

## **Integrinas na adesão, migração e sinalização celular: associação com patologias e estudos clínicos.**

*Integrins acting in cell adhesion, migration and cell signaling:  
association with pathologies and clinical studies.*

**Ferraz, Francielle Bonet<sup>1,2</sup>; Fernandez, Jorge Hernandez<sup>1,3</sup>.**

<sup>2</sup>Mestre em Biociências e Biotecnologia, Doutoranda bolsista UENF/FAPERJ; <sup>3</sup>Professor Associado UENF.

<sup>1</sup>Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Biociências e Biotecnologia, Laboratório de Química e Funções de Proteínas e Peptídeos.

### **Resumo**

Integrinas são intermediadoras na comunicação entre o citoesqueleto celular e proteínas plasmáticas ou da matriz extracelular por meio da adesão célula-a-célula através de interações com outras proteínas de membrana. Além da função de adesão, as integrinas são reconhecidas moléculas de sinalização capazes de realizar a transdução de mensagens por vias de sinalização clássica, graças a sua estrutura molecular. Desse modo, as integrinas podem ser consideradas moduladores chave da proliferação, migração, longevidade, migração e ainda, a manutenção das funções específicas de diferenciação celular. Esta revisão aborda informações pertinentes de como as integrinas funcionam de modo complexo dentro de vias de sinalização, de adesão, do citoesqueleto e desempenham papel fundamental no sistema hematopoiético, especialmente no sistema imune. Como sistema complexo, qualquer falha oferece maiores oportunidades para o desenvolvimento de patologias. Desse modo, aberrações na sinalização mediada pelas integrinas podem contribuir para diferentes estados patológicos, como metástase, angiogênese e doenças inflamatórias. Por fim, são exemplificados alguns antagonistas de integrinas que estão envolvidos em estudos clínicos como novas terapias.

**Palavras chave:** Integrinas, Transdução de sinal, Adesão celular, Migração celular, Estudos clínicos.

### **Abstract**

Integrins are important agents in communication between the cytoskeleton and plasma proteins or extracellular matrix intermediating cell-to-cell adhesion with other membrane proteins. Besides the adhesion function, integrin are recognized signaling molecules capable of performing transduction messages by classical pathways signaling thanks to their molecular structure. Thus, the integrins are consider as key modulators of cellular proliferation, migration, longevity, motility, and further, keep specific functions of cell differentiation. This review presents pertinent information about integrin complexity in cell signaling pathways, adhesion, migration and a key role in the hematopoietic system, especially the immune system. As a complex system, any failure provides greater opportunities for pathologies development. Thus, anomalies in integrin-mediated signaling might contribute to different disease states, metastasis, angiogenesis and inflammatory diseases. Finally, some antagonists of integrins that are involved in clinical trials and new therapies are exemplified.

**Keywords:** *Integrins, Signal transduction, Cell adhesion, Cell migration, Clinical studies.*

**Autor correspondente:** Francielle Bonet Ferraz

**Contato:** francielle.bonet@gmail.com - **Telefone:** 55 22 27397135 / 55 22 988351432

**Endereço:** Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Biociências e Biotecnologia, P5, sala 230. Av. Alberto Lamego, 2000 - Bairro Parque Califórnia. CEP: 28013-602. Campos dos Goytacazes, RJ - Brasil.

## Introdução

O termo integrina foi inicialmente utilizado a fim de referir-se ao papel de intermediador na comunicação entre o citoesqueleto celular e proteínas plasmáticas ou da matriz extracelular por meio da adesão célula-a-célula através de interações com outras proteínas de membrana como ICAM-1, 2 e 3, VCAM-1 e caderina E<sup>1,2,3</sup>.

As integrinas são proteínas transmembrana heterodiméricas, pertencentes ao grupo de moléculas de adesão celular (CAMs), formadas por uma subunidade  $\alpha$ , de 120 a 180kDa, e uma subunidade  $\beta$ , de 90 a 110kDa, as quais estão ligadas não covalentemente entre si. Esta associação dos diferentes tipos de subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  pode formar proteínas com diferentes especificidades de ligação e, conseqüentemente, com diferentes atividades biológicas<sup>4</sup>. Cada subunidade consiste de um domínio extracelular, uma região transmembrana e uma pequena região citoplasmática (cerca de 30 a 40 aminoácidos). Os domínios N-terminais da cadeia  $\alpha$  e da cadeia  $\beta$  unem-se formando uma estrutura globular, conhecida como “cabeça” da integrina, que é responsável pela ligação ao ligante extracelular<sup>5</sup>.

Grande parte das integrinas, como a  $\alpha 3 \beta 3$ , a  $\alpha 5 \beta 1$ , a  $\alpha IIb \beta 3$  e a  $\alpha 3 \beta 1$ , são capazes de reconhecer sequências Arg-Gly-Asp (RGD) presentes em alguns componentes da matriz, tais como a fibronectina, a vitronectina e o fibrinogênio<sup>5</sup>. Enquanto algumas integrinas reconhecem seletivamente uma única proteína da matriz extracelular, outras podem se ligar a um ou a diversos ligantes. Do mesmo modo, proteínas da matriz extracelular podem se ligar a várias integrinas<sup>6</sup>. Entretanto, essa característica não garante que proteínas, com essa sequência, possam ser reconhecidas por um mesmo receptor, o que leva a considerar a probabilidade de que sejam sequências vizinhas ao RGD e as diferentes conformações tanto dos sítios adesivos, como dos rearranjos conformacionais que definem tal especificidade<sup>7</sup>.

## Adesão e movimentação celular desencadeadas pela sinalização por integrinas

As interações entre célula e matriz extracelular participam do controle de diferenciação celular, morfogênese, proliferação e migração. Então, conseqüentemente, impacta em processos como embriogênese, cicatrização, inflamação e câncer<sup>8</sup>. No entanto, compreender a migração celular é um desafio,

porque é o resultado da transição, da adesão localizada e da sinalização envolvida<sup>9</sup>.

Muitas dessas interações com a matriz extracelular são mediadas pelas integrinas, que pertencem à família de moléculas de adesão celular. Além da função de adesão, as integrinas são hoje reconhecidas moléculas de sinalização capazes de realizar a transdução de mensagens por vias de sinalização clássica. Desse modo, a função das integrinas pode ser considerada como um modulador chave do comportamento celular<sup>8</sup>.

