

## INTRODUÇÃO

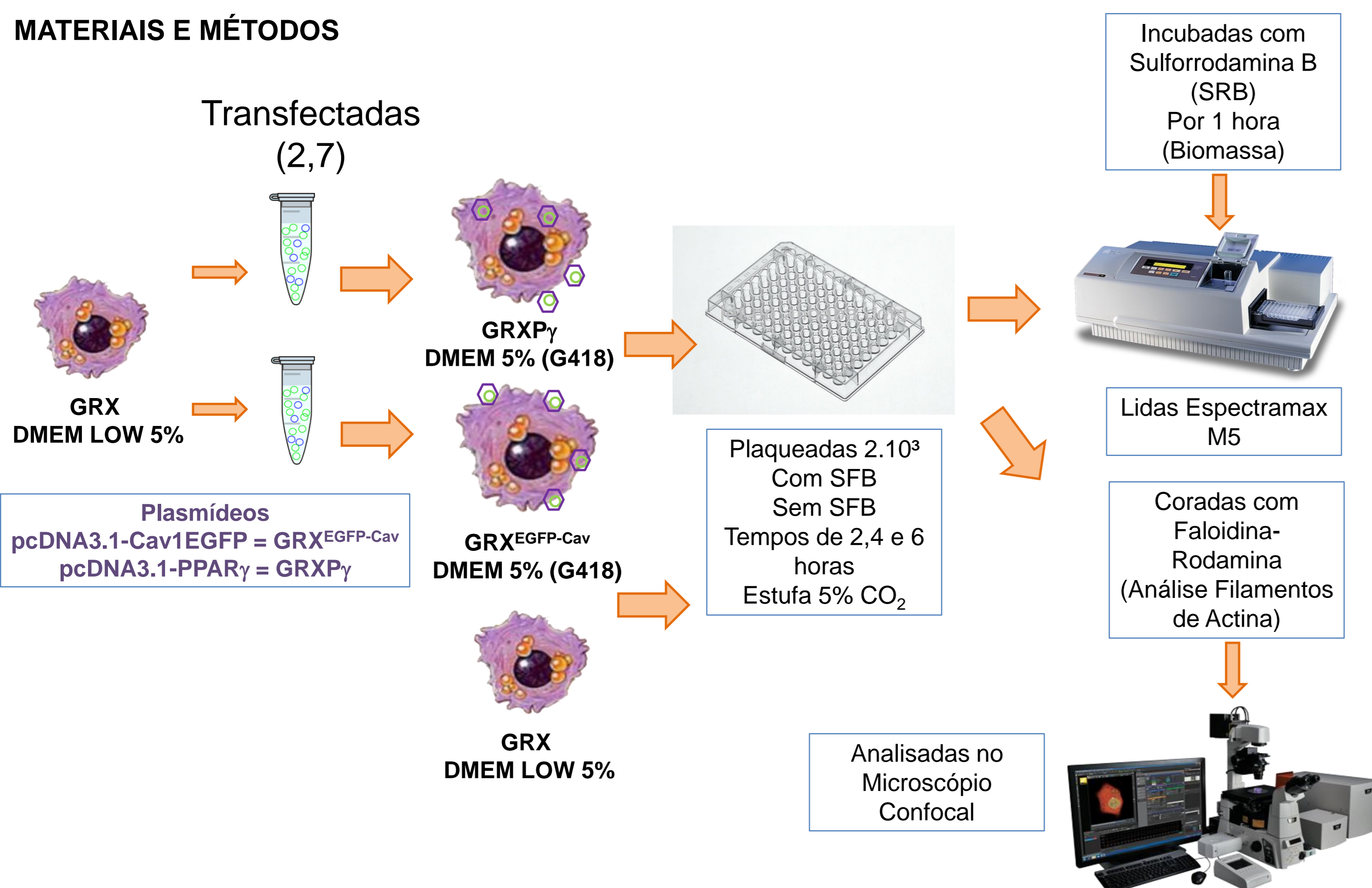
A fibrose hepática é uma forma comum de cicatrização de lesões crônicas no tecido hepático. As células estreladas hepáticas (HSC) são mediadores centrais do processo fibrótico. Um dos principais eventos da fibrogênese é a ativação das HSC. A linhagem celular GRX é um modelo bem estabelecido de HSC ativadas. Sabe-se que em fígados cirróticos há um aumento na expressão de Caveolina-1 (Cav-1) e uma diminuição na de PPAR $\gamma$  em HSC. Estudos recentes mostram que a reversão da ativação das HSC para o estado quiescente pode ser um evento subjacente a regressão da fibrose hepática. Nesse sentido, estabelecemos duas linhagens derivadas da GRX, uma superexpressora de Caveolina-1 (Cav-1) e outra de PPAR $\gamma$ .

