



AVALIAÇÃO *IN VITRO* DA AÇÃO DE PEPTÍDEOS CÍCLICOS NA ADESÃO CELULAR DA LINHAGEM B16-F10 EM FIBRONECTINA E BSA

Paula M. Cunha, Francielle B. Ferraz, Jorge H. Fernandez.

As integrinas são conhecidamente uma família de macromoléculas que interagem fisicamente com a matriz extracelular mediando adesão, migração, proliferação, sobrevivência celular e ainda, eventos sinalizadores essenciais. A matriz extracelular interage com integrinas e assim, afeta o comportamento celular, como por exemplo, promovendo adesão e migração celular. Dentre as integrinas conhecidamente associadas a processos de adesão e migração celular estão $\alpha 6\beta 1$, receptor majoritário para família das lamininas, $\alpha 11\beta 3$, receptor de colágeno e, $\alpha 5\beta 1$, que se ligam à fibronectina. Baseados no *loop* interativo das ADAMs foram desenvolvidos em *in silico* os peptídeos A9a, A9e e A9s capazes de interagir especificamente com as integrinas *in vitro* e *in vivo*, sendo capazes de interromper a comunicação entre células e matriz. Então, tem-se o objetivo de avaliar a capacidade estimulatória e/ou inibitória da adesão de células da linhagem metastática B16-F10 *in vitro* por meio de teste de adesão celular frente a diferentes concentrações de A9a, A9e e A9s. Para isso, células B16-F10 foram cultivadas em DMEM-F12+10%SFB e, mantidas a 37°C e 5% CO₂. Com culturas previamente estabelecidas, foram realizados testes de adesão celular onde placas de 96 poços foram incubadas *overnight* a 4°C com 5µg/ml de laminina, fibronectina ou colágeno e BSA 1%. Logo, foram plaqueadas 1x10⁵ células por poço e adicionados 1uM de A9a, A9e ou A9s e, incubadas por 2hs a 37°C e 5% CO₂. Células aderidas foram fixadas com glutaraldeído, coradas com cristal violeta que posteriormente, foi eluído com ácido acético. Cada variável foi analisada em octuplicata por absorbância (570nm). Foram observados valores estatisticamente significativos quando administrado A9s, que proporcionou redução de 52% na adesão celular em fibronectina enquanto A9a proporcionou redução de 32% nessa mesma matriz celular. Em BSA, também foram observados valores estatisticamente significativos quando administrado A9s, que reduziu 62,5% da



adesão celular, enquanto A9e de 32%. E, A9e e A9a não demonstraram valores estatisticamente significativos para fibronectina e BSA respectivamente. O EDTA proporcionou menor adesão celular quando comparado ao controle positivo, contudo não pode ser comparado à ação dos peptídeos cíclicos neste estudo. Desse modo, sugere-se que o inibidor A9s seja capaz de se ligar e interferir nas funções celulares como adesão, atribuindo uma possível função terapêutica anti-metastática.

Palavras-chave: Linhagem B16-F10, Integrinas, Peptídeos cíclicos.

Fomento: FAPERJ.