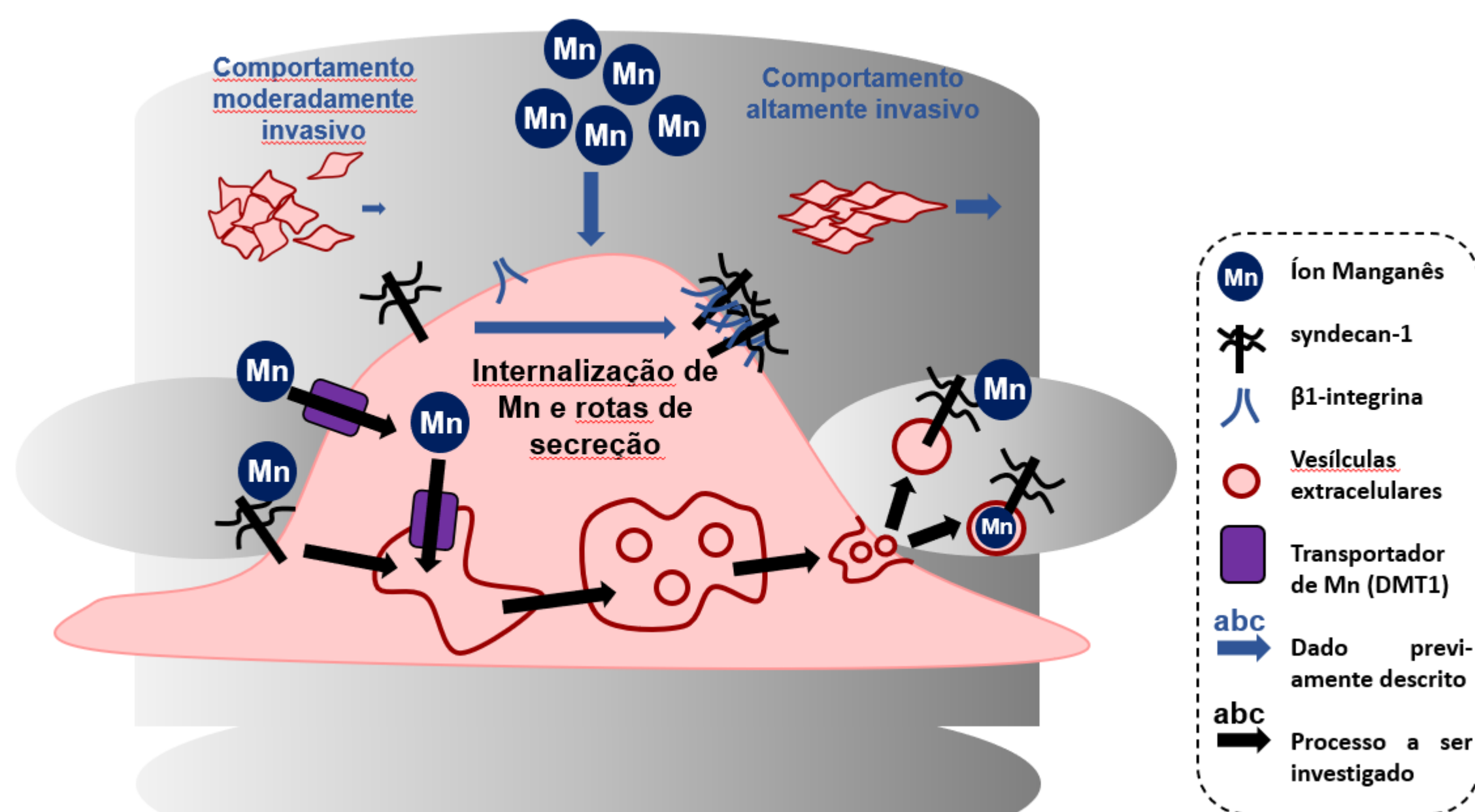


**Juliana do Carmo Godinho e Mariana Paranhos Stelling.**  
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (Campus Rio de Janeiro)  
Rio de Janeiro  
Julianacarmog15@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Alterações do padrão de distribuição e concentração de metais podem levar ao descontrole ciclo celular, resistência à morte celular e malignidade. Foi demonstrado que células tumorais da linhagem LLC (Carcinoma Pulmonar Murino) , que acumulam manganês, apresentam alterações em seu perfil metalômico quando comparadas a células tumorais que foram continuamente cultivadas em concentrações padrão de manganês (Figura 1). Considerando os diversos caminhos de transporte e distribuição de metais envolvidos neste processo, o **DMT1 ( Transportador de Metais Divalentes 1)** tem se mostrado um candidato promissor na investigação do desequilíbrio metalômico, uma vez que os metais alterados em nosso modelo são os transportados pelo DMT1.

### 1. Modelo de vias de transporte de metais na linhagem LLC



**Figure 1:** Resultados da pesquisa de nosso grupo e novas hipóteses sobre o transporte de manganês e sua correlação com a progressão