As caveolinas são as principais proteínas estruturantes das caveolas, sendo a Cav-1 a principal (1). Cav-1 conduz a formação das caveolas na membrana plasmática, sendo responsável pela ligação com o citoesqueleto de actina, pela modulação da interação com a matriz extracelular, além de, reunir e modular moléculas de sinalização, e transportar colesterol.

Os receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PPAR) são um grupo de proteínas nucleares que regulam a expressão de genes envolvidos com o metabolismo de lipídios. Uma das isoformas é o PPAR $\gamma$  que induz o armazenamento de lipídios. HSC ativadas apresentam uma significativa diminuição da expressão do PPAR $\gamma$ . De maneira oposta, a indução do aumento de expressão do PPAR $\gamma$  é suficiente para restabelecer diversos marcadores do fenótipo quiescente das HSC.

O estudo das propriedades de adesão das linhagens GRX<sup>EGFP-Cav</sup> e GRXP $\gamma$  faz parte da caracterização dessas duas novas linhagens. O presente estudo teve como objetivo investigar as propriedades de adesão das linhagens GRX, GRX<sup>EGFP-Cav</sup> e GRXP $\gamma$  na presença ou ausência de soro fetal bovino (SFB).

## MATERIAIS E MÉTODOS



## RESULTADOS

A linhagem GRX<sup>EGFP-CAV</sup> mostrou já em 2 horas de incubação um aumento significativo na adesão celular com a presença de SFB comparadas com a linhagem GRX. O mesmo ocorreu com a linhagem que superexpressa a PPAR $\gamma$ , GRXP $\gamma$ .

