

Efeito da glicose sobre o estado de ativação de células estreladas hepáticas.

Ketlen da Silveira Moraes (autora); Fátima Costa Rodrigues Guma (orientadora).

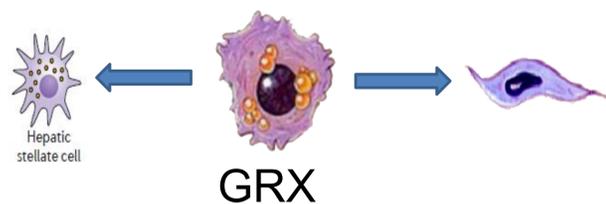


Figura 1: Esquema ilustrativo mostrando que as células GRX, representativas das Células Estreladas Hepáticas (HSC), apresentam características intermediárias de ativação, podendo em cultura serem induzidas tanto para um fenótipo quiescente quanto para um mais ativado.

INTRODUÇÃO

A fibrose hepática é uma doença causada por danos contínuos ao fígado. As células estreladas hepáticas (HSC) são protagonistas desse processo. Em resposta aos danos ao fígado, as HSC sobrem um processo de ativação, modificam seu fenótipo quiescente lipocítico, caracterizado pela capacidade de armazenar vitamina A em gotas lipídicas, para um fenótipo miofibroblastóide proliferativo, caracterizado pela perda das gotas lipídicas e por alterações no citoesqueleto celular relacionadas ao aumento da expressão e rearranjo das fibras de α -actina de músculo liso (α -SMA). No estado ativado, as HSC também promovem uma alteração da matriz extracelular hepática aumentando a síntese de colágeno I (Col-1), característico das cicatrizes fibróticas. Em nível molecular, a SIRT1 (sirtuína 1 – é uma deacetilase, regulando uma grande variedade de processos fisiopatológicos, como apoptose e proliferação celular). No metabolismo de lipídeos, a SIRT1 interage com o PPAR γ que é um fator de transcrição relacionado à lipogênese, inibindo a síntese e acúmulo de lipídeos. Também já foi demonstrado que a expressão de PPAR γ é alta em tecidos hepáticos normais, sobretudo nas HSC quiescentes. Nosso grupo de pesquisa, utiliza como modelo experimental a linhagem GRX, um modelo de HSC no fenótipo ativado.

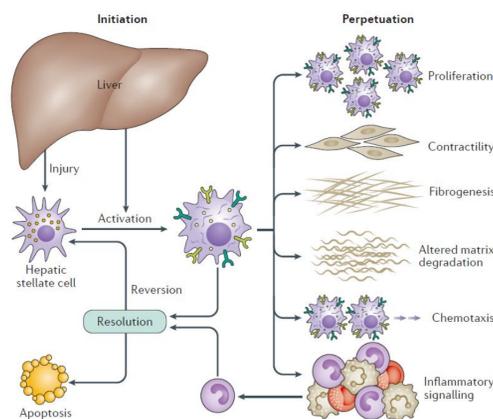


Figura 2: Esquema ilustrativo da ativação das células estreladas hepáticas (HSCs).

OBJETIVO:

O objetivo deste trabalho foi investigar a influência da glicose no estado de ativação das HSCs, utilizando a linhagem GRX.

MATERIAIS E MÉTODOS

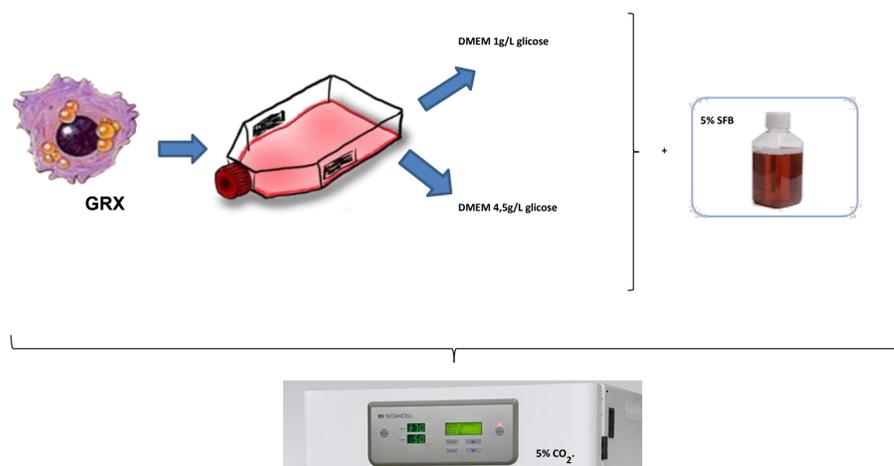


Figura 3: Esquema ilustrativo da manutenção da linhagem GRX.

As células GRX, foram cultivadas em meio DMEM com baixa concentração de glicose (1g/L de glicose, DMEM L), meio padrão para essa célula, e meio DMEM com alta concentração de glicose (4,5 g/L de glicose, DMEM H), acrescidos de 5% de soro fetal bovino. As culturas eram mantidas a 37°C e 5% de CO₂.

MATERIAIS E MÉTODOS

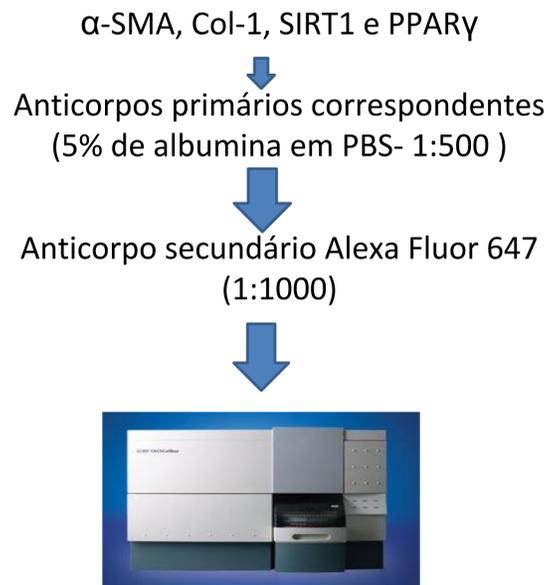


Figura 4: Esquema ilustrativo do experimento de quantificação das proteínas.

A quantificação das proteínas marcadoras do estado de ativação da HSC: α -SMA, Col-1 e do estado metabólico: SIRT1 e PPAR γ , foi realizada por imunocitoquímica de fluorescência seguida de mensuração por citometria de fluxo.

RESULTADOS

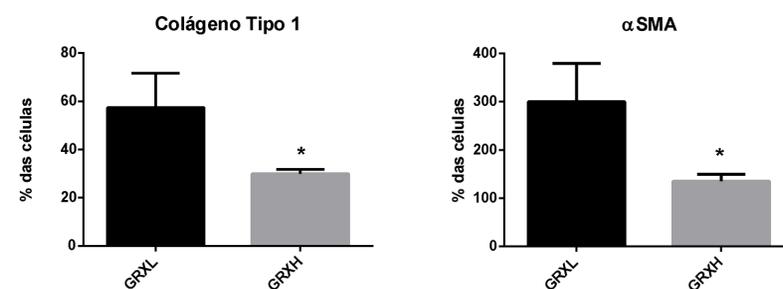


Figura 5: Expressão das proteínas Colágeno-I (Col-I) e alfa actina de músculo liso (α SMA) nas células GRX medidas por citometria de fluxo, conforme descrito em materiais e métodos. GRXL, cultivadas em meio com 1g/L de glicose; GRXH: cultivadas com meio com 4,5g/L de glicose. Os resultados representam a média \pm DP.

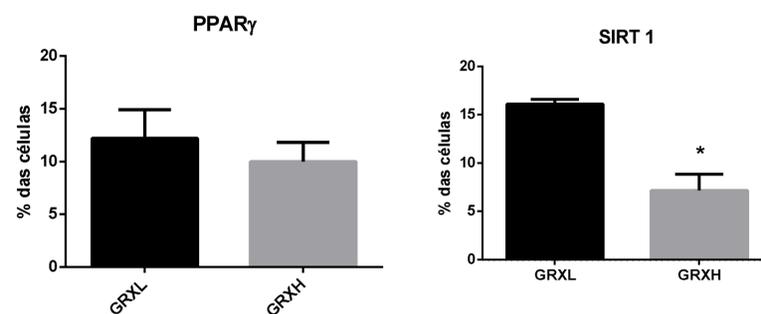


Figura 6: Expressão das proteínas PPAR γ e SIRT 1 nas células GRX medidas por citometria de fluxo, conforme descrito em materiais e métodos. GRXL, cultivadas em meio com 1g/L de glicose; GRXH: cultivadas com meio com 4,5g/L de glicose. Os resultados representam a média \pm DP.

CONCLUSÃO E DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que quando as células GRX foram cultivadas em meio com alta concentração de glicose houve um aumento na expressão das proteínas α -SMA, Col-1 e SIRT1, conhecidas como marcadoras do estado ativado das HSC. No entanto, não houve aumento da expressão proteica de PPAR γ , marcadora do estado quiescente. Em estudo anterior, mostramos que nas células GRX a lipogênese está diretamente relacionada com a razão entre as expressões das proteínas PPAR γ e SIRT1, sendo que sempre que a razão PPAR γ /SIRT1 >1 a síntese e acúmulo de lipídeos será favorecida. Tomando como base esse estudo, sugerimos que a diminuição na expressão de SIRT1, provocada pela glicose, favorece o aumento na relação PPAR γ /SIRT1 sinalizando a modulação das células GRX para um estado quiescente. Considerando o papel das HSC em doenças do fígado, acreditamos que os estudos com a linhagem GRX e especialmente a busca de tratamentos ou condições experimentais que possam manter a célula no estado quiescente, característico do fígado sadio, podem representar uma ferramenta experimental promissora para o conhecimento e tratamento da fibrose hepática.