tumoral. O manganês participa da progressão tumoral desde os estágios iniciais até os avançados, afetando o microambiente e modificando o comportamento das células tumorais. Nossos dados *in vitro* mostram que após exposição breve ou contínua ao meio de cultura contendo uma alta concentração de  $MnCl_2$ , as células tumorais LLC mudam seu padrão de migração de invasivo para altamente invasivo com aumento dos eventos de migração coletiva. As vesículas extracelulares também apresentam maior teor de Mn após uma breve exposição a uma alta concentração de Mn. Nossa hipótese envolve um transportador de metais responsável pelo desequilíbrio metalômico observado. O DMT1 é expresso nas membranas plasmáticas e nos endossomos e é um candidato promissor para participar da progressão tumoral associada ao desequilíbrio metálico.

## OBJETIVOS

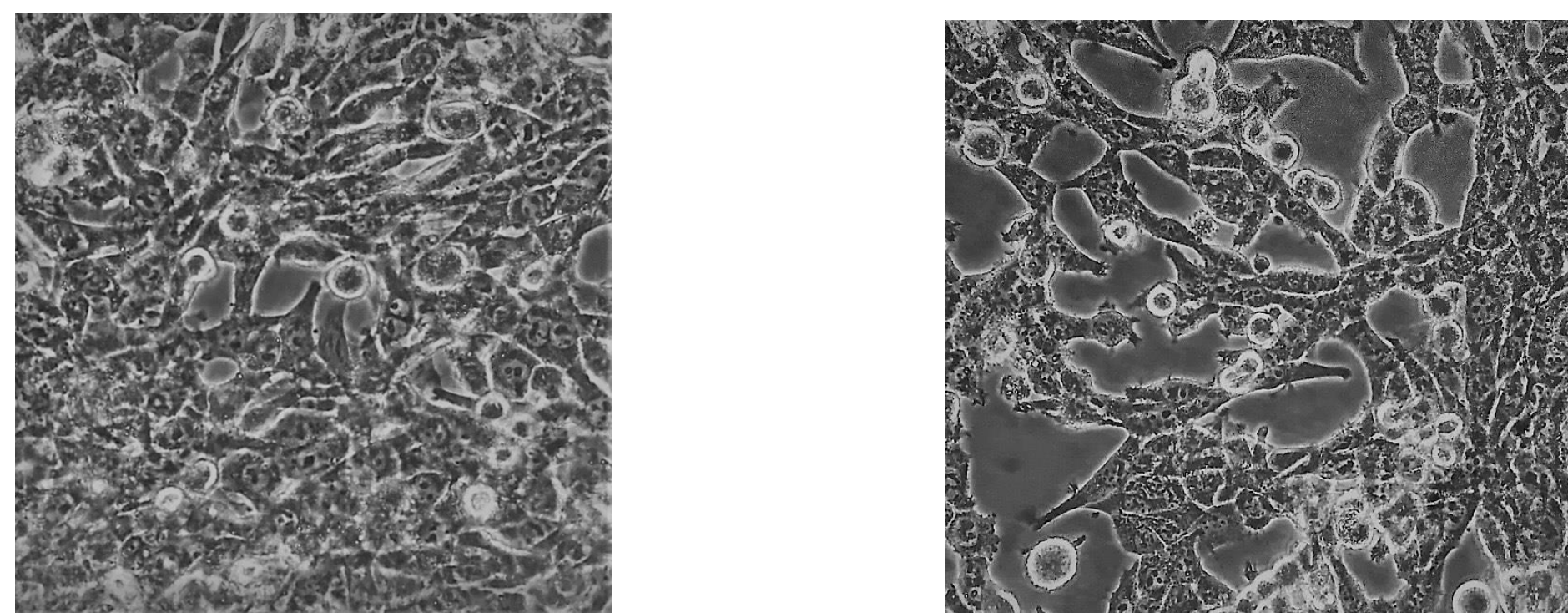
- Compreender como as vias de transporte de metais divalentes estão envolvidas no desequilíbrio metalômico de certos tipos de câncer.
- Avaliar em um modelo celular se as vias de captação e distribuição de manganês dependem do transportador de metais divalentes DMT1, indicando-o como alvo relevante no câncer.

