

- Diferenciação celular

24.001

ATIVIDADE DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA-I NAS CÉLULAS ESTROMAIS S-17. ¹Barbosa, C. M. V.; ²Rocha, C. O. *; ³Bincoletto, C.; ⁴ Carmona, A. K.; ¹Tersariol, I. L. S.; ¹Centro Interdisciplinar de Investigação Bioquímica UMC; ²ICB-USP; ³Farmacologia UNICAMP; ⁴Biofísica UNIFESP

Objetivo:

O sistema renina-angiotensina (RAS) está presente em vários tecidos. Recentemente, alguns trabalhos demonstraram a presença do RAS na medula óssea (MO). A enzima conversora de angiotensina-I (ECA) é a metaloprotease que possui papel-chave no controle do RAS. Inúmeras evidências sugerem o envolvimento da ECA nos eventos de proliferação e diferenciação das células hematopoiéticas na MO. Além disso, estudos prévios propõem que a ECA seja produzida por macrófagos presentes no microambiente medular. Diante disso, o objetivo do nosso trabalho foi avaliar a atividade da ECA na linhagem celular estromal S-17 através de ensaios fluorimétricos.

Métodos e Resultados:

As células S-17 foram utilizadas neste trabalho com autorização expressa de Dr. Kenneth Dorshkind. Estas células foram mantidas em meio DMEM suplementado com 10% de SFB e antibióticos até a obtenção da monocamada. Em seguida, as células foram lavadas 3 vezes com BSS e tratadas com uma solução de Tris HCl 50mM 0,1% Triton X-100. Após esta etapa, as células foram centrifugadas a 10.000 rpm por 10 min. A atividade da ECA foi determinada através de ensaio fluorimétrico utilizando-se como substrato fluorogênico o peptídeo Abz-YRK(Dnp)P-OH e o composto inibidor da ECA, captopril. Foram avaliados tanto o sobrenadante quanto o extrato celular desta linhagem, com e sem o inibidor desta enzima. Nossos resultados demonstraram ausência de atividade da ECA no extrato celular. Por outro lado, verificamos atividade da ECA no sobrenadante, o que sugere o mecanismo biológico de “shed”.

Conclusões:

A ECA mostrou-se ativa nas células S-17, e como as células estromais da MO fornecem suporte estrutural e molecular ao sistema hematopoiético, nossa proposta é sugerir a utilização das células estromais S-17 como um novo modelo de estudos in vitro envolvendo o RAS na MO.

24.002

INFLUÊNCIA DO PALADACICLO FERROCENO NA ATIVIDADE DA ENZIMA CONVERSORA DE ANGIOTENSINA-I (ECA) EM CULTURA PRIMÁRIA DE MEDULA ÓSSEA. ¹Barbosa, C. M. V.; ²Rocha, C. O. *; ³Bincoletto, C.; ¹Caires, A. C. F.; ⁴Carmona, A. K.; ¹Tersariol, I. L. S. ¹Centro Interdisciplinar de Investigação Bioquímica UMC; ²ICB-USP; ³Farmacologia UNICAMP; ⁴Biofísica UNIFESP

Objetivo:

O objetivo do nosso trabalho foi avaliar a atividade da ECA em cultura primária de progenitores fibroblastóides da medula óssea (CFU-F) na presença de um novo composto – Paladaciclo ferroceno (dppf 1:2), através de ensaios fluorimétricos, uma vez que inúmeras evidências sugerem o envolvimento da ECA na hematopoese medular.