A ligação ao substrato e, conseqüentemente os eventos de sinalização transmembrana estão envolvidos com o metabolismo celular, proliferação e longevidade, motilidade e ainda, a manutenção das funções específicas de diferenciação celular. Isso vem sendo bem demonstrado em diferentes tipos celulares, principalmente quando associadas à matriz extracelular. Como por exemplo, o colágeno, que permite a manutenção do fenótipo celular, determinar níveis de função metabólica, durante longos períodos em cultura<sup>10</sup>.

Em alguns casos, as integrinas se ligam a diferentes regiões do ligante, tal como as integrinas  $\alpha 4 \beta 1$  e  $\alpha 5 \beta 1$  fazem<sup>11</sup>, enquanto que em outros casos, as integrinas se ligam à mesma região da proteína, por exemplo, a ligação de  $\alpha 5 \beta 1$  e  $\alpha 3 \beta 1$  em fibronectina<sup>12</sup>. Essas interações entre os receptores específicos e diferentes locais de ligação do ligante são capazes de promover a comunicação entre as células, sugerindo que as integrinas funcionam como mais do que meras moléculas adesivas<sup>13</sup>.

As integrinas estão bem adaptadas para a transmissão de informações do meio extracelular para dentro da célula. E, isso cabe a sua estrutura molecular onde os domínios citoplasmáticos das subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  das integrinas são capazes de interagir com o citoesqueleto de diferentes modos e assim, proporcionar uma variedade de respostas celulares que poderiam ser iniciadas por meio da ligação de até mesmo um único ligante<sup>8</sup>.

Durante a ligação com a matriz extracelular, as integrinas se agrupam na base da membrana celular, processo denominado *clustering* de integrinas, e se associam a um complexo sinalizador que promove a organização dos filamentos de actina em fibras maiores, o que acarreta em um maior agrupamento de integrinas, reforçando assim sua ligação à matriz extracelular, em um sistema de *feedback* positivo<sup>14</sup>. E assim, são

formadas as adesões focais, ou seja, agregados de proteínas da matriz extracelular, integrinas e proteínas do citoesqueleto organizados de cada lado da membrana<sup>15,16</sup> que são caracteristicamente dinâmicos e iniciam o processo de sinalização celular<sup>14,17,18</sup>.

Estes sítios de adesão focal proporcionam mudanças conformacionais dentro dos domínios citoplasmáticos, provocadas por meio de eventos de fosforilação ou desfosforilação, e permitem a associação de outras proteínas que podem regular a atividade do estado da integrina<sup>19</sup>. Esta habilidade das integrinas em controlar sua afinidade por ligantes é crucial para a adesão celular e é conhecida como sinalização *inside-out*<sup>20</sup>, ou seja, a atividade de ligação extracelular das integrinas é regulada internamente na célula, podendo transmitir sinais através da membrana celular em ambas as direções<sup>21</sup>.

Por outro lado, a ligação de proteínas da matriz extracelular às integrinas promove sinais que são transmitidos para o interior da célula, caracterizando a sinalização *outside-in*<sup>21</sup>.

Depois de ativadas, as integrinas podem apresentar um vasto repertório de mecanismos de transdução de sinais, tais como os de ativação de GTPases que levam a mudanças na organização do citoesqueleto, ativação de vias de sinalização da MAPK (*mitogen activated protein kinase*) e ativação de uma variedade de proteínas quinase, o que pode então influenciar a expressão gênica<sup>22</sup>. Ainda, a ativação das integrinas pode resultar na liberação de lipídios como mensageiros secundários e alterar os níveis intracelulares de cálcio e os valores de pH<sup>23</sup>.

### Eventos associados à sinalização por integrinas

A adesão celular promovida pelas integrinas apresenta duas funções principais na migração, ou seja, ela gera tração, ligando o substrato extracelular a fibrinogênio filamentos de actina e miosina e, organizando redes de sinalização<sup>9</sup> que podem ativar várias vias de sinalização de forma independente<sup>24</sup>, mas mais frequentemente eles podem agir em sinergia com outros fatores, como por exemplo, fatores crescimento<sup>25</sup>, receptores de insulina<sup>26</sup>, receptor de VEGF (*vascular endothelial growth factor*)<sup>27</sup>, receptor de TGF- $\beta$  (*transforming growth factor beta*)<sup>28</sup>, receptor do HGF (*hepatocyte growth factor*)<sup>29</sup> e receptor de EGF (*epidermal growth factor*)<sup>30</sup>. Sendo todas as ligações mediadas pelos múltiplos domínios específicos presentes em cada proteína da matriz extracelular<sup>12</sup>.

Existem algumas etapas já descritas sobre a proliferação de sinais proporcionados pela interação entre integrinas e seus ligantes, principalmente envolvendo adesão, diferenciação e movimentação celular.

*A priori*, a adesão da integrina pode levar diretamente a ativação de FAK (*focal adhesion kinase*) e a auto fosforilação decorrente da adesão celular, e a interação com talina ou com outras proteínas do citoesqueleto<sup>31</sup>. Seguido, ocorre à ativação da MAPK e de RAS (*GTPase*), ambos fortemente envolvidos na geração do sinal mitogênico<sup>32</sup>. Este princípio coloca a sinalização gerada pelas integrinas em um caminho paralelo e complementar aos eventos iniciados por fatores de crescimento como o EGF ou PDGF (*platelet-derived growth factor*) em que a ativação de uma quinase resulta finalmente, em uma cascata de sinalização nuclear<sup>32</sup>.

Ainda há ideia de que a ligação da integrina conduz a profundas alterações nos lipídios de membrana, o que afeta indiretamente o sinal proliferativo de fatores de crescimento, aumentando substrato para a fosfolipase C e, conseqüentemente, aumentando fosfatidilinositol bifosfato na membrana<sup>32</sup>.

Logo, a ativação da fosfolipase C por fatores de crescimento pode levar ao aumento da hidrólise de fosfolípidos de membrana e gerando inositol-1-4-5-trifosfato e diacilglicerol. O inositol-1-4-5-trifosfato ativa os canais de cálcio localizados na membrana do retículo endoplasmático promovendo aumento da concentração de Ca<sup>2+</sup> no citosol. O diacilglicerol, por sua vez, também produz o mesmo efeito sobre a concentração de cálcio intracelular, ao ativar os canais de cálcio sensíveis à voltagem da membrana plasmática, permitindo a passagem do cátion do meio extracelular para o intracelular<sup>33</sup>.

A sinalização mediada por Ca<sup>2+</sup> é bastante complexa na maioria das células, considerando o grande número de proteínas reguladas por este íon e as diversas formas de aumento na concentração intracelular. Haja vista que o efeito do íon Ca<sup>2+</sup> sobre a expressão gênica é dependente tanto da intensidade como do local no qual seu aumento na concentração ocorre, sendo a cascata da ERK (*extracellular-signal-regulated kinases*) uma das vias responsáveis pela integração destes sinais<sup>34</sup>.

