

Renata Ternus Pedó<sup>1,2</sup>, Ricardo Machado Xavier<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil; <sup>2</sup>Laboratório de Doenças Autoimunes, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Brasil;

Email para contato: renata.tpedo@gmail.com

## INTRODUÇÃO

Artrite reumatoide é uma doença inflamatória, autoimune, sistêmica e 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), os quais apresentam perfil agressivo e invasor. Esta capacidade invasora in vitro está correlacionada com o dano articular em pacientes com AR. Acredita-se que a capacidade invasora desta célula esteja 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

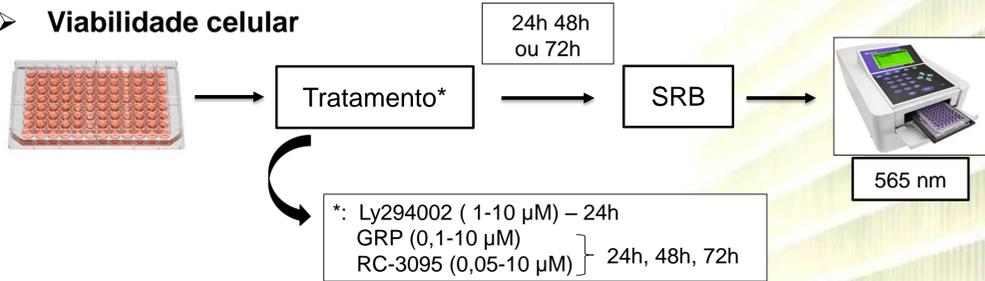
Avaliar o papel da via GRP/GRPR sobre a capacidade invasora dos FLS e seu envolvimento sobre a via da PI3K/AKT.

## MATERIAL E MÉTODOS

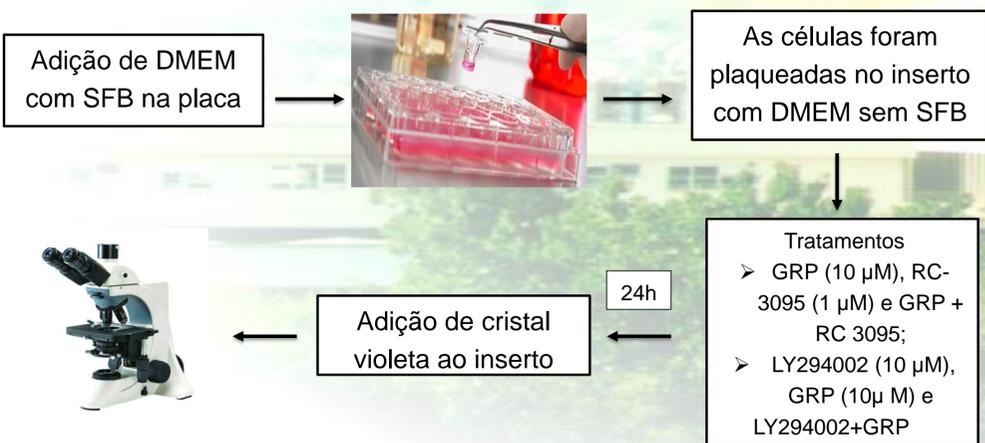
### Cultura Celular

- FLS foram previamente isolados das membranas sinoviais das articulações de camundongos com artrite induzida por colágeno. As células foram cultivadas em DMEM suplementado com SFB 10% e antibióticos.

### Viabilidade celular



### Teste de invasão celular



### Western Blot

- Foi avaliada a expressão proteica de pAKT (Ser 475).

## RESULTADOS

### GRP, RC e LY não são citotóxicos

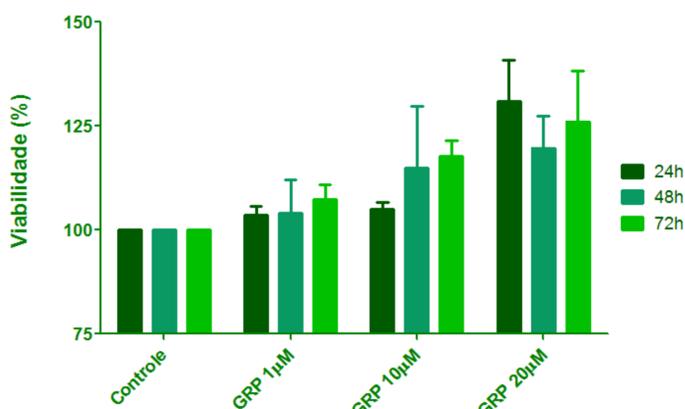


Figura 1: Viabilidade de fibroblastos tratados com diferentes concentrações de GRP por 24h, 48h e 72h.

