

210

**DETERMINAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA E ATIVIDADE DAS MMP-2 E 9 MODULADAS POR TNF-ALFA.** *Thais Esther Teixeira Nunes, Fernanda Rafaela Jardim, Elena Aida Bernard (orient.)* (UFRGS).

As células estreladas hepáticas (HSC) são o principal tipo celular envolvido na fibrose. Quando ocorre injúria ao fígado, as HSC se transdiferenciam do fenótipo quiescente para o miofibroblástico (ativado), no qual ocorre decréscimo de retinóides do seu citoplasma, além de aumento da secreção de componentes da matriz extracelular (ECM). A remodelagem da ECM durante a injúria é dependente da regulação da atividade de metaloproteinases (MMPs), e de seus inibidores. A participação de citocinas pró-inflamatórias, como TNF-alfa, é importante neste processo. Utilizando a linhagem celular GRX, desenvolvida a partir da HSC ativada, este trabalho propõe-se estabelecer condições para a determinação da atividade de MMPs e, estabelecidas estas condições, estudar a ação do TNF-alfa sobre a expressão gênica e a atividade de MMPs secretadas. Para analisar a atividade e modulação pelo TNF-alfa das MMP-2 e 9, as células GRX foram incubadas em meio de cultura com e sem TNF-alfa, e alíquotas concentradas do mesmo foram analisadas através de zimografia com gelatina, determinando a quantidade de proteína e tempo de incubação do gel mais adequada para este estudo, posteriormente as bandas do gel foram quantificadas por densitometria. A expressão dos genes de MMP-9, e MMP-2 foi analisada por *real time PCR*. Utilizando as condições estabelecidas para a zimografia, encontrou-se que a GRX secreta três tipos de MMPs, com pesos aproximados de 180kDa, 80kDa e 43kDa. O tratamento com TNF-alfa aumentou a atividade da banda de 80kDa, possivelmente MMP-9. Quando se investigou a expressão dos genes através de *real time PCR*, determinou-se que o tratamento com TNF-alfa produz um aumento da expressão do gene da MMP-9 e uma diminuição na expressão do gene de MMP-2. Os resultados obtidos mostram que o TNF-alfa tem influência na remodelação da matriz extracelular das células GRX, modulando pelo menos, a expressão das MMP-2 e 9 e sua atividade. (PIBIC).