

XIV Salão Iniciação Científica da PUCRS

Mecanismos de modulação de células imunes pelo peptídeos liberador de gastrina (grp) que contribuem para progressão tumoral e metástases

Felipe Dominguez Machado¹, Cristina Bonorino² (orientadora)

¹Faculdade de Medicina, PUCRS, ² Instituto de Pesquisa Biomédicas da PUCRS

Resumo

Os tumores são infiltrados por células do sistema imunológico e, para crescer, empregam mecanismos imunomodulatórios. Existem neutrófilos associados a tumores que podem possuir papel supressor ou promotor de tumores, e é possível que essas células sejam modificadas e atraídas pelos tumores antes mesmo de integrarem o microambiente tumoral, e que tenham o baço, e não a medula óssea, como o sítio hematopoiético de origem de promotores de metástase.

Nosso grupo recentemente identificou uma ligação importante entre um neuropeptídeo produzido em grande quantidade por tumores, o GRP (peptídeo liberador de gastrina) e o recrutamento de neutrófilos, mediado pelo receptor do peptídeo, o GRPR. O GRPR tem sua expressão aumentada em vários tumores e diferentes estudos forneceram evidências de que esse receptor contribui para o aumento de proliferação em tumores. Propomos, portanto, investigar a contribuição do GRP produzido por tumores na modulação das células do infiltrado tumoral e sua função para um fenótipo promotor de tumorigênese e metástase. Para isso utilizaremos como modelo tumoral de melanoma murino B16F10 *in vivo*. A expressão de GRP pelo tumor será analisada *in vitro* e *in vivo*, em diferentes estágios de crescimento tumoral, por ELISA e por qPCR. Afim de verificar a contribuição do GRP no recrutamento dessas células para o tumor, inibiremos no tumor a produção de GRP através de siRNA, ou de uma linhagem com superprodução de GRP. Os resultados nos permitirão compreender o papel desse neuropeptídeo no crescimento tumoral e na promoção de metástases moduladas pelo infiltrado leucocitário tumoral. Os objetivos incluem Identificar mecanismos pelos quais o GRP produzido por tumores pode atrair e modular células do sistema imune, de modo a promover tumorigênese e/ou metástase, determinar a produção de GRP em diferentes estágios de crescimento tumoral e correlacionar com o infiltrado imune, determinar a contribuição do GRP no recrutamento de células imunes para o tumor e seu auxílio na promoção de metástase, determinar o fenótipo das células recrutadas via GRP para o tumor, avaliar o papel do GRP na modulação dos linfócitos T infiltrando o tumor, investigar a modulação do TGF-beta produzido no microambiente tumoral no crescimento tumoral, investigar o papel do GRP no recrutamento de células geradas no baço ou na medula óssea para o microambiente tumoral e investigar o papel do GRP na ativação da transmigração de neutrófilos *in vivo* para sítios inflamatórios e tumorais. Como modelo tumoral utilizaremos o melanoma murino B16F10, com o qual temos trabalhado há vários anos. O modelo que utilizaremos neste trabalho consiste na injeção subcutânea de 5×10^5 células B16F10 em 100 μ l de solução salina, na coxa direita da pata inferior dos camundongos. O crescimento do tumor será acompanhado diariamente para obtenção dos dados de tamanho e volume tumoral. Após o período de crescimento estipulado pelo experimento, o tumor será retirado para análise dos parâmetros estipulados. Caso haja metástases, essas serão contadas e analisadas.

Para a avaliação do sítio hematopoiético de origem dos leucócitos, camundongos de fenótipo selvagem receberão transplante esplênico de camundongos beta-actina eGFP, que expressam continuamente GFP (green fluorescent protein) em seus tecidos.

Palavras-chave

Imunologia celular; progressão tumoral; metástases