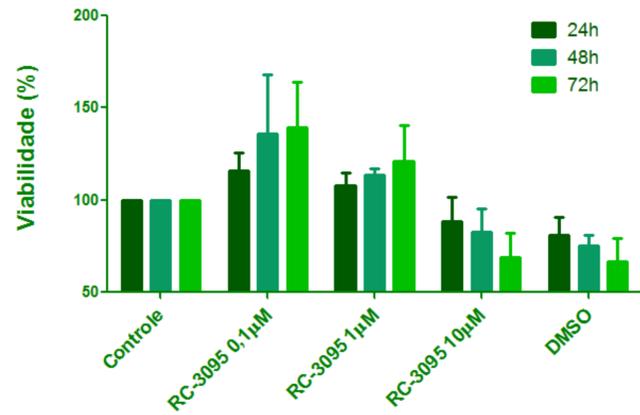


Figura 2: Viabilidade de fibroblastos tratados com diferentes concentrações de RC-3095 por 24h, 48h e 72h.

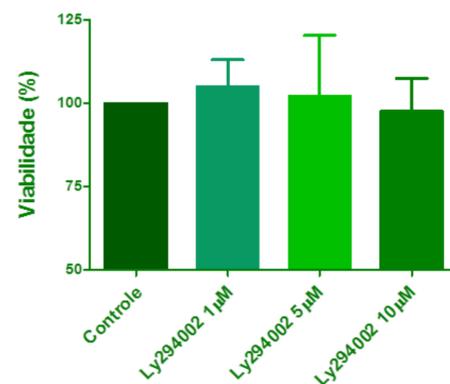


Figura 3: Viabilidade de fibroblastos tratados com diferentes concentrações de LY294002

### GRP aumenta a capacidade invasora de FLS e RC-3095 reverte seu efeito

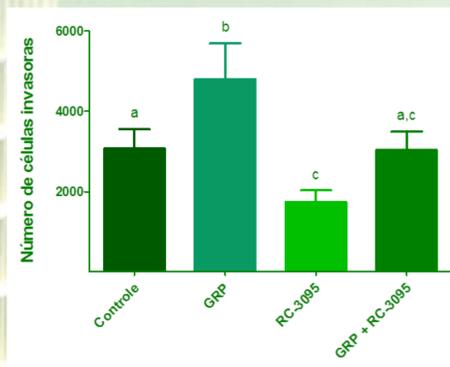


Figura 4: Ensaio de invasão após 24h de tratamento.. Barras representam média ± EPM; a) p<0,02 versus GRP; p<0,05 versus RC-3095; b) p<0,001 versus RC-3095; p<0,001 versus GRP+RC-3095. Os dados foram analisados através de equação estimativa generalizada seguida de Bonferroni.

### GRP ativa a via da AKT

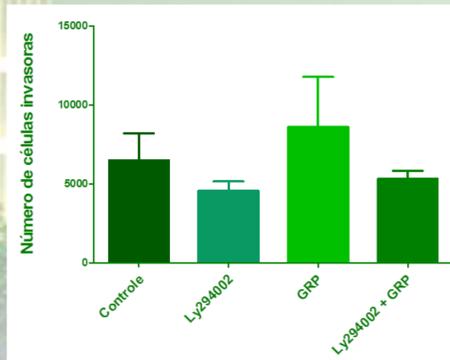


Figura 5: Dados preliminares do ensaio de invasão após 24h de tratamento.. Barras representam média ± EPM.

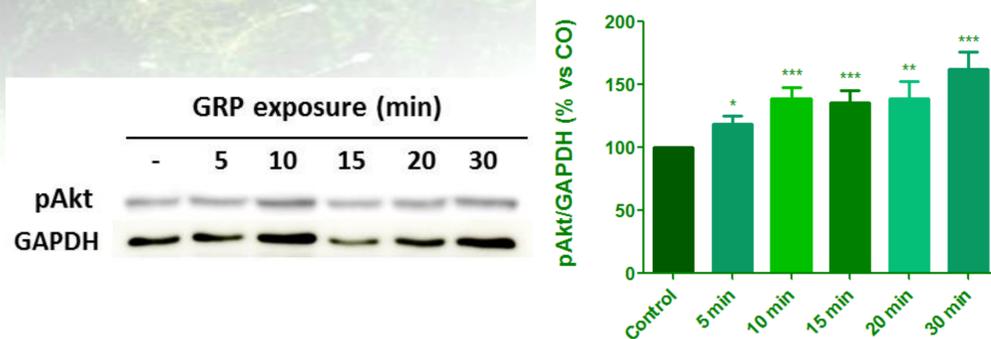


Figura 6: Expressão proteica de pAKT pelos FLS expostos ao tratamento com GRP em diferentes tempos. A expressão proteica foi normalizada por GAPDH.

## CONCLUSÕES

- Pode-se sugerir que o efeito estimulador do GRP sobre a capacidade de invasão dos FLS está relacionada com a via PI3K/AKT, através da ativação da fosforilação da Akt;
- A via 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.