Métodos e Resultados:

Foram utilizados camundongos Balb/c com 12 semanas de idade. A medula óssea foi obtida por “flushing”. Plaqueamos 2×10^6 células em meio α MEM suplementado com 10% de SFB, 10% de soro eqüino, 2mM de L-glutamina e antibióticos em garrafas de 25-cm². Adicionamos as concentrações de 0,5 μ M; 1,2 μ M; 3,5 μ M dos compostos dppf 1:2 e captopril, e mantemos a 37° e 5% de CO₂ por 10 dias. Em intervalos de 4 dias, adicionamos meio fresco juntamente com as concentrações dos compostos descritos acima. No 10º dia, as células foram lavadas 3 vezes com BSS e lisadas com Tris HCl 50mM 0,1% Triton X-100. Em seguida, foram centrifugadas a 10.000 rpm por 10 min. A atividade da ECA no sobrenadante e extrato celular foi determinada por fluorimetria com adição do substrato fluorogênico Abz-YRK(Dnp) P-OH. No sobrenadante, observamos redução significativa (p<0,001) de atividade da ECA nas culturas tratadas com captopril (84,2 \pm 4,87; 31,45 \pm 4,06; 25,1 \pm 6,86 UAF/min – 0,5; 1,2 e 3,5 μ M, respectivamente) comparadas às culturas tratadas com dppf 1:2 (237,5 \pm 5,68; 176,2 \pm 7,31; 141,3 \pm 8,15 UAF/min –

0,5; 1,2 e 3,5µM, respectivamente). Por outro lado, não observamos atividade significativa da ECA no extrato celular.

Conclusões:

A ECA mostrou-se ativa no sobrenadante das culturas tratadas com o dppf 1:2, sugerindo o mecanismo de shed enzimático. Além disso, nossos resultados sugerem que o composto dppf 1:2 possui um possível papel de inibição da ECA.

24.003

UM NOVO PROTOCOLO PARA APLICAÇÃO DE MICROCORRENTE FAVORECE O REPARO DE FERIMENTOS CIRÚRGICOS EM RATOS DIABÉTICOS. Mendonça, J.^{*}; Alves, A. A.; Santos, G. M. T.; Barbieri, R.; Esquisatto, M. A. M.; Mendonça, F. A. S. UNIARARAS Centro Universitário Hermínio Ometto

Objetivo:

Existe muita controvérsia quanto aos protocolos no uso de microcorrente no reparo de ferimentos cutâneos em indivíduos diabéticos. O objetivo desse estudo foi avaliar um novo protocolo de estimulação por microcorrente na cicatrização cutânea em ratos diabéticos.

Métodos e Resultados:

Foram utilizados 48 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) com peso médio de 450 g. Estes foram divididos em grupos controle normal e diabético (**NC** e **DC**) e tratados (**NT** e **DT**). Os animais dos grupos **DC** e **DT** foram tratados com Aloxana para indução experimental do diabetes. Os animais com glicemia inferior a 250 mg/l de sangue não foram utilizados. Todos os animais foram submetidos à cirurgia para produzir lesão cutânea na região do dorso. Após 24h, foi iniciado o tratamento diário com microcorrente utilizando 10 µA/5 min. Um animal de cada grupo foi sacrificado diariamente durante dez dias para remoção da área lesada para análise histopatológica. A análise do tratamento foi feita comparando temporalmente o reparo nos grupos quanto aos fenômenos inflamatórios (leucocitose, hemorragia e exsudato), proliferativos (hiperplasia fibroblástica, epitelização e angiogênese) e de reorganização tecidual. Não foram observadas alterações macroscópicas entre os grupos no período estudado. No entanto, nossos dados indicam que a fase proliferativa é mais precoce (3^o dia) nos indivíduos tratados quando comparados com o controle. Por outro lado, o volume de tecido neoformado no grupo DT parece menor que NT. Somando a isso, o reparo entre os grupos controle também indica um retardo temporal em DC. Ao término dos dez dias pode ser observado que a cicatrização cutânea evoluiu mais rapidamente no grupo NT, seguido pelo DT, NC e DC.

Conclusões:

A aplicação diária de microcorrente com 10 µA/5 min favorece a cicatrização cutânea nos ratos diabéticos e normais, quando comparados aos grupos controle.