Com o aumento de íons Ca<sup>2+</sup> há ativação da PCK (*protein kinase C*)<sup>32</sup> a qual ativa proteínas de grânulos secretórios (como de insulina e citocinas) que, juntamente com o Ca<sup>2+</sup>, promoverão a ativação do

sistema de microtúbulos e microfilamentos, responsável pela translocação desses grânulos para as proximidades da membrana plasmática e consequente exocitose. Também há ativação da adenilato ciclase com o consequente aumento do conteúdo intracelular de AMPc<sup>33</sup>. A indução da produção de AMPc ativa a PKA (*protein kinase A*), que parece agir nos processos de síntese proteica da célula<sup>32</sup>.

Na ausência de ligação de integrinas, como por exemplo, para adesão celular, embora fosfolipase C possa ser ativada por fatores de crescimento, na ausência de ligação ao substrato não há geração de um sinal proliferativo<sup>32</sup>.

Além das interações de integrinas estarem envolvidas em processos de adesão, também participam ativamente da movimentação celular, onde há polimerização de filamentos de actina cujas ligações regulam e são reguladas por moléculas de sinalização associadas à adesão<sup>35</sup>. E, eventualmente, essas alterações na forma e motilidade das células também podem causar alterações na transcrição de genes, regulação da migração e diferenciação celular<sup>36, 37</sup>.

As integrinas funcionam de modo complexo dentro de vias de sinalização, de adesão, do citoesqueleto e desempenham papel fundamental no sistema hematopoiético, especialmente no sistema imune<sup>38</sup>. Mas, como todos os sistemas muito complexos, qualquer falha oferece maiores oportunidades de dano. Desse modo, aberrações na sinalização proporcionada pelas integrinas podem contribuir para diferentes estados patológicos, como metástase, angiogênese e doenças inflamatórias<sup>39</sup>.

### Sistema imune e a sinalização por integrinas

Durante processos inflamatórios ou infecciosos, os leucócitos percorrem o sistema vascular por meio de uma cascata de acontecimentos que envolvem uma série de receptores de adesão e migração<sup>40</sup>. Logo, as integrinas desempenham um papel fundamental nesta cascata, mediando a retenção dos leucócitos no endotélio inflamado e coordenando a transmigração através da membrana basal para permitir o deslocamento ao local da infecção ou inflamação<sup>41</sup>.

A função adesiva das integrinas é regulada pela sinalização do tipo *inside-out* e, para que a função de adesão dos leucócitos seja normal, é essencial que o processo de adesão esteja totalmente regulamentado.

Em condições normais, os leucócitos e plaquetas não devem ser aderentes, pois precisam circular livremente na corrente sanguínea. Nos locais

de inflamação ou infecção, os leucócitos necessitam da capacidade de reconhecer e aderir ao endotélio subjacente, rastejar através da parede do vaso sanguíneo e, em seguida, realizar a diapedese até o local com a homeostase perturbada<sup>42</sup>.

Para a conclusão bem sucedida de todos estes eventos supracitados, a adesão às integrinas deve ser ativada e desativada sequencialmente e repetitivamente. Assim, a sinalização *inside-out* para ativação e desativação das integrinas é uma característica especialmente importante de integrinas de leucócitos.

Dois modos distintos de ativação são possíveis. Em caso de afinidade de uma integrina em particular ao seu ligante, resulta de uma alteração conformacional na integrina, devido à sua ativação, como demonstrado em  $\alpha$ Ib $\beta$ 3 e  $\alpha$ L $\beta$ 12 por meio de anticorpos monoclonais (mAb) que diferenciam o estado ativado a partir do estado de repouso da integrina<sup>42</sup>.

Tanto quimiotáticos quanto citocinas são capazes de estimular as integrinas de modo que ocorra uma rápida conformação, tornando-as com maior afinidade ao ligante. Permitindo assim, uma resposta mais rápida dos leucócitos durante processos inflamatórios<sup>41</sup>. Experimentalmente, a sinalização *inside-out* que promove a ativação de integrinas pode ser medida por meio da ligação específica de anticorpos a ligantes como ICAM (*Intercellular Adhesion Molecule*), a qual é aumentada nos estágios de migração celular pelo endotélio<sup>40</sup>.

As Rap GTPases tem sido demonstradas como grandes responsáveis pela regulação da sinalização *inside-out* nos linfócitos<sup>43</sup>. A sinalização através da Rap1 transmite um sinal de dentro para fora para as integrinas, aumentando assim a aderência a ligantes, tais como proteínas da superfamília das imunoglobulinas, bem como proteínas de matriz extracelular e proteínas do plasma. Este processo induz a aderência de leucócitos ao endotélio e apresentação de antígenos pelas células. Além da regulação das integrinas, Rap1 ativada induz a polaridade celular de linfócitos, que é coordenada com redistribuição de LFA-1 (*lymphocyte function-associated antigen 1*) na superfície celular<sup>44</sup>.

Logo, como demonstrado por Ghandour *et al.*<sup>45</sup> a redução das proteínas Rap afeta negativamente a adesão celular mediada por VLA-4.

Na sinalização do tipo *outside-in* em células do sistema imune, as integrinas atuam juntamente com os sinais enviados por CD3 (*cluster of differentiation*

3) e, agem sinergicamente na ativação de FAK<sup>42,46</sup>. Isso ocorre após a interação do antígeno com o TCR (*T cell receptor*), onde o CD3 realiza a transdução de sinais por meio da fosforilação do GTP. O complexo formado pelo TCR e CD3 quando ativado faz com que o GTP transfira um radical fosfato para os aminoácidos tirosina dos polipeptídeos do CD3, que estando fosforilado vai ativar a enzima fosfolipase C. Essa enzima hidroliza o 4,5-bifosfato fosfatidil-inositol em trifosfato inositol e diacilglicerol<sup>42</sup>. Conseqüentemente, há liberação de íons Ca<sup>2+</sup> que ativam diversas quinases que fosforilam proteínas, as quais o ativam a transcrição do RNAm para a síntese de interleucinas<sup>42</sup>, como a IL-2 por exemplo<sup>47</sup>.

### Adesão, movimentação celular e o envolvimento com patologias

Devido ao envolvimento das integrinas na adesão e movimentação de leucócitos, na vigilância imunológica, na mediação da regeneração dos tecidos e até mesmo na migração celular durante a morfogênese embrionária<sup>48</sup>, muitas doenças humanas incluindo câncer e imunodeficiências hereditárias estão sendo associadas com a alteração nos padrões de adesão e movimentação celular mediada por integrinas<sup>8</sup>.

