



# XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil

25 anos

2017



## Estudo da ação do Losartan na cicatrização em células de fibroblastos de derme em camundongos deficientes em MAGP-1

Maiara C. Colombera\*, Cristina P. Vicente, Claudio C. Werneck.

### Resumo

A glicoproteína associada às microfibrilas 1, MAGP-1, é parte integrante da rede de microfibrilas que compõem as fibras elásticas, juntamente com a elastina. Além de funcionar como um molde para a deposição de tropoelastina, as microfibrilas atuam na sinalização e interação das células com o meio extra-celular. Outra importante função das microfibrilas é o controle da disponibilidade de fatores de crescimento, em especial os da família do TGF- $\beta$ . Weinbaum e colaboradores, mostraram que camundongos deficientes em MAGP-1 apresentam um atraso na cicatrização quando comparados a camundongos selvagens. Estes dados foram relacionados a diferença na disponibilidade de TGF- $\beta$ . Dados recentes de nosso laboratório, bem como da literatura, tem demonstrado que o tratamento com losartan interfere nesta disponibilidade. O objetivo desse projeto é verificar a capacidade de cicatrização dos fibroblastos de derme nos camundongos MAGP-1<sup>-/-</sup> e MAGP-1<sup>+/+</sup> e analisar o possível efeito do tratamento com losartan neste processo.

### Palavras-chave:

MAGP-1, cicatrização, fibroblasto de derme.

### Introdução

As microfibrilas da matriz extracelular são filamentos tradicionalmente vistos como fibras elásticas na MEC que proporcionam força para o tecido e funcionam como um molde para a deposição de tropoelastina. Sabe-se que as microfibrilas são complexos polímeros especificamente modificados por proteínas acessórias que se associam com a fibrilina para atender especializadas necessidades. A capacidade de adaptar a atividade microfibrilar fornece um mecanismo dinâmico para alterar a sinalização do fator de crescimento, controlar gradientes morfogênicos e influenciar interações diretas célula-matriz. As principais proteínas estruturais das microfibrilas são as fibrilinas e as Glicoproteínas Associadas às Microfibrilas- MAGPs (1-4). A MAGP-1 aparentemente é importante na regulação da atividade do TGF- $\beta$ , que é um fator de crescimento relacionado com processos pró-fibrogênicos, ou seja, de cicatrização (5). TGF- $\beta$ 1 é uma citocina com uma vasta variedade de funções biológicas(6,7). Entre as suas funções primárias, TGF- $\beta$  serve como um estimulador de reparação e regeneração do tecido, como um mediador para a produção de MEC, e no caso da fibrose, como motor de produção de colágeno (6,7). Weinbaum e colaboradores mostraram que os fibroblastos da pele de camundongos MAGP-1<sup>-/-</sup>, tem o processo de cicatrização atrasado quando comparado com os fibroblastos de animais selvagens. Neste trabalho, pretendemos isolar fibroblastos de derme de camundongos normais e deficientes em MAGP-1 e analisar a capacidade de regeneração de tecidos. Pretendemos ainda, tratar estas células com losartan como uma maneira de diminuir a expressão e ativação de TGF- $\beta$  e analisar os seus possíveis efeitos sobre o ensaio de regeneração. O objetivo geral é verificar a capacidade de cicatrização dos fibroblastos de derme obtidos a partir de camundongos MAGP-1<sup>-/-</sup> e MAGP-1<sup>+/+</sup> e estudar a ação do medicamento losartan no processo de cicatrização.

### Resultados e Discussão

Os fibroblastos foram isolados utilizando camundongos recém-nascidos com 2-3 dias de idade, obtidos a partir de um cruzamento entre dois camundongos adultos homocigotos para a mutação no gene da MAGP-1. O

procedimento consiste da retirada de pele, seguindo o protocolo de Rittie e Fishe (8). As células foram mantidas em meio de cultura DMEM acrescido 10% Soro Fetal bovino e 1% penicilina 10.000 U.I./ml e estreptomicina 10mg/ml. Para a armazenagem e manutenção, as culturas foram incubadas em uma estufa a 37°C, a 5% de CO<sub>2</sub>. As culturas foram repassadas quando em pré-confluência por tripsinização.

O tratamento com losartan será realizado adicionando a droga ao meio de cultura a uma concentração final de 0, 1, 10 e 100  $\mu$ moles/L. Quando atingida a confluência, vários "cortes" serão realizados na monocamada de célula. O processo de cicatrização celular será monitorado ao longo dos dias.

### Conclusões

Até o presente momento as células de interesse foram isoladas e ensaio de tratamento com Losartan iniciado.

### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do projeto e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

<sup>1</sup>Kielty, C. M. *Expert Rev Mol Med*. 2006, 8, 1-23.

<sup>2</sup>Kielty, C. M., Wess, T. J., Haston, L., Ashworth, J. L., Sherratt, M. J., and Shuttleworth, C. A. *J Muscle Res Cell Motil*. 2002, 23, 581-596.

<sup>3</sup>Zilberberg, L., Todorovic, V., Dabovic, B., Horiguchi, M., Courousse, T., Sakai, L. Y., and Rifkin, D. B. *Journal of cellular physiology*. 2012, 227, 3828-3836.

<sup>4</sup>Sengle, G., Tsutsui, K., Keene, D. R., Tufá, S. F., Carlson, E. J., Charbonneau, N. L., Ono, R. N., Sasaki, T., Wirtz, M. K., Samples, J. R., Fessler, L. I., Fessler, J. H., Sekiguchi, K., Hayflick, S. J., and Sakai, L. Y. *PLoS Genet*. 2012, 8, e1002425.

<sup>5</sup>Weinbaum, J. S., Broekelmann, T. J., Pierce, R. A., Werneck, C. C., Segade, F., Craft, C. S., Knutsen, R. H., and Mechem, R. P. *The Journal of biological chemistry*. 2008, 283, 25533-25543.

<sup>6</sup>Hinz, B. *Matrix Biol*. 2015, 47, 54-65.

<sup>7</sup>Pakyari, M., Farrokhi, A., Maharlooei, M. K., and Ghahary, A. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2013, 2, 215-224.

<sup>8</sup>Rittie, L., and Fisher, G. J. *Methods in molecular medicine*. 2005, 117, 83-98