224.004

EFFECTS OF LOW LEVEL LASER THERAPY ON WOUND HEALING - A COMPARATIVE ANALYSIS OF TWO WAVELENGTHS (685 NM AND 830 NM). ¹Lima, A. C. M; ²Costa, A. M. A. ¹Histologia e Embriologia UERJ / UNIRIO; ²Histologia e Embriologia UERJ

Objetivo:

The effects of low level laser therapy upon cutaneous wound healing are contradictory and not well understood. The aim of this study was to investigate the effects of low laser therapy using two wavelengths (685 e 830 nm) and the same amount of energy density (2J/cm²) on rat excisional cutaneous wound healing.

Métodos e Resultados:

Three excisional full-thickness wounds (1 cm² each) were done in the dorsum of six adult male Wistar rats. The first wound was treated with a laser gallium-aluminium-arsenide diode (GaAlAs), wavelength 830 nm, the second was a control (without treatment), and the third one was treated with the same laser at a wavelength of 685 nm. The density of energy was 2J/cm² for both wavelengths. The laser was applied in the day that the wound was created and two, seven, nine and eleven days after wounding. After euthanasia (fourteen days after wounding), the lesion and adjacent normal skin were formol-fixed and paraffin-embedded. Sections were stained with hematoxylin-eosin, Sirius red, Picro-Sirius and toluidine blue. The wound treated with 685 nm presented an accelerated wound contraction during the treatment (p=0,0007) and a decrease in

mast cell migration. The wound treated with 830 nm presented a wound contraction similar to the control wound and an increased mast cell migration. The volume density of blood vessels was increased in the control wound and in the 685 nm treated-wound. The 830 nm treated-wound presented dermal papillae and an increased collagen deposition.

Conclusões:

The low level laser therapy affected cutaneous wound healing by accelerating the wound contraction and neo-epidermis formation and altering granulation tissue development and neovascularization.

Supported by CNPq and UERJ.

24.005

MATURAÇÃO DA SECREÇÃO DE INSULINA DE ILHOTAS NEONATAIS POR SUBSTRATOS METABOLIZÁVEIS. Capelli, A. P. G.; Stoppiglia, L. F.**; Rezende, L. F.**; Barbosa, H. C. L.**; Boschero, A. C. Fisiologia e Biofísica IB-UNICAMP

Objetivo:

As ilhotas de um rato adulto aumentam 7× a secreção de insulina quando transferidas de um meio a 2.8 mM para um a 16.7 mM de glicose, enquanto as ilhotas de neonatos aumentam em no máximo 3× a secreção de insulina. Este trabalho relaciona a maturação da resposta secretória à glicose nas ilhotas com a cultura em diferentes concentrações de glicose com a modificação na expressão gênica da mesma.

Métodos e Resultados:

Após cultura de 4 dias em 10 mM de Leu/5.6 mM de glicose ou somente com 20 mM de glicose, as ilhotas foram incubadas para secreção de insulina em 2.8/16.7 mM de glicose e metabolismo de D-[U-¹⁴C]glicose para verificar a produção de ¹⁴CO₂. Foi feito a RT-PCR para verificar a expressão gênica semi-quantitativa de mRNAs de diferentes genes. Nas ilhotas cultivadas com alta glicose (20 mM), onde houve aumento na responsividade à glicose, tanto em taxa de metabolização quanto em secreção de insulina. Não houve modificação na transcrição de GLUT2, nem tampouco de insulina, mas houve aumento na transcrição de PDH, indicando maior direcionamento dos carbonos provenientes da glicólise para o ciclo de Krebs.

Conclusões:

De forma igual à glicose, a L-leucina promove maturação do processamento de glicose, mas sem um correspondente aumento da secreção de insulina. A manutenção das ilhotas num meio com leucina reduziu o funcionamento das lançadeiras de NADH. Possivelmente, o resultado da cultura de ilhotas com L-leucina vem a explicar porque a L-leucina não ativa o sistema varredor de H₂O₂ na ilhota, levando à perda de células quando em cultura concomitante com H₂O₂. As ilhotas cultivadas com 20 mM de glicose não apresentaram transcrição aumentada de proteínas que sabidamente estão em maior quantidades em ilhotas maduras, comparadas à ilhotas de neonatos, como GLUT2 e pró-insulina. Isso denota que a glicose é fator de maturação apenas parcial da secreção de insulina.