Apesar das integrinas estarem notoriamente envolvidas em várias doenças, é difícil determinar qual integrina específica está envolvida e qual seu papel específico na patologia porque muitas doenças são multifatoriais e as integrinas são apenas um dos vários tipos de receptores envolvidos. Além disso, muitas células possuem várias integrinas que exibem propriedades de ligação complementares<sup>49</sup>.

As integrinas estão criticamente envolvidas no tráfico de leucócitos da corrente sanguínea para o

tecido extravascular em locais de inflamação ativa ou até mesmo durante a vigilância imunológica<sup>50</sup>. Durante uma resposta inflamatória, os leucócitos primeiramente rolam ao longo do endotélio de vénulas pós-capilares.

Destes leucócitos, alguns se prendem firmemente e migram ao longo da superfície do endotélio, realizando diapedese entre as junções endoteliais e migrando através de uma matriz subendotelial (Figura 1). Estas etapas de adesão, movimentação e migração transendotelial são resultantes da interação de receptores de leucócitos e endotélio distintos em uma cascata de adesão<sup>51</sup>.

Como pode ser observado na Figura 1, a primeira fase de aderência celular é mediada predominantemente pela L-selectina dos leucócitos, a P- e E-selectinas endoteliais e seus contra receptores glicoproteicos, particularmente da P-selectina glicoproteína 1<sup>52</sup>.

O contato inicial dos leucócitos com a superfície endotelial os prende, permitindo que as quimiocinas endoteliais ligadas à membrana, o fator ativador de plaquetas ou os quimiotáticos secretados localmente ativem as integrinas de leucócitos. Esta ativação da sinalização *inside-out* resulta em mudanças na afinidade das integrinas<sup>53</sup>. E, quando os leucócitos já estão firmemente aderidos, eles migram ao longo da superfície de células endoteliais, utilizando-se das integrinas  $\alpha$ L $\beta$ 2 e  $\alpha$ M $\beta$ 2 e de seus ligantes endoteliais IgSF<sup>54</sup> e, desse modo, emigram através de junções celulares<sup>55</sup>. Obviamente que, existem diversas exceções ao modelo geral de rolamento mediado por selectinas, como por exemplo, na emigração de leucócitos na microcirculação pulmonar a qual ocorre predominantemente por capilares<sup>56</sup> ou na microvasculatura do fígado onde os leucócitos emigram principalmente por sinusóides<sup>57</sup>.

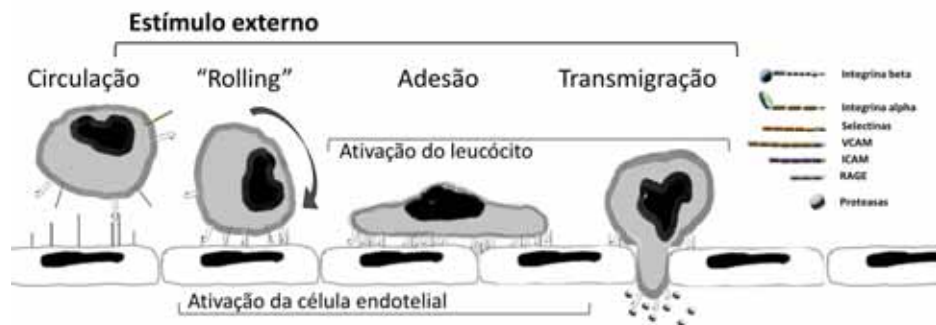


Figura 1: Esquema representativo dos eventos moleculares envolvidos na adesão e transmigração de leucócitos. Ao ocorrer um estímulo, como uma resposta inflamatória por exemplo, os leucócitos são ativados, secretando uma gama de proteínas de adesão. Estes fatores possibilitam a interação gradativa com fatores de adesão nas células endoteliais (Rolling) e possibilitam a secreção de mais fatores de adesão (Ativação da célula endotelial). A maior quantidade de fatores de adesão possibilita a ancoragem e migração dos leucócitos a células endoteliais (Adesão). Seguindo desta forte adesão, o leucócito transmigra através de junções celulares do endotélio (Transmigração). Neste processo, proteases ajudam a abrir espaço na matriz extracelular. Cabe salientar que em cada etapa há uma diferente interação de receptores de leucócitos e endotélio, além de desencadear diferentes cascatas de sinalização em cada etapa.

Integrinas de leucócitos desempenham também um papel fundamental em diversos eventos que se seguem após a migração transendotelial. As integrinas  $\alpha$ M $\beta$ 2 de neutrófilos ligam-se a proteínas derivadas do plasma, tais como iC3b, factor X e fibrinogênio, que podem estar presentes nos sítios de derrame vascular. Estas interações podem contribuir significativamente para a patogênese da resposta inflamatória<sup>58</sup>.

Modelos genéticos de deleção realçam o impacto que a integrina tem sobre o organismo, bem como o papel exclusivo de cada subunidade de integrina<sup>59</sup>. Várias doenças genéticas humanas também são capazes de fornecer provas tangíveis da importância clínica desta família de receptores<sup>60</sup>. Em 1918, a trombostenia de Glanzmann foi descrita como uma doença autossômica recessiva caracterizada por uma grave hemorragia mucocutânea. Após 60 anos, descobriu-se a doença é resultante de mutações na integrina  $\alpha$ Ib $\beta$ 3 das plaquetas<sup>61</sup>.

A Síndrome da Deficiência de Aderência de Leucócitos (LAD I) também foi descrita antes da descoberta do defeito molecular<sup>62</sup>. Nesta doença os pacientes apresentam infecções bacterianas recorrentes e persistentes e, leucocitose acentuada entre os episódios infecciosos. Estes pacientes apresentavam-se quantitativamente deficientes integrinas  $\alpha$ M $\beta$ 2,  $\alpha$ X $\beta$ 2,  $\alpha$ L $\beta$ 2 e  $\alpha$ D $\beta$ 2 devido às mutações heterogêneas na subunidade  $\beta$ 2<sup>63</sup>. Contudo, mais recentemente, foi proposto que LAD I constitui uma complexa síndrome onde estes pacientes possuem uma disfunção que envolve as integrinas  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2 e  $\alpha$ 3, mas as suas estruturas são intactas, sugerindo um defeito em uma molécula de sinalização comum para a ativação da integrina<sup>64</sup>.