## METODOLOGIA

As células tumorais foram tratadas em cultura com uma concentração não tóxica de cloreto de manganês de 5  $\mu M$  e direcionadas para as seguintes análises:

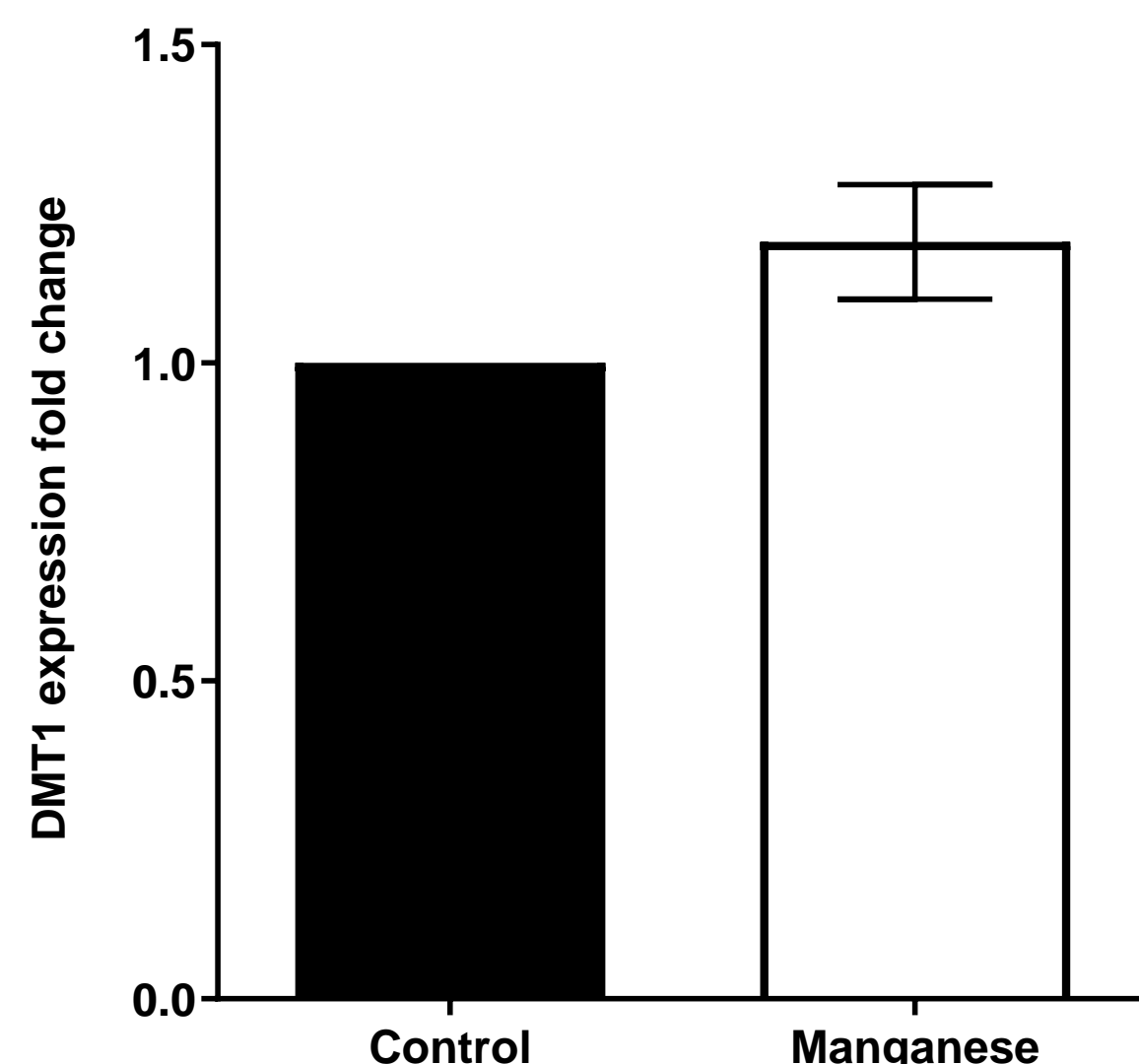
- Níveis de expressão de mRNA DMT1 por PCR em tempo real;
- Mapeamento multielementar de fluorescência de raios X.

