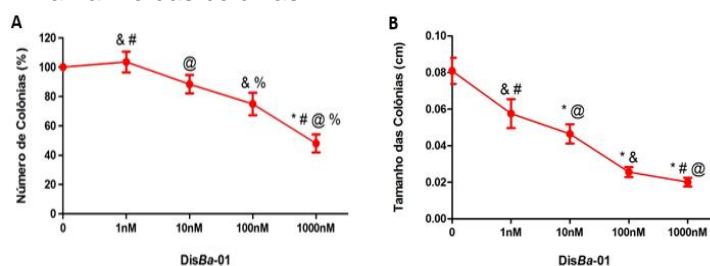
Quanto à migração celular em *transwell*, a DisBa-01, diminuiu a mobilidade celular em todas as concentrações testadas (1 nM, 10 nM, 100 nM e 1000 nM) (Figura 3).

Figura 3. Diminuição da migração de células 4T1BM2 CH11 em *transwell*, pela ação da DisBa-01.



Para avaliar a habilidade citostática e citotóxica da DisBa-01 sobre as células 4T1BM2 CH11, realizou-se um ensaio de formação de colônia. Observou-se que a DisBa-01 apresenta capacidade de diminuir significativamente tanto o número de colônias (Figura 4A), quanto o tamanho das mesmas (Figura 4B) nas concentrações testadas (1nM, 10nM, 100nM e 1000nM).

Figura 4. Ensaio Clonogênico. A. Número de Colônias. B. Tamanho das colônias.



Conclusões

A DisBa-01 modula as respostas celulares tumorais de mama como migração celular, adesão à matriz extracelular e formação de colônia, sugerindo sua atuação como possível alvo antitumoral através da integrina $\beta 3$.

Agradecimentos

Financiamento: FAPESP (Processo 2014/02173-2) e CNPq INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER – INCA (Brasil). O que é o Câncer. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322. Acesso em: 25/03/2015. PAVELIC KRALJEVIC, S.; SEDIC, M.; BOSNJAK, H.; SPAVENTI, S.; PAVELIC, K. Metastasis: new perspectives on an old problem. *Mol. Cancer*. 10: 22, 2011. YANG, J., HUANG, Q. Genomics screens for metastasis genes. *Cancer Metastasis Rev.* 31 (3-4): 419-428, 2012.