Estudos mais recentes também demonstraram que as subunidades de integrinas  $\alpha$ v, por exemplo, são fundamentais para a regulação normal de respostas imunitárias no intestino e que a deleção desta subunidade nas células do sistema imune como linfócitos T, macrófagos, neutrófilos e células dendríticas, conduz à colite espontânea, perdendo a autoimunidade. A colite está associada especialmente com linfócitos T ativados, com alta expressão de citocinas e a baixa quantidade de células T reguladoras no tecido. Logo, a ausência de  $\alpha$ v provoca a remoção de células em apoptose e insuficiência do linfonodo mesentérico em gerar células T reguladoras<sup>65</sup>.

Semelhante foi observado por Travis *et al.*<sup>66</sup> onde a perda condicional da integrina  $\alpha$ v $\beta$ 8,

principalmente em células dendríticas, a qual ativa TGF- $\beta$  em leucócitos, repercute em severa doença inflamatória intestinal e autoimunidade relacionada à idade em camundongos, sugerindo que há falha em induzir células regulatórias *in vitro*, uma vez que essa ação é dependente da atividade de TGF- $\beta$ .

Em contrapartida, as integrinas tem demonstrado ser uma importante via de contribuição para a sobrevivência das células cancerígenas e na resistência à quimioterapia, como pode ser observado em alguns estudos recentes citados adiante.

Cabe salientar que a angiogênese e a metástase tumoral são processos funcionalmente relacionados pois ambos envolvem eventos como mobilidade celular, proteólise tecidual e proliferação celular<sup>67</sup>. Os eventos de adesão celular durante a angiogênese são rigorosamente regulados, sendo limitados às células afetadas e ativados por um curto período de tempo e, logo após, suprimidos completamente. Por exemplo, no endotélio em “repouso” (sem exercer atividade angiogênica momentaneamente) a integrina  $\alpha$ v $\beta$ 3 praticamente não é detectada. Enquanto durante a angiogênese induzida por citocinas ou por tumores sua expressão é intensamente estimulada<sup>68</sup>.

Em geral, durante a angiogênese, a síntese de proteínas é regulada negativamente pela hipóxia celular, diminuindo proliferação e migração. Contudo, as células de câncer de mama expressando integrina  $\alpha$ v $\beta$ 3, quando em matriz extracelular de vitronectina, a atividade da proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) e da tradução do RNAm dependente de cap são reguladas positivamente, o que reverte o efeito de hipóxia e facilita a invasão das células tumorais<sup>69</sup>.

Como demonstrado por Bianchi-Smiraglia *et al.*<sup>70</sup> a subunidade de integrina  $\alpha$ 5 é altamente expressa por células de carcinoma mamário. Esse dado foi obtido por meio de experimentos utilizando RNA de interferência, onde foi observada a diminuição significativa de integrina  $\alpha$ 5 em células de carcinoma de mama a qual reduziu acentuadamente o desenvolvimento do tumor e a angiogênese devido a menor capacidade de migração e de proliferação celular na ausência de  $\alpha$ 5. Enquanto, a re-expressão de integrina  $\alpha$ 5 resgatava o fenótipo tumoral agressivo<sup>70</sup>.

Lamb *et al.*<sup>71</sup> sugerem o envolvimento da subunidade  $\alpha$ 1 e da via de sinalização de NF $\kappa$ B como mediadores críticos da progressão invasiva pós-irradiação ionizante, e portanto, também poderiam ser

alvos terapêuticos para suprimir a invasão recorrente após o tratamento do carcinoma ductal *in situ*.

### Estudos clínicos e terapias com antagonistas de integrinas

A diversidade das integrinas e o seu envolvimento em doenças complexas as tornam grandes alvos de terapias e drogas. Apesar da descoberta de inibidores altamente potentes, a completa inibição de integrinas não se torna viável, uma vez que há redundância na função e o desequilíbrio causado por sua completa inibição. Porém, a utilização de inibidores específicos pode provar ser mais eficaz em alguns casos.

Considerando a sequência RGD, aquela capaz de ser reconhecida por algumas integrinas, ser a base para o desenvolvimento de antagonistas de integrinas, até meados da década de 1990, as buscas por análogos foram direcionadas para antagonistas não peptídicos de integrina  $\alpha$ IIB $\beta$ 3, demonstrando-se potentes, seletivos e com elevada biodisponibilidade oral, contribuindo para o tratamento de doenças tromboembólicas<sup>72,73</sup>.

Assim, com o progresso das pesquisas e as descobertas sobre a importância da angiogênese para o crescimento e a metástase tumoral, o enfoque passou também para a obtenção de antagonistas seletivos da integrina  $\alpha$ v $\beta$ 3<sup>72</sup>, os quais já demonstraram efeitos diretos na prevenção da metástase, crescimento e angiogênese tumoral.

Atualmente já existem diversos antagonistas de integrinas envolvidos em estudos clínicos. Estes podem ser anticorpos humanizados, peptídeos sintéticos e moléculas não peptídicas. Os alvos desses antagonistas são as regiões extracelulares das integrinas e consequentemente, interferem nos sítios de ligação.

Entre os anticorpos, pode ser citado como exemplo o Efalizumab (Raptiva; Genentech), o qual antagoniza a integrina  $\alpha$ L $\beta$ 2, mais especificamente a subunidade  $\alpha$ L, foi utilizado desde 2003 para tratamento de psoríase. Contudo, casos de leucoencefalopatia multifocal progressiva associados ao uso de Efalizumab o fizeram ser retirado do mercado em 2009<sup>74</sup>.

Também como representante dos anticorpos há o Natalizumab (Tysabri; Elan/Biogen-Idec), que antagoniza a subunidade  $\alpha$ 4 das integrinas e é usado para tratar esclerose múltipla e doença de Crohn desde

2004. Contudo, devido a sua associação com leucoencefalopatia multifocal progressiva e propriedades imunossupressivas, foi retirado do mercado em 2005. Porém, em 2006 voltou ao mercado (com aviso de seus riscos na bula) devido a sua grande eficácia e baixa taxa de recidivas nos pacientes e, até então, tem demonstrado resultados substancialmente eficazes para o tratamento dessas doenças<sup>75,49</sup>.

Ainda, entre os anticorpos como inibidores de integrinas, há o Etaracizumab ou Abegrin (anticorpos MEDI-522 - MedImmune) que são específicos para a integrina  $\alpha$ v $\beta$ 3, que está associada ao câncer altamente metastático. Sendo assim, esses anticorpos são utilizados para o tratamento de melanoma e tumores sólidos<sup>76</sup>. Os anticorpos MEDI-522 ainda estão sendo testados e já se encontram em fase III<sup>49</sup>, ou seja, já estão em estudos clínicos de larga escala para demonstrar eficácia e segurança a fim de estabelecer perfil e vantagem terapêutica.

O Cilengitide (Merck) e Eptifibatide (Integrilin; Millennium Pharmaceuticals/Merck) são representantes de antagonistas peptídicos baseados na sequência RGD. Enquanto Cilengitide inibe  $\alpha$ v $\beta$ 3, o Eptifibatide inibe as integrinas  $\alpha$ v $\beta$ 3 e  $\alpha$ IIB $\beta$ 3. Cilengitide é utilizado para tratamento de pacientes com glioblastoma ou outros tipos de câncer no encéfalo e, recentemente, entrou em fase III de testes clínicos<sup>49</sup>. O Eptifibatide é utilizado para inibir a agregação plaquetária, sendo liberado ao uso para pacientes de alto risco pois sua administração depende de supervisão, uma vez que é intravenosa<sup>49</sup>.

Como antagonista não peptídico pode ser citado como exemplo o Tirofiban (Aggrastat; Merck), que inibe especificamente  $\alpha$ IIB $\beta$ 3 e consequentemente a agregação plaquetária. Este é administrado por via intravenosa e é utilizado em pacientes com síndromes coronárias agudas e aqueles submetidos intervenção coronária percutânea uma vez que é capaz de reduzir o risco de eventos isquêmicos<sup>77</sup>. No entanto, apesar das expectativas iniciais que os antagonistas voltados para a integrina  $\alpha$ IIB $\beta$ 3 seriam drogas bloqueadoras, as tentativas de desenvolver antagonistas que seriam administrados por via oral (para administração mais conveniente) não foram bem sucedidas. Então, a utilização do Tirofiban e de outros inibidores intravenosos são aprovados com restrição, ou seja, apenas aos pacientes de alto risco<sup>49</sup>.

Ainda como antagonista não peptídico há o Valategrast (Roche), o qual inibe  $\alpha$ 4 $\beta$ 1 e é usada no tratamento de asma a fim de coibir a infiltração leucocitária<sup>41</sup>. Apesar de ter demonstrado eficácia no

tratamento oral da asma e ter chegado a fase II de testes clínicos, ou seja, estudos controlados em pacientes para demonstrar efetividade potencial da medicação, o Valategrast foi retirado do mercado na mesma época que o Natalizumab devido às diversas reações adversas<sup>78</sup>.

### Conclusão

Devido a participação das integrinas em diversos fatores fisiológicos e patológicos (Chung *et al.*; 2004)<sup>79</sup>, espera-se que com o aumento do

conhecimento sobre identificação de integrinas, alterações conformacionais, sinalização mediada por integrinas e estudos sobre a modulação do sistema imune, seja possível melhorar a compreensão desses fenômenos biológicos fundamentais e proporcionar o desenvolvimento e aprimoramento de agentes que interajam entre ligante-receptor *in vitro* e *in vivo* em integrinas conhecidamente associadas a processos de movimentação, adesão e invasão celular. E conseqüentemente, possa prover propostas para o surgimento de novas abordagens terapêuticas.

### Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup>Darribere T, Skalki M, Cousin HL, Gaultier A, Montmory C, Alfandary D. Integrins: Regulators of embryogenesis. *Biol Cell* 2000; 92:5-25.
- <sup>2</sup>Clegg DO, Wingerd KL, Hikita ST, Tolhurst EC. Integrins in the development, function and dysfunction of the nervous system. *Front Biosc* 2003; 8:723-50.
- <sup>3</sup>Jin H, Varner J. Integrins: roles in cancer development and as treatment targets. *Braz J Cancer* 2004; 90:561-5.
- <sup>4</sup>Plow EF, Haas TA, Zhang L, Loftus J, Smith JW. Ligand binding to integrins. *J Biol Chem* 2000; 275:21785-8.
- <sup>5</sup>Avraamides CJ, Garmy-Susni B, Varner JA. Integrins in angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nat Rev Cancer* 008; 8:604-17.
- <sup>6</sup>Albeda SM, Mette SA, Elder DE, Stewart RM, Damjanovich L, Herlyn M, et al. Integrin distribution in malignant melanoma: association of the  $\alpha 3$  subunit with tumor progression. *Cancer Res* 1990; 50:6757-64.
- <sup>7</sup>Dzamba B, Bolton M, Desimone D. *Front in Molecular Biology, Cell Adhesion*. Oxford: Oxford University Press, p.100-154, 2001.
- <sup>8</sup>Jones JL, Walker RA. Integrins: a role as cell signaling molecules. *J Clin Path Mol Path* 1999; 52:208-13.
- <sup>9</sup>Huttenlocher A, Horwitz AR. Integrins in Cell Migration. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011, 3:1-16.
- <sup>10</sup>Crossin K, Krushel L. Cellular signaling by neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. *Develop Dynam* 2000; 2:260-79.
- <sup>11</sup>Guan JL, Hynes RO. Lymphoid cells recognize an alternatively spliced segment of fibronectin via the integrin receptor  $\alpha 4 \beta 1$ . *Cell* 1990; 60:51-63.
- <sup>12</sup>Elices MJ, Urry LA, Hemler ME. Receptor functions for the integrin VLA-3: fibronectin, collagen and laminin binding are differentially influenced by Arg-Gly-Asp peptide and by divalent cations. *J Cell Biol* 1991; 112:169-81.
- <sup>13</sup>Kim SH, Tumbull J, Guimond S. Extracellular matrix and cell signalling: the dynamic cooperation of integrin, proteoglycan and growth factor receptor. *J Endoc* 2011; 209:139-51.
- <sup>14</sup>Giancotti FG, Rouslahti E. Elevated levels of the  $\alpha 5 \beta 1$  fibronectin receptor suppresses the transformed phenotype of Chinese hamster ovary cells. *Cell* 1990; 60:281-290.
- <sup>15</sup>Lo SH, Chen L.B. Focal adhesion as a signal transduction organelle. *Canc Metast Rev* 1994; 13:9-24.
- <sup>16</sup>Burridge K, Chrzanoska-Wodnicka M. Focal adhesions, contractility, and signaling. *Ann Rev Cell Dev Biol* 1996; 12:463-519.
- <sup>17</sup>Schwartz MA. Integrin signaling revisited. *Trends Cell Biol* 2001; 11:466-70.
- <sup>18</sup>Humphries MJ, McEwan PA, Barton SJ, Buckley PA, Bella J, Mould AP. Integrin structure: heady advances in ligand binding, but activation still makes the knees wobble. *Trends Biochem Sci* 2003; 28:313-20.
- <sup>19</sup>Dedhar S, Hannigan GE. Integrin cytoplasmic interactions and bidirectional transmembrane signalling. *Curr Opin Cell Biol* 1996; 8:657-69.
- <sup>20</sup>Hynes RO. Cell adhesion: old and new questions. *Trends Biochem Sci* 1999; 24: 33-7.
- <sup>21</sup>Williams, MJ, Hughes PE, O'Toole TE, Ginsberg MH. The inner world of cell adhesion: Integrin cytoplasmic domains. *Trends Cell Biol* 1994; 4:109-12.
- <sup>22</sup>Zhu X, Assoian RK. Integrin-dependent activation of MAP kinase: a link to shape-dependent cell proliferation. *Mol Biol Cell* 1995; 6:273-82.
- <sup>23</sup>Laflame SE, Auer KL. Integrin signaling. *Sem Cancer Biol* 1996; 7:111-8.
- <sup>24</sup>Assoian RK, Schwartz MA. Coordinate signaling by integrins and receptor tyrosine kinases in the regulation of G1 phase cell cycle progression. *Curr Opin Gen Dev* 2001; 11:48-53.



- <sup>25</sup>Alam N, Goel HL, Zarif MJ, Butterfield JE, Perkins HM, Sawyer TK, et al. The integrin-growth factor receptor duet. *J Cell Phys* 2007; 213:649–53.
- <sup>26</sup>Scheneller M, Vuori K, Rouslahti E.  $\alpha 3$  integrin associated with activated insulin and PDGF $\beta$  receptors and potentiates the biological activity of PDGF. *EMBO J* 1997; 16:5600-07.
- <sup>27</sup>Rouslahti E. Specialization of tumour vasculature. *Nat Rev* 2002; 2:83-90.
- <sup>28</sup>Scaffidi AK, Petrovic n, Moodley YP, Fogel-Petrovic M, Kroeger KM, Seeber RM, et al.  $\alpha 3$  integrin interacts with the transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) type II receptor to potentiate the proliferative effects of TGF- $\beta 1$  in living human lung fibroblasts. *J Biol Chem* 2004; 279:3726–33.
- <sup>29</sup>Sridhar S, Miranti CK. Tetraspanin KAI1/CD82 suppresses invasion by inhibiting integrin-dependent crosstalk with c-Met receptor and Src kinases. *Oncog* 2006; 25:2367–78.
- <sup>30</sup>Bill H, Knudsen B, Moores S, Muthuswamy S, Rao V, Brugge J, et al. (2004). Epidermal growth factor receptor-dependent regulation of integrin-mediated signaling and cell cycle entry in epithelial cells. *Mol Cell Biol* 2004; 24:8586-99.
- <sup>31</sup>Guan JL. Role of focal adhesion kinase in integrin signaling. *Int J Biochem Cell Biol* 1997; 29:1085-96.
- <sup>32</sup>Haber EP, Curi R, Carvalho CRO, Carpinelli AR. Secreção da Insulina: Efeito Autócrino da Insulina e Modulação por Ácidos Graxos. *Arq Bras Endoc Metab* 2001; 45:219-27.
- <sup>33</sup>Best L, Dunlop M, Malaisse WJ. Phospholipid metabolism in pancreatic islets. *Exp.* 1984; 40, 1085-91.
- <sup>34</sup>Lenz G. Mecanismo de Transdução de Sinal Ativados por Purinas, Pirimidinas e Fatores de Crescimento em Culturas de Astrócitos. [Tese de Doutorado]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2000.
- <sup>35</sup>Mitra SK, Hanson DA, Schaefer DD. Focal adhesion kinase: In command and control of cell motility. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6:56–68.
- <sup>36</sup>Gieger B, Spatz JP, Bershadsky AD. Environmental sensing through focal adhesions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10:21–33.
- <sup>37</sup>Humphries JD, Wang P, Streuli C, Geiger B, Humphries MJ, Ballestrem C. Vinculin controls focal adhesion formation by direct interactions with talin and actin. *J Cell Biol* 2007; 179:1043-57.
- <sup>38</sup>Kumar CC. Signaling by integrin receptors. *Oncog* 1998; 17:1365-73.
- <sup>39</sup>Martin EP, Curi R, Carvalho CRO, Carpinelli AR. Secreção da Insulina: Efeito Autócrino da Insulina e Modulação por Ácidos Graxo. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2001; 45:219-27.
- <sup>40</sup>Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol* 2007; 7:678–89.
- <sup>41</sup>Abram CL, Lowell CA, Clare L. The Ins and Outs of Leukocyte Integrin Signaling. *Ann Rev Immunol* 2009; 27:339-62.
- <sup>42</sup>Brown E, Hogg N. Where the outside meets the inside: integrins as activators and targets of signal transduction cascades. *Immunol Let* 1996; 54:189-93.
- <sup>43</sup>Kinashi T. Intracellular signalling controlling integrin activation in lymphocytes. *Nat Rev Immunol* 2005; 5:546–59.
- <sup>44</sup>Katagiri K, Kinashi T. Rap1 and integrin inside-out signaling. *Meth Mol Biol* 2012; 757:279-96.
- <sup>45</sup>Ghandour H, Cullere X, Alvarez A, Lusinskas FW, Mayadas TN. Essential role for Rap1 GTPase and its guanine exchange factor CalDAG-GEFI in LFA-1 but not VLA-4 integrin-mediated human T-cell adhesion. *Blood* 2007; 110:3682-90.
- <sup>46</sup>Hogg N, Patzak I, Willenbrock F. The insider's guide to leukocyte integrin signaling and function. *Nat Rev Immunol* 2011; 11:416-26.
- <sup>47</sup>Abbas AK, Lichtman, AH. *Imunologia Celular e Molecular*. 6ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.
- <sup>48</sup>Friedl P, Wolf K. Plasticity of cell migration: A multiscale tuning model. *J Cell Biol* 2010; 188:11–9.
- <sup>49</sup>Cox D, Brennan M, Moran N. Integrins as therapeutic targets: lessons and opportunities. *Nat Rev* 2010; 9:804-20.
- <sup>50</sup>Yonekawa K, Harlan JM. Targeting leukocyte integrins in human diseases. *J Leukoc Biol* 2005; 77:129-40.
- <sup>51</sup>Von Andrian UH, Mackay, CR. T-cell function and migration. Two sides of the same coin. *NEJM* 2000; 343:1020–34.
- <sup>52</sup>McEver RP. Selectins: lectins that initiate cell adhesion underflow. *Curr Opin Cell Biol* 2002; 14:581–6.
- <sup>53</sup>Carman, C. V., Springer, T. A. Integrin avidity regulation: are changes in affinity and conformation underemphasized? *Curr Opin Cell Biol* 2003; 15:547–56.
- <sup>54</sup>Schenkel AR, Mamdouh Z, Muller WA. Locomotion of monocytes on endothelium is a critical step during extravasation. *Nat Immunol* 2004; 5:393-400.
- <sup>55</sup>Schenkel AR, Mamdouh Z, Chen X, Liebman RM, Muller WA. CD99 plays a major role in the migration of monocytes through endothelial junctions. *Nat Immunol* 2002; 3:143-50.
- <sup>56</sup>Mizgerd JP, Meek BB, Kutkoski GJ, Bullard DC, Beaudet AL, Doerschuk CM. *Selectins and neutrophil traffic: margination and Streptococcus pneumoniae-induced emigration in murine lungs. J Exp Med* 1996; 184:639-45.
- <sup>57</sup>Wong J, Johnston B, Lee SS, Bullard DC, Smith CW, Beaudet AL, Kubes P. A minimal role for selectins in the recruitment of leukocytes into the inflamed liver microvasculature. *J Clin Invest* 1997; 99:2782-90.

