



A2CN NA MODULAÇÃO DE BKCa E SUA INFLUÊNCIA NAS CARACTERÍSTICAS INVASIVAS DE CÉLULAS TUMORAIS

Lucas E.L. Terceiro^{1*}, Aliny P. Vasconcelos¹, Jader S. Cruz², Mário L.A.A. Vasconcellos¹, Demetrius A. M. Araújo¹

¹Laboratório de Biotecnologia Celular e Molecular, UFPB; ²UFMG.

*lucaselt.sk@outlook.com

RESUMO

Introdução: Apesar dos avanços e desenvolvimento da ciência e tecnologia na área da saúde, a incidência e mortalidade por câncer continuam aumentando, consistindo em um dos maiores problemas de saúde pública. Sendo assim, os Adutos de Morita-Baylis-Hillman vêm ganhando destaque nas pesquisas farmacológicas por apresentarem diversos efeitos biológicos promissores no tratamento do câncer. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do AMBH: A2CN em células de câncer de mama triplo-negativo (4T1), nas respostas relacionadas a invasão celular. Além de verificar se os efeitos estariam relacionados com a modulação de canais de potássio ativados por cálcio de grande condutância (BKCa). **Metodologia:** Foram realizados experimentos para determinação da CI_{50} na linhagem 4T1 através do método de redução de MTT. Posteriormente, foram realizados ensaios de proliferação, migração, adesão e invasão celular para observar os efeitos celulares modulados pelo composto. Além disso, foi realizado registros eletrofisiológicos de correntes de potássio do tipo BKCa. Para isso, foi utilizada a técnica de patch-clamp no modo whole cell, em que após estabilidade do selo ($>1G\Omega$) foram disparados pulsos despolarizantes de -60 mV a +80mV, com 15 segundos de intervalo. **Resultados:** Os resultados mostraram que, o composto após 72 h de tratamento apresentou CI_{50} igual a $28,8 \pm 2,3\mu M$, em 24 h o $CI_{50} > 200\mu M$, apresentando efeito dose e tempo dependentes. A taxa de proliferação celular foi reduzida sendo que concentrações de 25, 12,5 e $6,25\mu M$ o composto reduziu a proliferação em 98,7, 74,9 e 44,5% comparado ao controle não

tratado. Na migração celular, o A2CN nas concentrações de 12,5 e $50\mu M$ apresentou efeito inibitório no fechamento da ferida, após 16 h. Nos ensaios de adesão celular, A2CN à $50\mu M$, apresentou inibição da adesão de aproximadamente 25% e 20%, nas matrizes de laminina e fibronectina, respectivamente. Além disso, concentrações crescentes de A2CN demonstraram causar modificações morfológicas nas células. Utilizando um modelo tridimensional para avaliação de metástase in vitro, foi possível observar que o A2CN reduziu o processo de invasão celular. Ocorreu uma inibição da área invadida pelas células nas concentrações de 12,5, 25 e $50\mu M$ correspondente a 70,8%, 93,2% e 98,5%, respectivamente. A amplitude de correntes de potássio foi medida na situação controle, bem como na presença de 100nM de Iberotoxina (IBX), $50\mu M$ de A2CN, e IBX mais A2CN. Na presença de IBX a amplitude de corrente de potássio (Ik) foi reduzida de 297,9 pA para 99,7 pA. Apresentando uma inibição de $61,27 \pm 2,49\%$ caracterizando como componente majoritário do registro de corrente de potássio do tipo BKCa. Na presença de $50\mu M$ de A2CN a inibição de corrente foi de $60,53 \pm 5,04\%$ quando comparados com o controle. Para avaliar se a redução da Ik na presença do A2CN está sendo mediada por BKCa, foram obtidos registros de Ik com incubação de IBX mais A2CN e observou-se uma inibição de corrente de $67,6 \pm 4,96\%$. Sendo assim, pode-se concluir que o A2CN apresentou atividade anticâncer e foi capaz de atuar de forma inibitória em processos celulares responsáveis pela malignificação da doença.