

Autor: Ana Luiza Perez Olivé Dias  
Orientador: Rodrigo Carlessi

## Introdução

A reposição de ilhotas pancreáticas é a forma mais eficaz de restabelecimento da homeostase glicêmica em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 com controle metabólico instável. Entretanto, a massiva perda de ilhotas ao longo de seu isolamento do pâncreas de doadores em morte encefálica (ME) restringe a eficiência do processo como um todo, o que dificulta a adoção do transplante de ilhotas como prática clínica de rotina para o tratamento destes pacientes. Entre os principais fatores responsáveis pela perda das ilhotas podemos destacar o intenso estresse inflamatório produzido pela ME do doador. Alguns estudos demonstram que a exenatide, um análogo do *glucagon-like peptide-1 (GLP-1)*, pode atuar diretamente sobre a célula  $\beta$  e exercer atividades antiinflamatórias e pró-proliferativas, levando a uma diminuição na apoptose e ao aumento da viabilidade destas células em cultura. Nós hipotetizamos que essa droga poderia amenizar os danos causados pela ME nas ilhotas, melhorando, assim, a qualidade destas para transplante e, possivelmente, a sobrevida dos enxertos.

## Objetivos

Os objetivos deste estudo foram determinar o efeito da administração de exenatide em relação a viabilidade celular de ilhotas pancreáticas recém isoladas. Além de avaliar a expressão gênica de genes relacionados a inflamação e apoptose.

## Material e Métodos

Ratos Wistar machos pesando entre 300-350 gramas foram separados em 3 grupos experimentais: Controle, morte encefálica (ME) e morte encefálica + exenatide 5 $\mu$ g/Kg (EXE). Após os procedimentos cirúrgicos, os pâncreas foram removidos e a viabilidade celular das ilhotas isoladas foi determinada através do ensaio de diacetato de fluoresceína / iodeto de propídeo (FDA/PI) (Figura1). As expressões gênicas de *IL-1 $\beta$*  e *BCL2* foram determinadas pela técnica de PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR) (Figura2).

Figura 1

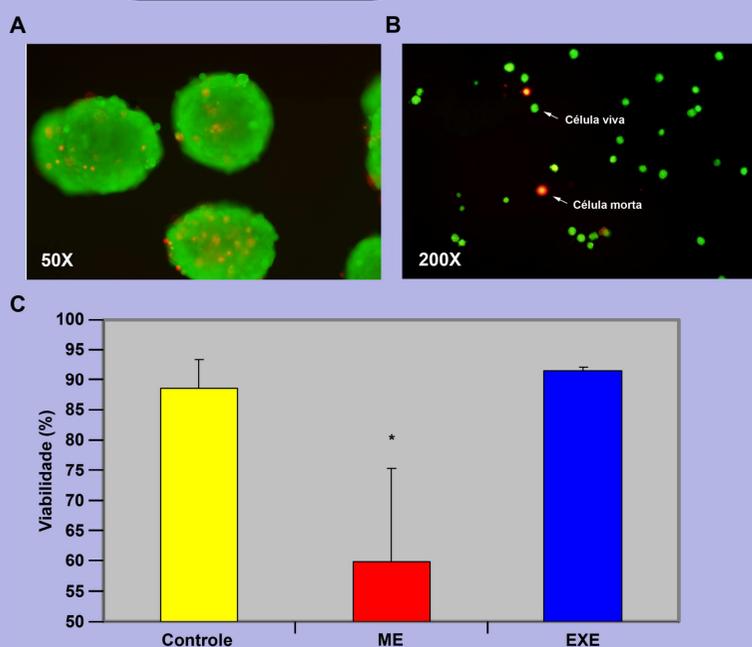


Figura 1. O tratamento com exenatide protege ilhotas pancreáticas contra a redução de viabilidade causada pela morte encefálica.

A-Ilhotas recém isoladas marcadas com fluoresceína e iodeto de propídeo (FDA/PI). B-Ilhotas dispersas por tratamento com Dispase II e posteriormente marcadas com FDA e PI. Em destaque, célula viva marcada com FDA e célula morta marcada com PI. C-Quantificação da viabilidade celular através de contagem das células marcadas com FDA/PI sob microscopia de fluorescência.

\* representa um valor  $p < 0,05$ .