24.006

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL DA ATM DE RATOS WISTAR JOVENS APÓS MENISCECTOMIA UNILATERAL Martini, D. T.; Righetti, M. M. S.; Liberti, E. A. Anatomia ICB III-USP

Objetivo:

A menissectomia é uma das mais antigas cirurgias para tratamento das disfunções da articulação temporomandibular(ATM), cuja primeira correção cirúrgica foi descrita em 1887, e desde então, a excisão do menisco sem o uso de implantes tem sido utilizada e é objeto de questionamento por muitos autores. Há uma série de relatos sobre curtos e longos períodos de avaliação pós-cirúrgica de pacientes que foram submetidos a menissectomia, cujos resultados são favoráveis a esta técnica operatória, tendo sido relatados diminuição e até, desaparecimento dos sintomas. O presente trabalho visa realizar uma análise morfológica das estruturas constituintes da ATM de *Ratus Norvegicus* (Wistar), bem como avaliar as suas possíveis alterações em animais com 15, 35, 60 dias de período pós-operatório.

Métodos e Resultados:

A morfologia das estruturas constituintes da ATM foi estudada em 21 *Ratus norvegicus* (Wistar) submetidos à meniscectomia no lado esquerdo. Decorridos os períodos pós-operatórios, os animais foram sacrificados e as ATMs processadas para as técnicas de microscopia de luz (métodos de Masson, Picro-sírius e Weigert) e eletrônica de varredura. Os aspectos normais incluíram uma superfície da fossa mandibular formada por lâminas sobrepostas de tecido conjuntivo e, um processo condilar com camadas bem evidenciadas, predominando as fibras colágenas do tipo I regularmente arrançadas. Nos animais meniscectomizados, com 15 dias, verificou-se a formação de um tecido de preenchimento aderido à superfície articular do côndilo e o predomínio de fibras colágenas de tipo III. Todos os animais operados apresentaram erosão nas superfícies articulares, com cistos subcondrais. A zona bilaminar dos animais meniscectomizados com 60 dias apresentaram amplos espaços vasculares.

Conclusões:

Deste modo pode-se afirmar que a meniscectomia sem a interposição de um enxerto determina danos em estruturas que são vitais para a manutenção do equilíbrio articular.

24.007

DESCRIÇÃO DO COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO DAS CÉLULAS EM MEIOSE. ¹Gusso, A. B.; ²Traebert, G. G.; ²Castelan, J. V. E.; ²Luchiari, N. ¹Medicina UNESC; ²Imunologia Molecular e Celular UNESC

Objetivo:

estudo da infertilidade correlacionando as células da meiose I através do coeficiente de determinação.

Métodos e Resultados:

Foram utilizados camundongos Swiss machos de 25g a 30g (n = 12). As células em meiose foram obtidas por excisão testicular; estas células foram transferidas para uma solução hipotônica, previamente aquecida a 37°C. A amostra é então centrifugada, conforme segue a modificação da técnica descrita por Sperling e Kaden (1971). As células foram analisadas em microscópio óptico e contadas em câmara de Neubauer, onde o material final obteve uma diluição de 1,5mL. Como resultado obtivemos a média do número de células em meiose I 161,5 células; coeficiente de variação da amostra de 15,2%. A distribuição das células nas subfases da prófase I obteve os seguintes resultados: leptóteno 4,75% e coeficiente de variação (CV) 24,7%; zigóteno 23% e CV 15,8%; paquíteno 37,75% e CV 9,9%; diplóteno 20,83% e CV 19,1%; diacinese 3,66% e CV 92,5%. O número de células por μ L obteve a seguinte contagem: leptóteno 11,8 células/ μ L; zigóteno 18,4 células/ μ L, paquíteno 30,2 células/ μ L; diplóteno 16,66 células/ μ L e diacinese 2,92 células/ μ L. O coeficiente de determinação (CD) – contagem de células em prófase I correlacionando-as com suas subfases obteve como resultados principais: prófase I – leptóteno: CD = 2,62(inexistente); prófase I – zigóteno: CD = 34,1(forte); prófase I – paquíteno: CD = 0,06(inexistente); prófase I – diplóteno: CD = 11,97(fraco) e prófase I – diacinese: CD = 8,12(fraco).

