

# PADRONIZAÇÃO DE UM MODELO DE CULTURA DE CÉLULAS ESTROMAIS ENDOMETRIAIS COM CARACTERÍSTICAS DE SÍNDROME DE OVÁRIOS POLICÍSTICOS E O EFEITO DA METFORMINA NA EXPRESSÃO DA pAkt e pERK

Tadeu Ludwig do Nascimento<sup>1,2</sup>; Amanda de Barros Machado<sup>1,2</sup>; Gustavo Dias Ferreira<sup>1,2</sup>; Aline Lopes Amaral<sup>1,2</sup>; Ilma Simoni Brum da Silva<sup>1,2</sup>; Helena Von Eye Corleta<sup>1,2</sup>; Edison Capp<sup>1,2</sup>

1. Laboratório de Ginecologia e Obstetrícia Molecular(LaGOM), Hospital de Clínicas de Porto Alegre - RS - Brasil

2. Laboratório de Biologia Molecular, Endócrina e Tumoral(LaBiMET), Departamento de Fisiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil

## INTRODUÇÃO

A síndrome dos ovários policísticos (SOP) é um distúrbio endócrino-ginecológico que afeta de 5 a 10 % das mulheres em idade reprodutiva, e caracteriza-se por, principalmente, hiperandrogenismo e hiperinsulinemia.

Anovulação é característico em 70% das mulheres com SOP, o que pode acarretar infertilidade.

**Tratamento:**

- 1ª opção: dieta e exercícios físicos;
- 2ª opção: agentes insulino-sensibilizantes (sobretudo metformina).

Fatores de crescimento como a insulina estão envolvidos na preparação do endométrio para a implantação do blastocisto.

Proteínas da via da insulina como Akt e ERK estão envolvidas no crescimento, proliferação, mitose e metabolismo celular.

## OBJETIVOS

- Padronizar um modelo de hiperandrogenismo e hiperinsulinemia em células estromais endometriais *in vitro*, simulando a SOP;
- Analisar a resposta da viabilidade celular nos diferentes grupos criados;
- Analisar a expressão de pAkt e pERK após tratamento com Metformina.

## MÉTODO

- Estudo experimental *in vitro*.
- O endométrio foi coletado de pacientes submetidas a histerectomia no HCPA e foram mantidas em cultura em seis grupos:

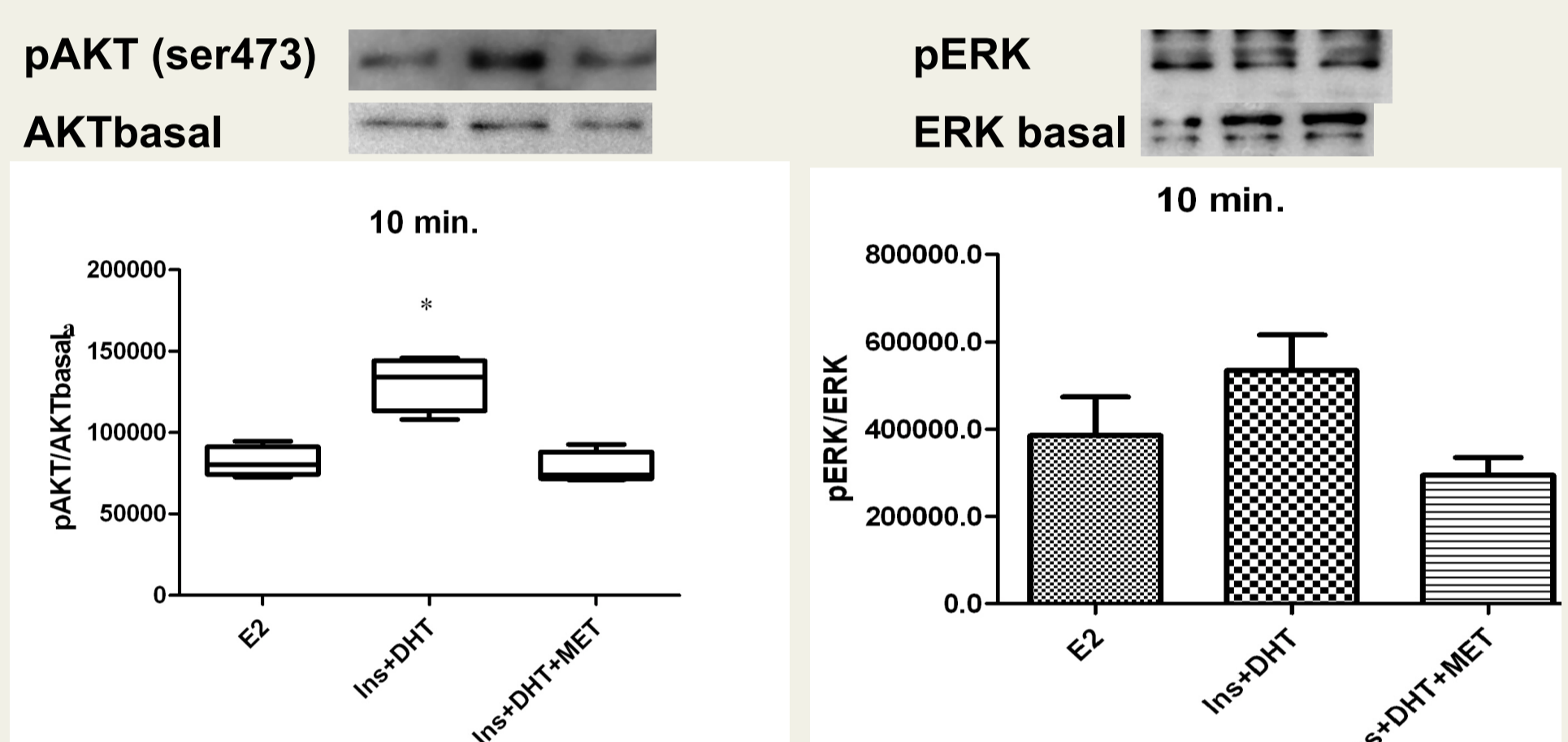
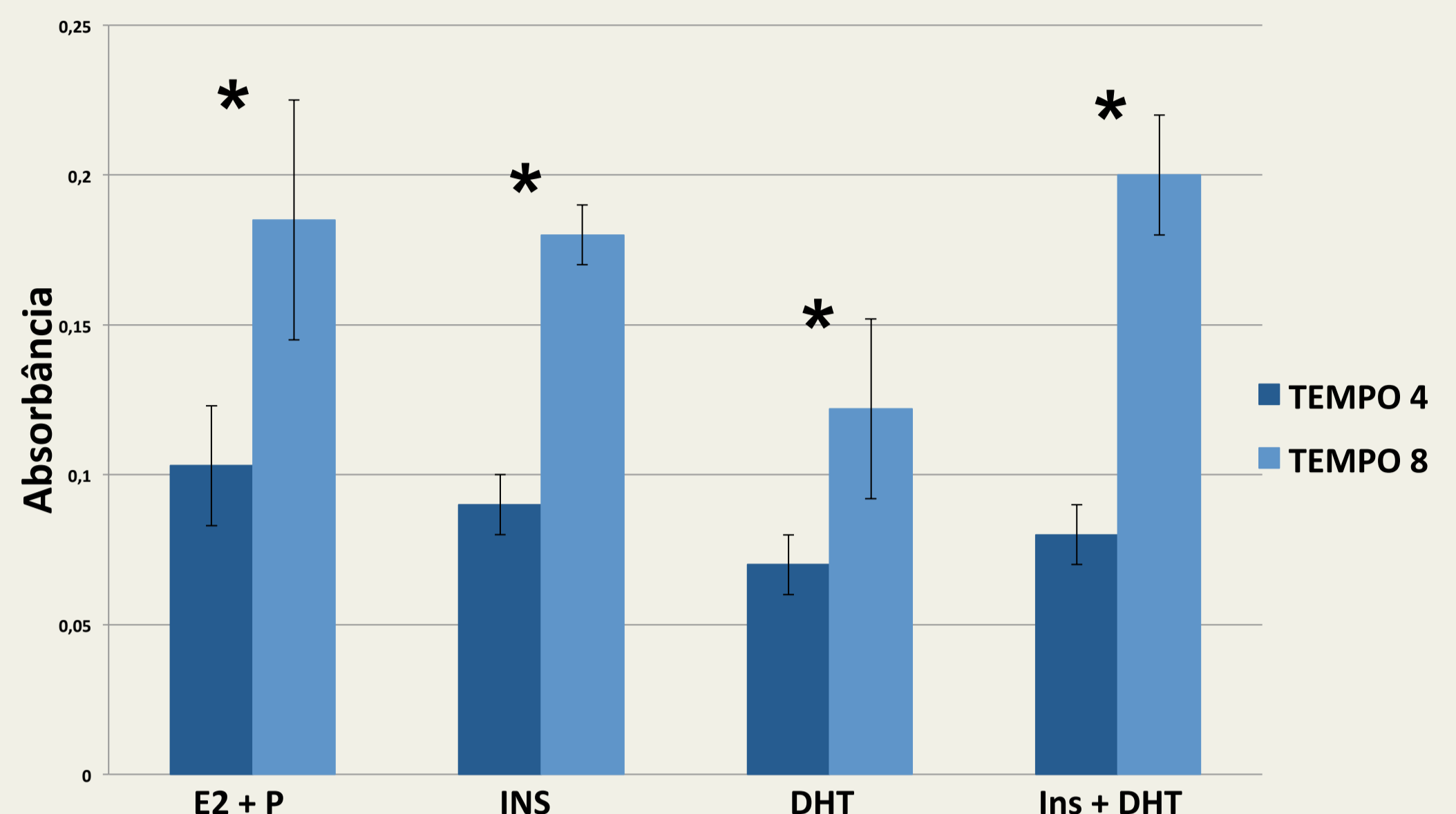
<b>E2 + P</b>	• Estrogênio + Progesterona
<b>E2</b>	• Estrogênio
<b>INS</b>	• Estrogênio + Progesterona + Insulina
<b>DHT</b>	• Estrogênio + Progesterona + Dihidrotestosterona
<b>Ins + DHT</b>	• Estrogênio + Progesterona + dihidrotestosterona + Insulina
<b>Ins +DHT + MET</b>	• Estrogênio + Progesterona + dihidrotestosterona + Insulina + Metformina

- Para analisar a proliferação celular foi utilizado o Ensaio de MTT. Tais dados foram analisados através do teste de Equações de Estimção Generalizada (GEE), seguido de Bonferroni;
- O tratamento com Metformina foi realizado durante 10 minutos e 24 horas;
- Proteínas foram extraídas com RIPA e analisadas por Western blotting. Esses dados foram analisados pelos testes de Kruskal – Wallis e ANOVA seguido de Bonferroni.

## RESULTADOS

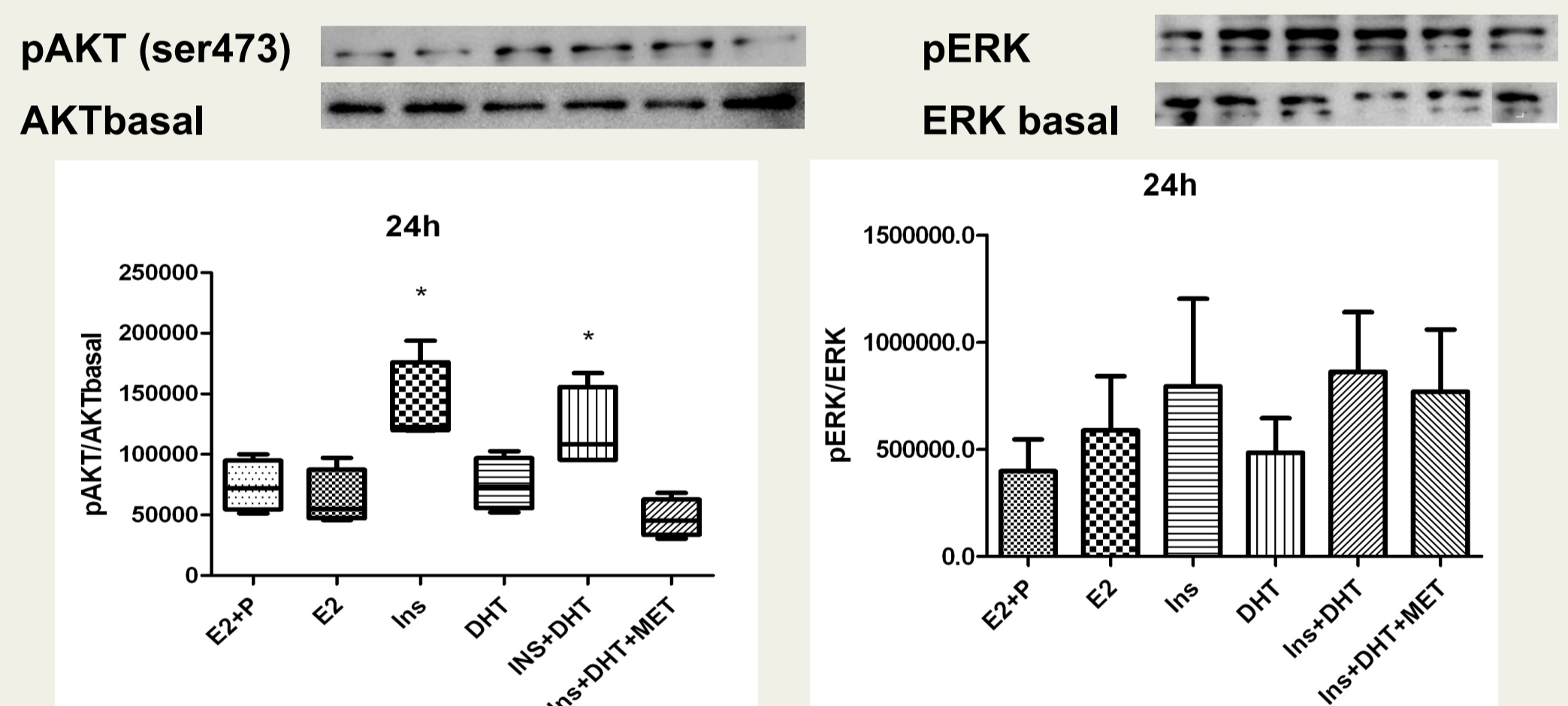
	E <sub>2</sub>	P	Ins	DHT	Met
E2 + P	10 <sup>-8</sup> mol/L	10 <sup>-6</sup> mol/L			
E2	10 <sup>-8</sup> mol/L				
INS	10 <sup>-8</sup> mol/L	10 <sup>-6</sup> mol/L	100 ng/mL		
DHT	10 <sup>-8</sup> mol/L	10 <sup>-6</sup> mol/L		10 <sup>-6</sup> mol/L	
DHT + Ins	10 <sup>-8</sup> mol/L	10 <sup>-6</sup> mol/L	100 ng/mL	10 <sup>-6</sup> mol/L	
DHT + Ins + MET	10 <sup>-8</sup> mol/L	10 <sup>-6</sup> mol/L	100 ng/mL	10 <sup>-6</sup> mol/L	10mM

## Análise da viabilidade celular



pAKT/AKT: houve diferença comparada entre o grupo "Ins + DHT" com os grupos controle e o grupo "Ins + DHT + MET" (\* $P = 0,02$ )

pERK/ERK: não houve diferença significativa ( $P = 0,12$ )



pAKT/AKT: houve diferença comparada entre os grupos "Ins" e "Ins + DHT" com os grupos controles e o grupo "Ins + DHT + MET" (\* $P = 0,007$ )

pERK/ERK: não houve diferença significativa ( $P = 0,79$ )

## CONCLUSÃO

- As células estromais mantiveram-se viáveis e proliferando ao longo do tempo dentro do protocolo proposto;
- O modelo proposto por este estudo envolveu características da SOP;
- O grupo "Ins" expressou maior concentração de pAkt quando tratado por 10 minutos quando comparados ao grupo controle e ao Grupo "Ins + DHT + MET";
- Os grupos "Ins" e "Ins + DHT" tratados por 24 horas expressaram maior concentração de pAkt quando comparados aos grupos controles e ao grupo "Ins + DHT + MET";
- O tratamento não afetou a expressão de pERK.

## PERSPECTIVAS

- Analisar os efeitos do tratamento por 48 horas;
- Analisar outras proteínas da via da Insulina;
- Aumentar o tamanho da amostra.