

29910

EFEITO CITOPROTETOR DA FRUTOSE-1,6-BISFOSFATO EM ILHOTAS DE LANGERHANS MURINAS MANTIDAS EM CULTURA

Lucas Kich Grün, Patricia Sesterheim, Jarbas Rodrigues de Oliveira, David Saitovitch, Fatima Theresinha Costa Rodrigues Guma, Florencia Maria Barbé-Tuana

O diabetes mellitus tipo 1 (DM1) é uma síndrome autoimune órgão-específica caracterizada pela destruição seletiva de células β nas ilhotas pancreáticas. Dentre as estratégias de tratamento disponíveis estão a insulino-terapia, o transplante de pâncreas, e, ainda em caráter experimental, o transplante de ilhotas pancreáticas. O transplante de ilhotas oferece vantagens por ser um procedimento pouco invasivo. O principal fator envolvido no sucesso do transplante de ilhotas é a necessidade de um número mínimo de ilhotas viáveis e funcionais a ser transplantado. Tentando minimizar a perda associada ao procedimento de isolamento/purificação de ilhotas pancreáticas, uma das estratégias é incubar as ilhotas com diferentes moléculas citoprotetoras. Dentre delas, tem sido demonstrada a ação protetora da frutose-1,6-bisfosfato (FBP) associada a um efeito anti-inflamatório, estimulando a glicólise e impedindo a formação de radicais livres. Neste trabalho, nosso objetivo foi avaliar a ação citoprotetora da FBP sobre ilhotas pancreáticas murinas mantidas em cultura celular. Foram utilizados camundongos isogênicos da linhagem C57BL/6. Os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical e submetidos à tricotomia e laparotomia abdominal em U. O pâncreas foi distendido com uma solução de colagenase tipo V e posteriormente removido. O tecido digerido foi filtrado e as ilhotas obtidas foram separadas por centrifugação isopícnica em gradiente de ficoll (Cellgro). As células isoladas foram mantidas em cultura por 24h com meio CMRL suplementado com 10% de soro fetal bovino e diferentes concentrações de FBP. A viabilidade foi determinada pela marcação das células com diacetato de fluoresceína (FDA) e iodeto de propídeo (PI). As imagens das ilhotas coradas com FDA/PI foram adquiridas em um Microscópio Confocal FV1000 (Olympus). O percentual de viabilidade foi calculado pela quantificação da área positiva para PI em relação à área total da ilhota, e as diferenças entre os grupos foram determinadas por ANOVA de uma via seguido pelo teste de post-hoc de Duncan. A análise estatística demonstrou que a incubação das ilhotas pancreáticas em altas concentrações de FBP (1,25mM; 2,5mM e 5mM) reduz a morte celular das ilhotas pancreáticas quando comparadas ao grupo controle ($P < 0,05$), comprovando a hipótese da ação citoprotetora da FBP. A descoberta de moléculas citoprotetoras que possam aumentar ou preservar as culturas in vitro de ilhotas pancreáticas por diferentes períodos é de vital importância no auxílio do transplante dessas células. Este projeto é parte do projeto nº 20472 aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFRGS. Palavras Chave: Frutose-1,6-bisfosfato; DM1; Cultura celular; ilhotas pancreáticas.