## Resultados

Observou-se uma redução significativa da viabilidade celular em ilhotas isoladas do grupo ME e a exenatide protegeu contra esta redução de viabilidade (Figura 1C) ( $59,8\% \pm 15,5\%$  vs.  $88,6\% \pm 4,8\%$  vs.  $91,6\% \pm 0,6\%$ , respectivamente;  $p=0,011$ ). Além disso, um robusto e significativo aumento na expressão de *IL-1 $\beta$*  pôde ser observado nos pâncreas de animais do grupo ME em comparação com animais dos grupos controle e EXE (Figura 2A) ( $17,5 \pm 12,1$  vs.  $1,9 \pm 1,7$  vs.  $1,9 \pm 2,6$ ,  $p=0,012$ ). Por último, nossos dados sugerem um aumento na expressão de *BCL2* nas ilhotas isoladas dos animais do grupo ME quando comparadas aos grupos controle e EXE (Figura 2B) ( $1,36 \pm 0,12$  vs.  $1,0 \pm 0,25$  vs.  $0,93 \pm 0,28$ ;  $p=0,11$ ).

Figura 2

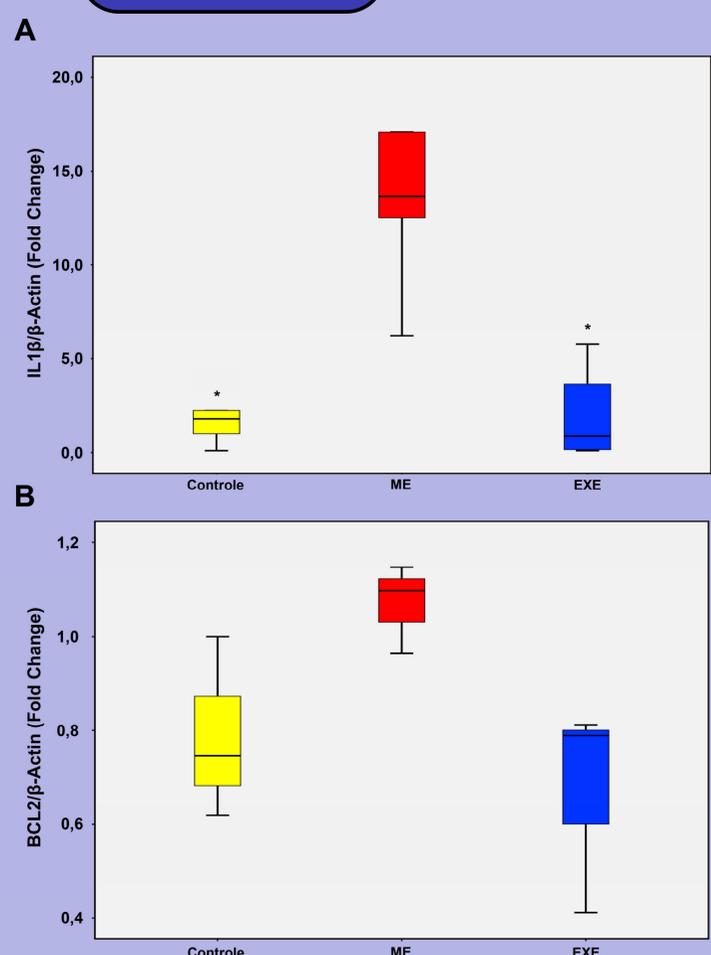


Figura 2. O tratamento com exenatide atenua o efeito que a morte encefálica exerce na expressão de genes relacionados a inflamação e apoptose.

A-Quantificação relativa da expressão gênica de *IL-1 $\beta$*  no tecido pancreático através de RT-qPCR. B- Quantificação relativa da expressão gênica de *BCL2* em ilhotas recém isoladas através de RT-qPCR.

\* representa um valor  $p < 0,05$ .

## Conclusão

Nossos dados indicam um aumento do estado inflamatório, além de uma diminuição da viabilidade das ilhotas provenientes dos animais em ME. Assim como sugerido previamente, o tratamento com exenatide protegeu as ilhotas de tais efeitos deletérios causados pela ME. Os resultados deste estudo poderão ser traduzidos em uma nova estratégia para a melhoria da qualidade das ilhotas pancreáticas destinadas a transplante.