### 2. Cultura de células LLC



**Figura 2:** Morfologia de células LLC após exposição ao Mn. As células tumorais foram tratadas em cultura em condições de controle (A); e com a concentração não tóxica de cloreto de manganês de 5  $\mu M$  por 24h (B); ampliação total 100X.

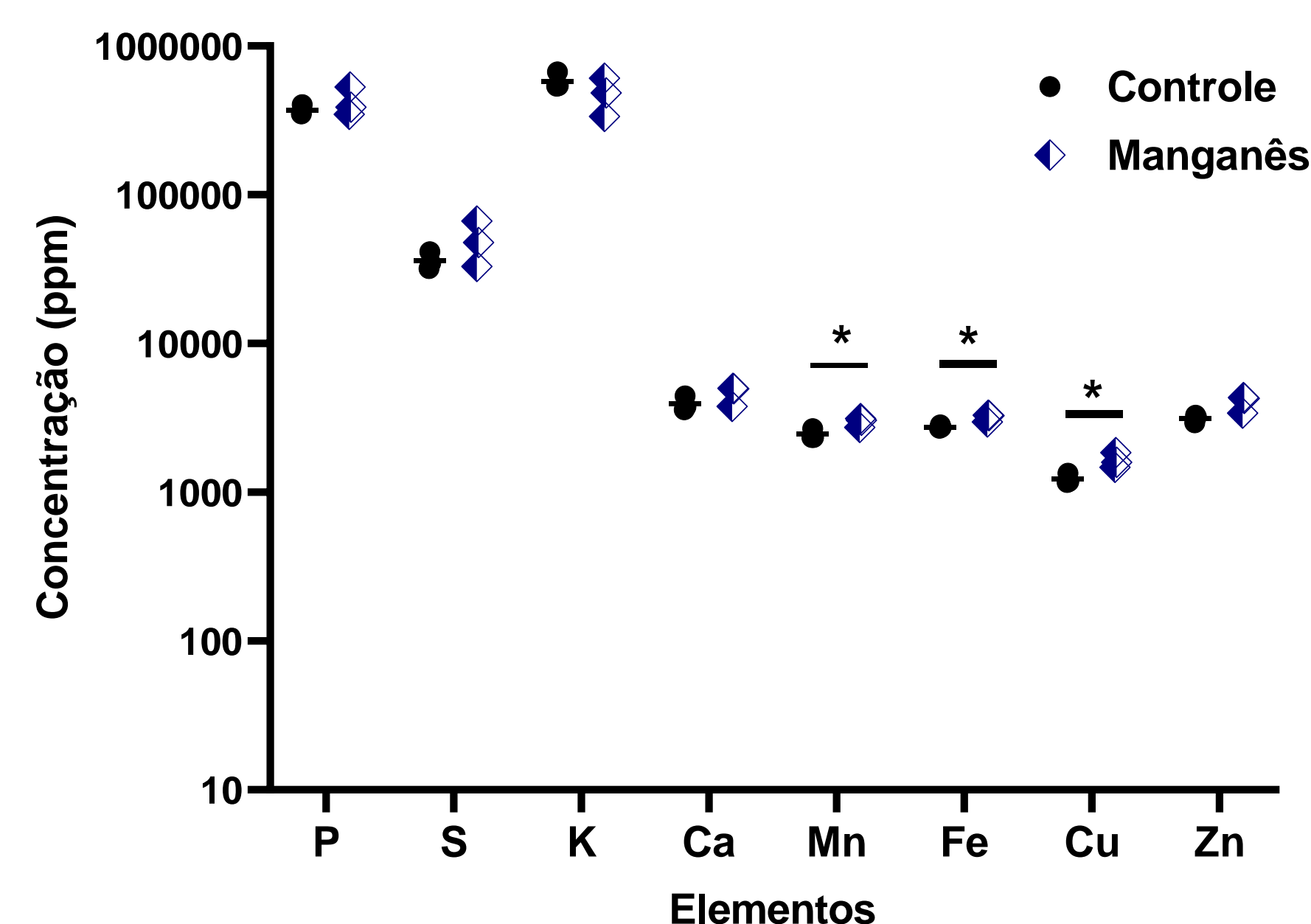
### 3. Análise da expressão do transportador DMT1



