

Título: EXPRESSÃO DO RECEPTOR DO PEPTÍDEO RELACIONADO AO GENE DA CALCITONINA (CGRP) EM LINHAGENS CELULARES DE CÂNCER DE PRÓSTATA

Autores: Bruna Pasqualotto Costa¹, Gisele Branchini¹, Rute Castelo Félix², João Carlos dos Reis Cardoso², Vanessa Schein³.

Instituição: ¹Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA, Porto Alegre/RS), ²Centro de Ciências do Mar do Algarve (CCMAR, Faro/Portugal), ³Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS, Porto Alegre/RS).

Resumo: A homeostase óssea é decorrente de um equilibrado metabolismo entre o cálcio e o fósforo. Os membros da família da calcitonina (CT) - um pequeno grupo de hormônios peptídicos envolvidos na homeostase do cálcio e na osteogênese - incluem os peptídeos relacionados ao gene da calcitonina (α CGRP e β CGRP), a adrenomedulina 1 e 2 (ADM1 e ADM2), entre outros. A ativação do receptor de CGRP depende de um dímero formado pela co-expressão na membrana plasmática do receptor semelhante ao receptor da calcitonina (CALCRL) e pela proteína RAMP1 (*receptor activity modifying protein 1*). O CGRP é detectado em tecido ósseo e em culturas de osteoblastos é responsável pela proliferação celular e pela síntese de citocinas, fatores de crescimento e colágeno. Estudos recentes têm associado o CGRP e seu par de receptores às metástases ósseas. O osso é um dos sítios metastáticos do câncer de próstata (CaP) e o CGRP demonstrou estar relacionado com o aumento da capacidade invasiva de linhagens de CaP. O objetivo do trabalho foi caracterizar o padrão de expressão dos genes que codificam o CALCRL e a RAMP1 em linhagens celulares neoplásicas e em uma linhagem não-neoplásica. Células neoplásicas das linhagens C4-2B, LNCaP e PC-3 foram cultivadas em meio RPMI 1640 e a linhagem não-neoplásica HEK293 foi cultivada em meio DMEM, suplementados com 10% de soro bovino fetal (SFB) e antibióticos (0,5mg/mL) e mantidas em cultivo a 37°C com 5% de CO₂. As reações de sq-PCR foram realizadas em termociclador utilizando a enzima *Taq Platinum DNA polymerase* (Invitrogen, Brasil) e os produtos do PCR visualizadas em gel de agarose 2% corados com SYBR-Safe. Todas as linhagens avaliadas apresentaram expressão do CALCRL e RAMP1. A linhagem HEK293, ao contrário do que descrito na literatura, além da RAMP1 apresentou expressão do CALCRL. Para confirmação das sequências nucleicas amplificadas, as bandas foram removidas do gel e enviadas para sequenciamento. Estudos funcionais *in vitro* são essenciais para a compreensão do papel de determinadas proteínas na fisiologia normal e fisiopatologia de diversas condições clínicas. Os dados preliminares obtidos permitiram a detecção do padrão de expressão das proteínas CALCRL e RAMP1, e servirão como base para subseqüentes análises pela técnica de silenciamento destas proteínas (*siRNA*) a fim de esclarecer como os peptídeos calcitriopicos estão envolvidos no desenvolvimento de metástase óssea.

Palavras-chaves: CALCRL, RAMP1, CGRP.

Agência Fomento: CAPES, FIPE-HCPA.