Conclusões:

Através da implantação da técnica modificada de Sperling e Kaden foi possível analisar quantitativamente as células em meiose I, fornecendo subsídios para estudos futuros correlacionando os fatores envolvidos na infertilidade. A partir do coeficiente de determinação concluímos que o número geral de células em prófase I não está relacionado com o número de células nas subfases da prófase I: leptóteno e paquíteno possuem relação inexistente; diplóteno e diacinese possuem relação fraca, enquanto que o zigóteno possui uma relação forte.

24.008

TARTRATE RESISTANT ACID PHOSPHATASE ACTIVITY IN HUMAN OSTEOBLASTS HFOB 1.19 DURING CELL CYCLE AND DIFFERENTIATION. ¹Souza, T. S. ¹Campanelli, A. P.; ²Sogayar, M. C.; ³Granjeiro, J. M. ¹ICB-USP; ²Bioquímica IQ-USP; ³Biologia Celular e Molecular UFF

Objetivo:

Tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) activity was determined in the hFOB 1.19 human osteoblasts cell line during cell proliferation and differentiation. TRAP enzymatic activity was determined at 6, 18, 24, 48 and 72 hours after fetal calf serum stimulation of sub confluent cultures and 7, 14, 21, 28 and 35 days after cell confluence and differentiation.

Métodos e Resultados:

The TRAP activity was measured using p-nitrophenylphosphate (pNPP) in 0.1M acetate buffer, pH 5, at 37 °C. The resulting product was measured by Abs410nm ($\xi = 18.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) in the presence of the p-hydroxymercurybenzoate and tartrate specific inhibitors. The results were normalized on the basis of total protein content (Bradford's method). The osteogenic potential of hFOB 1.19 cells was studied by measuring alkaline phosphatase activity (1 mM pNPP, 25mM Glycine buffer, pH 9.4, plus 2 mM MgCl_2), and mineralized nodule formation by Von Kossa staining. During cell cycle progression, TRAP activity was strongly reduced, being almost undetectable after 18h of serum stimulation, while H^3 -thymidine incorporation progressively increased, suggesting that the decrease in the TRAP activity was necessary for entry into the S phase. During osteoblastic differentiation, the activity of LMW-PTP and alkaline phosphatase progressively increased until the 21th day, decreasing thereafter.

Conclusões:

In conclusion, this work demonstrates that hFOB 1.19 cells constitute a suitable model system for the study of the role played by TRAP in cell cycle progression and cell differentiation, and that TRAP activity is clearly modulated during osteoblastic proliferation and differentiation *in vitro*.

24.009

ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS NA DERME DE RÃ (*RANA CATESBEIANA*) DURANTE A METAMORFOSE. Zorel, V. J.; Barbieri, R.; Esquisatto, L. C. M.; Esquisatto, M. A. M.; Moraes, C. P.; UNIARARAS Centro Universitário Hermínio Ometto

Objetivo:

Muitos autores descrevem a estrutura da epiderme de diferentes espécies de anfíbios. No entanto, pouca atenção é dada à organização e as modificações da derme durante a metamorfose desses animais. Para tanto, o objetivo desse trabalho foi descrever a estrutura da derme da *Rana catesbeiana* em vários estádios larvais.

Métodos e Resultados:

Foram utilizados girinos nos estádios 20, 24, 28 e 32. Os espécimes foram coletados, fixados, processados para análise estrutural e histoquímica. A derme sofre grandes alterações durante o período estudado. Em cada estádio foram observadas diferentes organizações celulares e de matriz extracelular. As fibras colágenas formam processos, em várias direções, envolvendo fibroblastos e avançando em direção a epiderme e a fáscia dos músculos. Nos estádios intermediários (24 e 28) são observados enormes vacúolos envolvidos por células, além de numerosos ácinos com características de secreção mucosa. No último estádio são observadas três camadas distintas na derme. A mais superficial, constituída de feixes espessos de fibras colágenas organizadas paralelamente a epiderme, a segunda, constituída principalmente por células fibroblásticas e pigmentadas envolvidas por fibras colágenas finas e por matriz basófila, e por último, uma túnica constituída por capilares e nervos sustentados por tecido conjuntivo frouxo. A derme apresenta forte marcação para carboidratos totais e ácidos nos estádios mais tardios, indicando grande quantidade de glicosaminoglicanos. Esta característica facilita o acúmulo de água e cria um micro-ambiente favorável para trocas metabólicas. Ao contrario das fibras colágenas, as fibras elásticas estão concentradas, em todos os estádios, no estrato mais profundo da derme do animal.

Conclusões:

Na metamorfose do tegumento da rã são observadas intensas modificações organizacionais da derme criando uma estrutura adaptada à dinâmica fisiológica do animal.

24.010

DIFERENCIAÇÃO E CRESCIMENTO EM *HERPETOMONAS CAMARGOI* PELO VENENO DE *BOTHROPS NEWVIEDII*. Braga, F. A. Imunologia PUC-MG

Objetivo:

Neste trabalho, nós procuramos investigar o efeito do veneno de *Bothrops newviedii* livre da interferência do sistema imune existente nos organismos de complexidade biológica mais elevada.

Métodos e Resultados:

Para tal, utilizamos como modelo celular *Herpetomonas camargoi* "in vitro", utilizando-se meio definido de Roitman. O veneno cristalizado foi dissolvido em água destilada. Após a incubação a 28°C foi realizada contagem de células em câmara de Neubauer, sendo observado uma nítida

inibição do crescimento celular em todas as concentrações. Foram também preparadas lâminas de esfregaço das amostras controle e concentrações, após cultivo de 24 – 72 h. Pesquisas calorimétricas foram conduzidas a 26°C em PBS contendo aproximadamente 1×10^8 céls/ml. Após um equilíbrio térmico, as câmaras calorimétricas foram agitadas, misturando soluções contendo 100µg/ml de veneno diluído em 5Mm de sacarose e as células. O rendimento metabólico foi monitorado por 3 horas.

Conclusões:

A inibição do crescimento foi observada em todas as concentrações. Além disso, os resultados mostraram uma significativa diferenciação após tratamento com o veneno na concentração de 100µg/ml, produzindo 25% de promastigotas, 74,5% de paramastigotas e 4% de opistomastigotas se comparado aos valores do controle de 51%, 45% e 0,5% respectivamente, bem como uma clara inibição do veneno (15%) sobre o metabolismo de açúcar nessas células.

24.011

RELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO DE CTGF, A VIA DE SINALIZAÇÃO TGF-B E A PROLIFERAÇÃO CELULAR DURANTE A ODONTOGÊNESE. Pacheco, M. S.; Abreu, J. G. Anatomia CCS-UFRJ

Objetivo:

O desenvolvimento dentário ocorre através de sinalizações celulares que controlam interações entre epitélio e mesênquima. Durante este processo populações celulares indutoras aparecem em camundongos nas idades E11,5, na lâmina dentária; em E13,5, no mesênquima condensado subjacente ao botão dentário, e em E14,5 no nó de esmalte. O fator de crescimento do tecido conectivo (CTGF) e componentes da via de sinalização TGF-b estão expressos preferencialmente nos centros indutores. CTGF e TGF-b atuam em eventos celulares, podendo promover e/ou inibir a proliferação celular em tipos celulares distintos. Neste trabalho correlacionamos a expressão de CTGF e componentes da via de sinalização TGF-b com a proliferação celular presente nos tecidos dentários nas fases onde os centros indutores estão presentes.