**Figura 3:** Aumento de 17% do gene DMT1 em relação à condição controle. As amostras foram suplementadas com 5  $\mu M$  de cloreto de manganês por 24 horas, tal regulação seria capaz de descrever o aumento da concentração de metais como o manganês, implicando no caráter mais maligno das linhagens tumorais utilizadas no estudo. N=3. Teste T de Student,  $p=0,16$ .

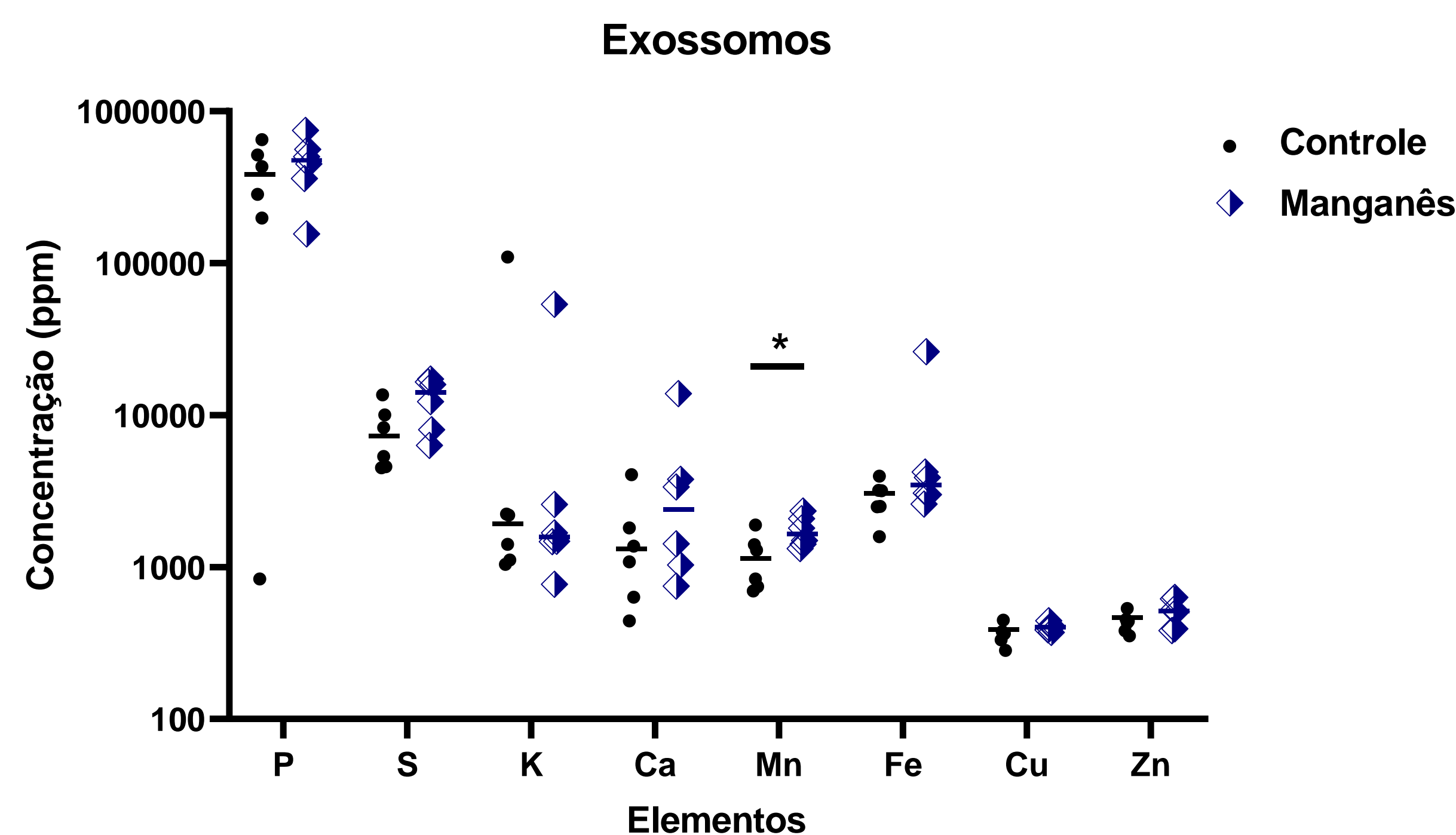
## RESULTADOS

### 4. Análises de fluorescência de raios-X de células LLC



**Figura 4:** Análises de fluorescência de raios-X de células LLC revelam desequilíbrio metalômico após exposição ao Mn. As células LLC expostas ao Mn apresentam alterações significativas em Mn, Fe e Cu quando expostas a concentrações não citotóxicas de Mn, estes são os principais metais transportados pelo DMT-1. N=3. Teste T de Student,  $*p < 0,05$

### 5. Análises de fluorescência de raios-X de exossomos em células LLC



**Figure 5:** As análises de fluorescência de raios-X de vesículas extracelulares derivadas de células LLC revelam uma rota para a distribuição local e sistêmica de Mn durante a progressão do tumor. O manganês é preferencialmente secretado a partir de células tumorais em vesículas extracelulares no modelo LLC, enquanto outros metais são supostamente exportados por outras vias. Já as células LLC expostas ao pré-tratamento com Mn apresentaram níveis aumentados de Mn retido, o que mostra a importância de elucidar as vias de transporte de metais associadas ao desequilíbrio metalômico. N=6.  $*p < 0,05$ .

## CONCLUSÃO E PRÓXIMOS PASSOS

Nossas principais conclusões são:

- A expressão de DMT1 é afetada pela concentração local de Mn;
- A metalômica da célula LLC é perturbada pelo desequilíbrio de Mn;
- O desequilíbrio do metal da célula tumoral afeta especificamente o microambiente tumoral, pois apenas o Mn é alterado nas vesículas extracelulares derivadas das células tumorais.

Esperamos que este projeto traga à luz um novo e relevante aspecto da progressão tumoral, indicando novos rumos para a área e colocando novos alvos terapêuticos em discussão.

- Investigar se outros solutos de DMT1, como Fe e Zn, induzem desequilíbrio metalômico em células cancerosas;
- Determinar a localização subcelular DMT1 por imunomarcação;
- Mapear a distribuição de metais transportados por DMT1 em resolução subcelular por fluorescência de raios X na linha de luz Carnaúba para definir a rota intracelular do manganês em tumores celulares.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho, oferecido pelas agências de fomento (CNPq, CAPES, FAPERJ, CNPEM, Fundação do Câncer e IFRJ) e instituições parceiras, e também à nossa instituição, IFRJ, pelo inestimável apoio.

## REFERÊNCIAS

- STELLING, *et al. Sci Rep* **11**, 15833 (2021).
- GARRICK, *et al. Biometals*, v. 16, n. 1, p. 41–54 (2003)
- MOUNICOU, *et al. Chemical Society Reviews*, v. 38, n. 4, p. 1119–1138 (2009)

Apoio:

