

## **AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES DA ADENOSINA DEAMINASE E DPPIV/CD26 EM CÉLULAS DE CARCINOMA CERVICAL HUMANO.**

Jéssica Nascimento<sup>1</sup>, Danielle Bertodo Santana<sup>1</sup>, Aline Beckenkamp<sup>1</sup>, Juliano Pაცეz<sup>2</sup>, Luiz F Zerbini<sup>2</sup>, Márcia Rosangela Wink<sup>3</sup>, Alessandra Bruno<sup>4</sup>, Andréia Buffon<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Análises Bioquímicas e Citológicas-LABC, Faculdade de Farmácia, UFRGS, RS, Brasil

<sup>2</sup>Laboratório de Biologia Celular, Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>3</sup>Cancer Genomics - International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB) - A United Nations Research Institute - Cape Town, South Africa

<sup>4</sup> Instituto Federal de Ensino, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Adenosina deaminase (ADA) é a enzima responsável pela hidrólise da adenosina e é ancorada na membrana por uma glicoproteína conhecida como dipeptidil peptidase IV/CD26 (DPPIV/CD26). Esta, além de ancorar a ecto-ADA, também apresenta atividade catalítica degradando ou inativando biopeptídeos importantes na regulação da proliferação e sobrevivência celular. Estudos recentes têm demonstrado alterações nas atividades de hidrólise da ecto-ADA e CD26 em diversos tipos de câncer. Considerando a possível relação destas enzimas com o câncer, investigamos o padrão de expressão e atividade de hidrólise destas enzimas nas linhagens celulares de carcinoma cervical SiHa, HeLa e C33A e em uma linhagem de queratinócitos imortalizados (HaCaT, controle não tumoral). Todas as linhagens celulares foram mantidas em DMEM suplementado, a 37°C em 5% de CO<sub>2</sub>. As células foram plaqueadas em placas de 24 wells (2×10<sup>4</sup> cells/well) e após atingirem confluência, determinamos a atividade da DPPIV/CD26 e ecto-ADA em presença dos respectivos substratos, gli-pro-p-nitroanilida e adenosina. A avaliação da expressão da CD26 foi realizada através das técnicas de RT-PCR e Real-Time PCR. A atividade da ecto-ADA se mostrou linear até 180min para todas as linhagens. Como esperado, nenhuma das linhagens (SiHa, HeLa e C33A) teve sua atividade de hidrólise modificada após a adição dos cátions divalentes, mostrando que esta enzima não requer esse tipo de cofator para a sua atividade ótima. Os valores de K<sub>m</sub> obtidos para SiHa, HeLa e C33A foram, respectivamente, 153,2±12,3, 48,2±2,57 e 490,2±5,87 μM, e de V<sub>max</sub> foram 3,951±0,87, 0,488±0,09 e 9,86±0,94 nmol NH<sub>3</sub> libertado/min/mg de proteína (média±DP, n=3). Quanto à atividade da DPPIV/CD26, todas as linhagens exibiram atividade linear até 120 min, tanto em células aderidas, quanto na sua forma solúvel (sobrenadante). As atividades específicas DPPIV/CD26, após 60min de incubação, foram 40,3±1,89, 19,9±2,24, 19,5 ±0,01 e 45,1±2,02 nmols/min/mg de proteína (média±DP, n=3), para células aderentes, enquanto que para a forma solúvel, esta atividade foi de 191,9±8,9, 35,14±3,8, 41,24±4,2, 177,06±0,63 nmols/min/mg de proteína (média±DP, n=3), para SiHa, HeLa, C33A e HaCaT, respectivamente. Em presença do inibidor específico da DPPIV/CD26, fosfato de sitagliptina, observamos uma significativa inibição destas atividades, de 67%, 61% e 61% para SiHa, HeLa e C33A, respectivamente, em células aderentes, sendo mais acentuada para a linhagem não tumoral HaCaT (84%). Entretanto, no sobrenadante, a inibição foi menos acentuada, de 32%, 40%, 30% e 25% para a SiHa, HeLa, C33A e células HaCaT, respectivamente, mostrando uma menor sensibilidade da forma

solúvel para o efeito inibidor. A expressão do RNAm da DPPIV/CD26, foi observada nas linhagens SiHa e C33a e na linhagem não tumoral, HaCaT, enquanto que na linhagem HeLa, não foi observada expressão desta proteína. Considerando os resultados apresentados, constatamos que as linhagens de câncer cervical estudadas apresentaram diferenças em relação às atividades da ecto-ADA e CD26, e à expressão da CD26, que podem estar relacionadas à diferentes características de cada linhagem. Para melhor entender o papel destas proteínas no câncer cervical, estudos estão em andamento em nosso laboratório, e espera-se que estes resultados possibilitem a utilização destas enzimas como futuros marcadores prognósticos e/ou diagnósticos para esta patologia.

Financiado por: PROPESQ, PPGCF, FAPERGS, CNPq.