Métodos e Resultados:

Métodos e Resultados: Cabeças de embriões (E) de camundongos com 11,5, 13,5 e 14,5 dias foram utilizados para ensaio de proliferação celular com BrdU, que foi injetado intraperitonealmente nas fêmeas prenhas duas horas antes do sacrifício dos embriões. As cabeças foram processadas em parafina e cortes histológicos coronais foram reagidos com anticorpo anti-BrdU e marcados com DAPI. A proliferação celular foi detectada principalmente no mesênquima subjacente à lâmina dentária em E11,5; no mesênquima condensado em E13,5 e no epitélio externo do capuz dentário em E14,5, estando completamente ausente no nó de esmalte. As populações que proliferam também expressam ou estão próximas de populações que expressam CTGF e TGF-b.

Conclusões:

Conclusões: Em conjunto estes resultados sugerem que a presença de CTGF e TGF-b pode estar modulando a proliferação celular nos centros indutores que governam a odontogênese, auxiliando nas alterações morfológicas necessárias para o correto desenvolvimento dentário. Apoio Financeiro: PEW, Cientista do Nosso Estado-FAPERJ, CAPES, CNPq, TWAS, UFRJ

24.012

RELAÇÃO ENTRE O ESTRESSE OXIDATIVO E A OXIDAÇÃO DE NADH EM ILHOTAS DE LANGERHANS. Stoppiglia, L. F.; Rezende, L. F.**; Capelli, A. P. G.*; Boschero, A. C.; Fisiologia e Biofísica IB-UNICAMP

Objetivo:

O prejuízo da secreção de insulina ao longo do desenvolvimento do diabetes tipo 2 está relacionado a mudanças no metabolismo de glicose/lípidos nas ilhotas, com redução do ATP gerado a partir de glicose e aumento do uso de ácidos graxos, além da produção aumentada de H₂O₂. Resultados anteriores mostraram maior resistência de ilhotas com alta geração NADH contra o efeito deletério do H₂O₂, além de maior atividade de catalase e, assim, neste trabalho, procuramos identificar proteínas chave para a produção de NADH e manutenção da atividade secretória de insulina em ilhotas expostas ao H₂O₂.

Métodos e Resultados:

Avaliamos a secreção de insulina, o metabolismo de glicose e a partição da glicose entre a via das pentoses (PPP) e o ciclo de Krebs (TCA) em ilhotas de ratos (Wistar) neonatos, donde observamos um aumento de até 4x no processamento de glicose pela PPP em ilhotas expostas ao H₂O₂. Ilhotas normalmente resistentes ao H₂O₂ (mantidas em alta glicose) mostraram aumento similar de 3x na PPP, além de 2x no TCA. Ambos os grupos mostraram diminuição de uso da lançadeira mal/asp e, no grupo resistente, houve ainda aumento de 3x no uso da lançadeira glicerol-fosfato, que desvia o NADH glicolítico para o site 2 da cadeia respiratória e está associada à síntese de lípidos. O bloqueio do site 1 por rotenona, no entanto, em ambos os grupos elimina a secreção de insulina estimulada por glicose.

Conclusões:

Embora o site 1 da cadeia respiratória seja fundamental para a produção de ATP, o direcionamento do NADH para o site 2 (causado pela exposição ao H₂O₂ ou pela síntese induzida de lípidos) mantém maiores quantidades de NADH no citossol das células beta, fornecendo elétrons que justifiquem uma maior atividade da catalase e assim a resistência ao H₂O₂.