- <sup>58</sup>Herwald H, Cramer H, Morgelin M, Russell W, Sollenberg U, Norrby-Teglund A, et al. M protein, a classical bacterial virulence determinant, forms complexes with fibrinogen that induce vascular leakage. *Cell* 2004; 116:367-79.
- <sup>59</sup>Hynes RO. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 2002; 110:673-87.
- <sup>60</sup>Wehrle-Haller B, Imhof BA. Integrin-dependent pathologies. *J Pathol* 2003; 200:481-7.
- <sup>61</sup>Phillips DR, Agin PP. Platelet membrane defects in Glanzmann's thrombasthenia. Evidence for decreased amounts of two major glycoproteins. *J Clin Invest* 1977; 60:535-45.
- <sup>62</sup>Bunting M, Harris ES, McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA. Leukocyte adhesion deficiency syndromes: adhesion and tethering defects involving  $\alpha 2$  integrins and selectin ligands. *Curr Opin Hematol* 2002; 9:30-5.
- <sup>63</sup>Alon R, Aker M, Feigelson S, Sokolovsky-Eisenberg M, Staunton DE, Cinamon G, et al. A novel genetic leukocyte adhesion deficiency in subsecond triggering of integrin avidity by endothelial chemokines results in impaired leukocyte arrest on vascular endothelium under shear flow. *Blood* 2003; 101:4437-45.
- <sup>64</sup>Alon R, Etzioni A. LAD-III, a novel group of leukocyte integrin activation deficiencies. *Trends Immunol* 2003; 24:561-6.
- <sup>65</sup>Lacy-Hulbert A, Smith AM, Tissire H, Barry M, Crowley D, Bronson RT, et al. Ulcerative colitis and autoimmunity induced by loss of myeloid  $\alpha v$  integrins. *PNAS USA* 2007; 104:15823-8.
- <sup>66</sup>Travis MA, Reizis B, Melton AC, Masteller E, Tang Q, Proctor JM, et al. Loss of integrin  $\alpha v$   $\beta 8$  on dendritic cells causes autoimmunity and colitis in mice. *Nat* 2007; 449: 361-5.
- <sup>67</sup>Liotta LA, Steeg PS, Steller-Stevenson WG. Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 1991; 64: 327-36.
- <sup>68</sup>Liekens S, De Clercq E, Neyts J. Angiogenesis: regulators and clinical applications. *Biochem Pharm* 2001; 61:253-70.
- <sup>69</sup>Pola C, Formenti SC, Schneider RJ. Vitronectin- $\alpha v \beta 3$  integrin engagement directs hypoxia-resistant mTOR activity and sustained protein synthesis linked to invasion by breast cancer cells. *Cancer Res* 2013; 73:4571-8.
- <sup>70</sup>Bianchi-Smiraglia A, Paesante S, Bakin AV. Integrin  $\alpha 5$  contributes to the tumorigenic potential of breast cancer cells through the Src-FAK and MEK-ERK signaling pathways. *Oncogene* 2013; 32:3049-58.
- <sup>71</sup>Lamb LE, Zarif JC, Miranti CK. The Androgen Receptor Induces Integrin  $\alpha 6 \beta 1$  to Promote Prostate Tumor Cell Survival via NF- $\kappa B$  and Bcl-xL Independently of PI3K Signaling. *Cancer Res* 2011; 71:2739-45.
- <sup>72</sup>Giannis A, Rübsam F. Integrin antagonists and other low molecular weight compounds as inhibitors of angiogenesis: new drugs in cancer therapy. *Angew Chem Int Ed* 1997; 36:588-90.
- <sup>73</sup>Silva THA, Butera AP, Leal DHS, Alves RJ. Agentes antitumorais inibidores da angiogênese – Modelos farmacofóricos para inibidores da integrina  $\alpha v \beta 3$ . *Braz J Pharm Sci* 2007; 43(1):1-17.
- <sup>74</sup>Major EO. Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients on immunomodulatory therapies. *Ann Rev Med* 2010; 61:35-47.
- <sup>75</sup>Rudick RA, Panzara MA. Natalizumab plus interferon  $\alpha 1 a$  for relapsing multiple sclerosis. *NEJM* 2006; 354:911-23.
- <sup>76</sup>Hersey P, Sosman J, O'Day S, Richards J, Bedikian A, Gonzales R, et al. A randomized phase 2 study of etaracizumab, a monoclonal antibody against integrin  $\alpha v \beta 3$   $\pm$  dacarbazine in patients with stage IV metastatic melanoma. *Cancer* 2010; 116:1526-34.
- <sup>77</sup>Bonaca, MP, Steg PG, Feldman LJ, Canales JF, Ferguson JJ, Wallentin L, et al. Antithrombotics in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54:969-84.
- <sup>78</sup>Arosio D, Casagrande C, Manzoni L. Integrin-Mediated Drug Delivery in Cancer and Cardiovascular Diseases with Peptide-Functionalized Nanoparticles. *Curr Med Chem* 2012; 19:3128-51.
- <sup>79</sup>Chung, CH, Wu, WB, Huang, TF. Aggretin, a snake venom-derived endothelial integrin  $\alpha 2 \beta 1$  antagonist, induces angiogenesis via expression of vascular endothelial growth factor. *Blood* 2004; 103:2105-12.