



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	A via GRP/GRPR altera a capacidade invasora de fibroblastos sinoviais da artrite experimental e possivelmente atua via PI3K/Akt
Autor	RENATA TERNUS PEDÓ
Orientador	RICARDO MACHADO XAVIER

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Título: A via GRP/GRPR altera a capacidade invasora de fibroblastos sinoviais da artrite experimental e possivelmente atua via PI3K/Akt.

Autor: Renata Ternus Pedó.

Orientador: Ricardo Machado Xavier.

Introdução: Artrite reumatoide (AR) é uma doença inflamatória, autoimune e sistêmica de etiologia desconhecida. Entretanto, já é descrito que diversos tipos celulares estão envolvidos nos mecanismos da patogênese da doença, sendo um dos principais os fibroblastos sinoviais (FLS). Estes apresentam perfil agressivo e invasor, levando a degradação da cartilagem e do osso. Esta capacidade invasora *in vitro* está correlacionada com o dano articular em pacientes com AR. Ainda assim, pouco se sabe sobre a regulação da capacidade invasora desta célula, entretanto acredita-se estar relacionada com algumas vias intracelulares como a via da PI3K/AKT. O peptídeo liberador da gastrina (GRP) e o seu receptor (GRPR) estão envolvidos em diversas funções, incluindo a resposta inflamatória. Ambos são encontrados na membrana e no fluido sinovial de pacientes com AR. RC-3095 é um dos antagonistas do GRPR, o qual apresenta efeito anti-inflamatório em diferentes modelos de artrite.

Objetivo: Avaliar o papel do GRP/GRPR sobre a capacidade invasora dos FLS e seu envolvimento sobre a via da PI3K/AKT.

Métodos: Os FLS utilizados no estudo foram previamente isolados das membranas sinoviais das articulações de camundongos com artrite induzida por colágeno. A viabilidade celular dos FLS foi verificada através do ensaio de sulforrodamina B (SRB) após tratamento com LY294002 (1-10 μM) e através do ensaio de brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol (MTT) após tratamento com GRP (0,1-10 μM) e com RC-3095 (0,05-10 μM) por 24h. O teste de invasão celular de FLS (n=5) foi realizado em insertos de matriz gel (matriz de colágeno) na presença de: *i*) GRP (10 μM), RC-3095 (1 μM) e GRP + RC-3095; *ii*) LY294002 (10 μM), GRP (10 μM) e LY294002+GRP, ambos durante 24 horas. Para determinação dos níveis de AKT e AKT fosforilada (p-Akt), foi realizado western blot utilizando lisados proteicos de FLS preparados após exposição ao GRP (10 μM) por diferentes tempos (5-30 minutos). A concentração das proteínas extraídas foi estimada através do método de Bradford. Os resultados estão expressos como média \pm erro padrão. A diferença entre os grupos experimentais foi observada através do modelo de equação generalizada estimada (GEE) seguida de comparação pareada (pairwise comparison) no programa SPSS e foi considerada significativa quando $p \leq 0,05$.

Resultados e conclusões: A partir da viabilidade celular foram selecionadas as seguintes doses: 10 μM para GRP, 1 μM para RC-3095 e 10 μM para LY294002. Dados preliminares deste projeto mostram que o GRP é capaz de aumentar a invasão celular (5356 ± 767), enquanto que o RC-3095 é capaz de diminuir (1722 ± 271) a mesma, quando comparados com o controle sem tratamento (2888 ± 386). Quando utilizados em conjunto o RC-3095 inibe o efeito do GRP (2670 ± 499). O tratamento com LY294002 foi capaz de diminuir a invasão celular ($6625,80 \pm 1296,354$), quando comparado ao controle sem tratamento ($9088,40 \pm 1040,914$) e ao tratamento com GRP ($10464,40 \pm 969,032$). Quando as células foram expostas aos tratamentos em conjunto ocorreu uma diminuição na capacidade invasora do FLS ($7237,80 \pm 1189,880$), quando comparado ao GRP. Adicionalmente, o tratamento com GRP levou a um aumento da expressão proteica de AKT e de p-AKT ao longo do período de tratamento. Dessa forma, pode-se sugerir que o efeito estimulador do GRP sobre a capacidade de invasão dos FLS está relacionado com a via PI3K/AKT, através da ativação da síntese proteica de AKT e da fosforilação da mesma. Portanto, a via do GRP/GRPR apresenta grande potencial como alvo terapêutico para a AR, sendo que o efeito de inibição da invasão dos FLS pode levar à redução da erosão articular progressiva.