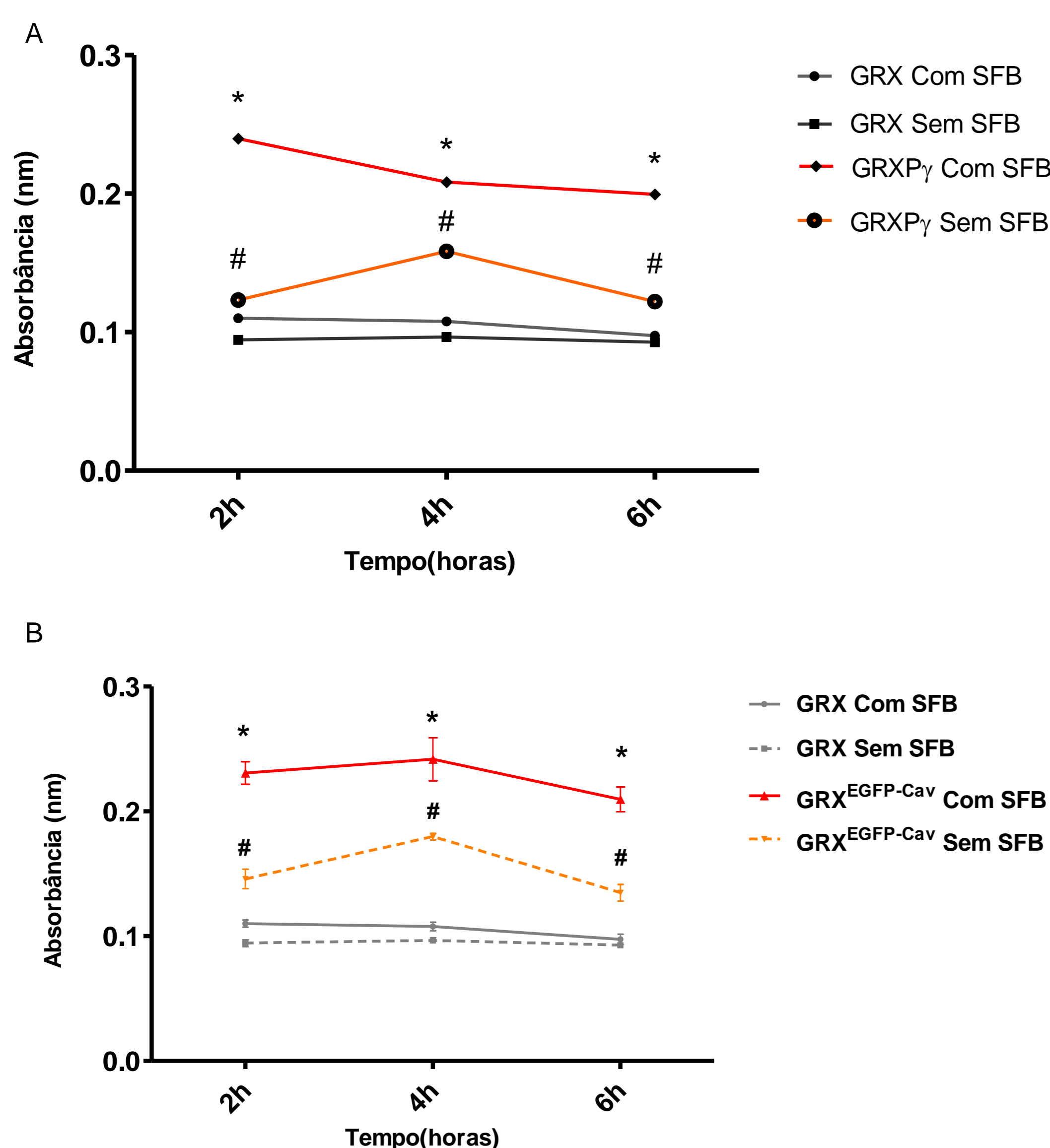


Figura 1 : Adesão celular das linhagens GRX, GRXP $\gamma$  e GRX<sup>EGFP-Cav</sup> e na presença e na ausência de SFB através da técnica da SRB (n = 6). Dados apresentados como médias  $\pm$  SEM. (A) \*  $p \leq 0,05$  em comparação com GRXP $\gamma$  sem SFB e GRX com ou sem SFB. #  $p \leq 0,05$  em comparação com GRXP $\gamma$  com SFB e GRX com ou sem SFB. (B) \*  $p \leq 0,05$  em comparação com GRX<sup>EGFP-Cav</sup> sem SFB e GRX com ou sem SFB. #  $p \leq 0,05$  em comparação com GRX<sup>EGFP-Cav</sup> com SFB e GRX com ou sem SFB.

