

O tamponamento do cálcio nuclear reduz angiogênese tumoral em câncer de mama triplo negativo.

Rodrigo M. Florentino^{1*}, Erika S. Guimarães², Clarissa C. Coelho³, Ana Cândida A. e Silva⁴, Brígida Almeida⁵, Puebla Cassini⁶, Luciana Drumond⁷, Carlos Gonçalves⁸, Gabriel Fernandes⁹, Lucíola Barcelos¹⁰, Márcio Moraes¹¹, Miguel Ortega¹², André A. Oliveira¹³ e Maria de Fátima Leite¹⁴.

1 Estudante de IC da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG *machadoflorentino@gmail.com

2 Doutora do Departamento de Medicina Molecular da Faculdade de Medicina da UFMG

3 Graduada em Farmácia pela Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG

4 5 6 7 8 Pesquisador do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

9 Professor da Universidade Católica de Brasília

10 11 12 13 14 Professor do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

Palavras Chave: cálcio nuclear, angiogênese tumoral, CXCL10.

Introdução

O câncer de mama é o tumor com maior número de novos casos e o terceiro em número de mortes, segundo o *National Cancer Institution, 2015*. Entre os vários subtipos de tumores mamários, o triplo negativo (TNBC), caracterizado pela ausência da expressão de receptores de estrogênio e progesterona e super-expressão de HER2, é considerado um dos mais graves por apresentar uma alta taxa de recidiva. Por não apresentarem sensibilidade às terapias hormonais existentes atualmente, a busca por novos alvos terapêuticos para o TNBC se torna extremamente relevante. Nesse contexto, a angiogênese se destaca como uma etapa importante pois é dela que se estabelece o desenvolvimento do tumor primário, além de ser a principal rota para o desenvolvimento de metástase [1], evento responsável por 90% das mortes em cânceres em geral. O cálcio surge como um potencial alvo terapêutico pois é responsável pela regulação de diversas funções celulares. A regulação desses eventos tão diversos é dependente do compartimento celular no qual o sinal é gerado [2]. Nesse sentido, o papel do cálcio nuclear como regulador da transcrição gênica, progressão do ciclo celular e proliferação é amplamente descrito [3]. O presente trabalho tem como objetivo investigar os efeitos do tamponamento do cálcio nuclear em adenocarcinoma mamário.

Resultados e Discussão

A construção adenoviral (IP3-sponge-NLS) foi utilizada para o tamponamento de Inositol 1,4,5-trisfosfato (InsP₃) nuclear. Utilizamos também experimentos de microscopia confocal, experimentos *in vivo* (CEUA 88/2013) de indução tumoral e avaliação do volume e peso tumorais além de colorações histológicas e histoquímicas para avaliação da área de necrose, proliferação celular e a angiogênese. Para desvendar o mecanismo pelo qual o cálcio nuclear regula a angiogênese, foi realizada avaliação do transcriptoma (RNASeq) e análises de bioinformática.

Nossos resultados mostram que o tamponamento do InsP₃ pelo IP3-sponge-NLS leva à ablação dos sinais de cálcio no núcleo das células tumorais (Controle = 169,5 % ± 35 %; IP3-sponge-NLS = 6,889 % ± 1 %) e reduz o crescimento tumoral *in vivo* (Controle = 837,1 ± 136; IP3-sponge-NLS = 519,2 ± 25). A formação tumoral é um processo altamente balanceando entre sinais de sobrevivência e morte e, nesse caso, a redução dos tumores ocorre, provavelmente, devido ao aumento da área de necrose (Controle = 27,33 % ± 4 %; IP3-sponge-NLS = 72,18 % ± 14 %) e da diminuição da proliferação das células tumorais, em consequência do tamponamento do cálcio nuclear (Controle = 2796 células ± 337; IP3-sponge-NLS = 1583 células ± 112). Esse desbalanço pode ser justificado pela indisponibilidade de nutrientes e oxigênio devido à ausência de um aporte vascular adequado. Realmente, o tamponamento do cálcio nuclear reduz o influxo sanguíneo nos tumores (Controle = 1,375 a.u. ± 0,19; IP3-sponge-NLS = 0.6050 a.u. ± 0.076.) e o número de vasos *in vivo* (Controle = 256,8 vasos ± 22; IP3-sponge-NLS = 140 vasos ± 7), confirmando a participação do cálcio nuclear como importante regulador da angiogênese tumoral. Para desvendar o mecanismo através do qual o cálcio nuclear regula a angiogênese em TNBC, análise de RNASeq foi realizada. O tamponamento do cálcio altera a expressão gênica em TNBC e a construção de uma via ligando os principais genes altamente regulados e o processo angiogênico apontou a superexpressão da proteína induzida por Interferon Gama (CXCL10/IP-10) como o principal responsável pelo efeito angiostático do tamponamento do cálcio nuclear, fato este comprovado por meio de *real time* PCR e ELISA.

Conclusões

O tamponamento do cálcio nuclear reduz a angiogênese tumoral em câncer de mama triplo negativo através do aumento da expressão de CXCL 10.

Agradecimentos

Fapemig, Capes e CNPq



Figura 1. Construção IP3-sponge-NLS utilizada para tamponar o cálcio nuclear.

[1] Zetter, 1998 [2] Leite, 2003 [3] Leite, 2013