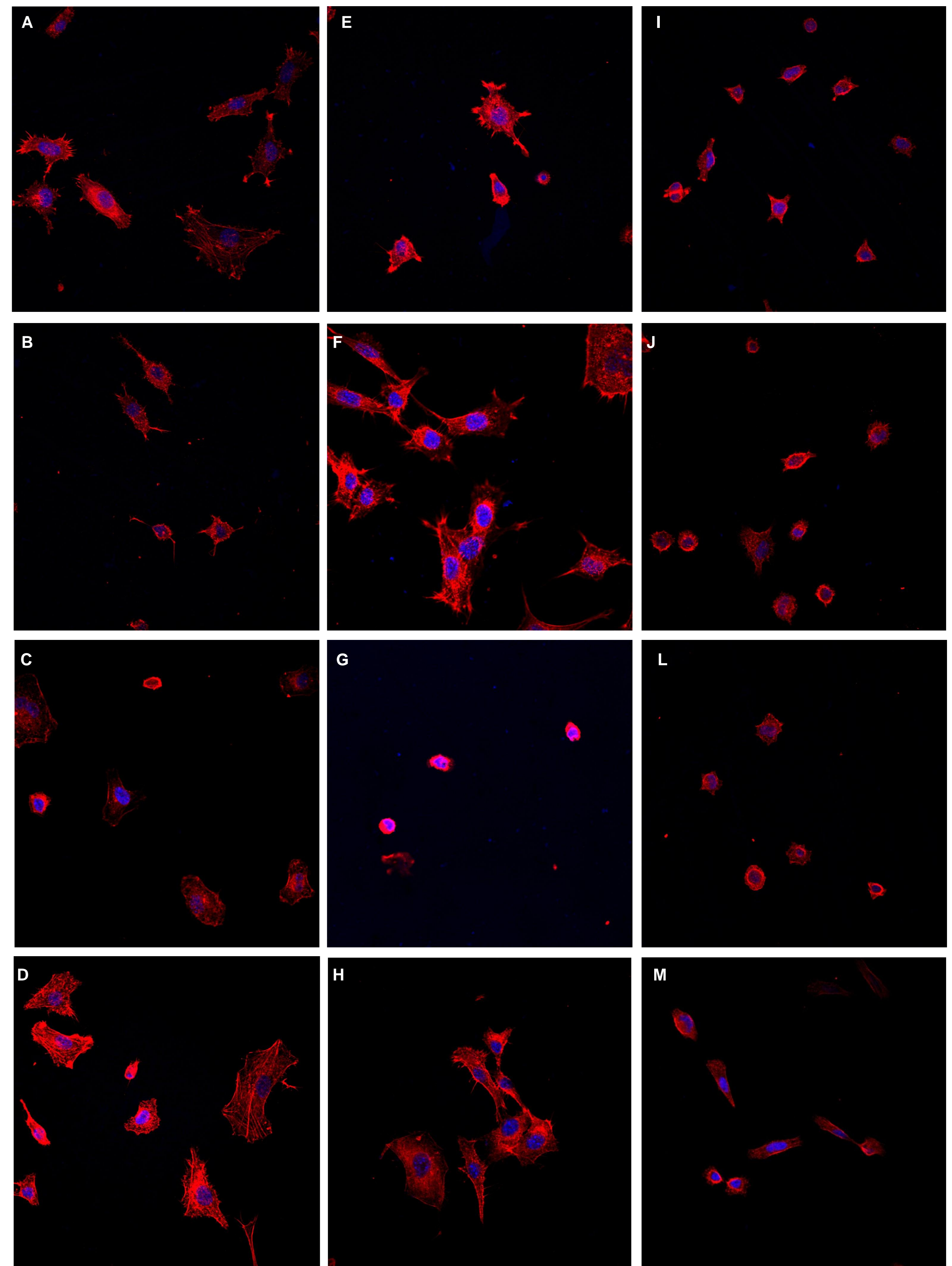


Figura 2: A superexpressão de Cav-1 e PPAR $\gamma$  e o SFB modularam a adesão celular. (A-M) Células GRX, GRX<sup>EGFP-Cav</sup>, GRXP $\gamma$ , em vermelho, filamentos de actina, revelados com Faloidina-Rodamina, em azul o núcleo revelado com Hoescht 33258. (A-D) Linhagem GRX sem (A,B) e com (C,D) SFB incubadas por 2 e 6 horas respectivamente. (E-H) Linhagem GRX<sup>EGFP-Cav</sup> sem (E,F) e com (G,H) SFB incubadas por 2 e 6 horas respectivamente. (I-M) Linhagem GRXP $\gamma$  sem (I,J) e com (L,M) SFB incubadas por 2 e 6 horas respectivamente. Aumento de 200X

## CONCLUSÕES:

- Como esperado, o SFB estimulou a adesão nas três linhagens estudadas, no entanto, a taxa de adesão da linhagem GRX é significativamente menor que a das linhagens GRX<sup>EGFP-Cav</sup> e GRXP $\gamma$ .
- Tanto na presença, como na ausência de SFB a adesão celular já é máxima 2 h após o plaqueamento.
- Duas horas após o plaqueamento nas culturas das células GRX já é possível encontrar células espalhadas, com numerosas fibras de estresse características, tanto na presença como na ausência de SFB.
- Duas horas após o plaqueamento, na ausência de SFB, as células GRX<sup>EGFP-Cav</sup> têm área celular maior e morfologia estrelada. Já na presença de SFB, as células GRX<sup>EGFP-Cav</sup> apresentam morfologia arredondada.
- O citoesqueleto de actina das células GRX<sup>EGFP-Cav</sup> é desorganizado, composto por fibras de estresse fragmentadas.
- As células GRXP $\gamma$  são menores que as GRX e as GRX<sup>EGFP-Cav</sup>.
- Duas horas após o plaqueamento, células cultivadas com ou sem SFB apresentam morfologia arredondada, com alguns prolongamentos. Após 6 h, na presença de SFB as células GRXP $\gamma$  apresentam morfologia alongada, fusiforme.

## REFERÊNCIAS:

- Head, B. P., H. H. Patel, et al. (2014). "Interaction of membrane/lipid rafts with the cytoskeleton: impact on signaling and function: membrane/lipid rafts, mediators of cytoskeletal arrangement and cell signaling." *Biochim Biophys Acta* 1838(2): 532-545.
- Ilha, M. (2012). Estudo da expressão da Caveolina-1 em células estreladas hepáticas (GRX). Departamento Bioquímica. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul: 29.
- VERDANOVA, M., BROZ, A., et al. Cell adhesion on different materials in the presence or the absence of fetal bovine serum. The 3rd "Physics of Cancer" symposium will take place in Leipzig, Germany from November 1st till 3rd, 2012.