

## Análise da deposição dos componentes da matriz elástica em Células Musculares Lisas Vasculares de camundongos deficientes em Fibrilina-1 e MAGP-1.

Ana Paula Pires Macêdo\*, Cristina P. Vicente, Claudio C. Werneck.

### Resumo

As glicoproteínas das microfibrilas 1, MAGP-1 e a Fibrilina-1, são importantes constituintes da rede de microfibrilas que compõem as fibras elásticas, juntamente com a elastina, que proporcionam força e elasticidade para os tecidos. Esses componentes são abundantes na matriz extracelular de tecidos que estão sob constante estresse mecânico. Além de funcionar como um molde para a deposição de tropoelastina, formando a fibra elástica madura, as microfibrilas atuam na sinalização e interação das células com o meio extracelular. Uma das principais funções das microfibrilas é o controle da disponibilidade de fatores de crescimento, em especial da família TGF- $\beta$ . Dados do nosso laboratório demonstram que a deficiência de MAGP-1 ou de Fibrilina-1 levam a uma alteração da formação do trombo. Esta alteração desaparece quando os animais são tratados com losartan, anti-hipertensivo que está associado com a diminuição da atividade de TGF- $\beta$ . Dados com fibroblastos de derme de camundongos deficientes em Fibrilina-1 sugerem um aumento na deposição de componentes elásticos na matriz extracelular quando tratados com losartan, porém uma análise semelhante deve ser realizada para as células musculares lisas vasculares obtidas a partir destes animais. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi isolar e caracterizar células de músculo liso vasculares de camundongos deficientes em MAGP-1 e Fibrilina-1 e analisar o efeito do tratamento com losartan na deposição dos componentes elásticos.

### Palavras-chave:

MAGP-1, Fibrilina-1, células vasculares de músculo liso.

### Introdução

A fibrilina-1, foco deste projeto, tem sua função estrutural como parte das microfibrilas, mas tem também importância na regulação de fatores de crescimento, dentre eles o TGF- $\beta$ . Mutações no gene da fibrilina-1 estão relacionadas com a síndrome de Marfan. Modelos da síndrome em camundongos sugerem que, nestes animais, há uma maior atividade do TGF- $\beta$ , o que leva ao aparecimento de sinais clínicos. Aparentemente, estes sinais podem ser explicados por uma super-ativação do TGF- $\beta$  nestes animais. O TGF- $\beta$  é secretado como um dímero latente ligado a uma proteína (LTBPs) formando um complexo maior, que será depositado na matriz extracelular (TGF $\beta$ -LLC). Este complexo latente liga-se covalentemente às moléculas de fibrilina das microfibrilas, criando assim, uma reserva na MEC, que pode ser ativado e mobilizado quando necessário. As possíveis alterações das microfibrilas pela ausência da MAGP-1, podem levar a uma mudança deste cenário. 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 excessivo de produção de colágeno. Estes sinais têm seu aparecimento diminuído quando tratados com losartan, anti-hipertensivo que atua diminuindo a expressão e ativação de TGF- $\beta$ <sup>1</sup>.

Em nosso laboratório, estudamos o efeito da deficiência dos componentes das fibras elásticas na trombogênese. Em camundongos deficientes em MAGP-1 e em Fibrilina-1, é necessário um tempo maior para a formação do trombo. O tratamento de ambos camundongos deficientes com losartan resgata o tempo normal de formação dos trombos, sugerindo uma ação importante desta droga neste processo. Além disto, em cultura de fibroblastos de derme de camundongos deficientes em fibrilina-1 foi possível verificar que o tratamento com losartan aumenta a

quantidade dos componentes elásticos na matriz, sugerindo uma menor degradação.

Com o objetivo de verificar se isto pode também estar acontecendo nos vasos sanguíneos dos camundongos deficientes em fibrilina-1 e MAGP-1, pretendeu-se isolar as células de músculo liso vasculares (V-SMC) e submetê-las ao tratamento com losartan.

### Resultados e Discussão

As células de músculo liso vasculares foram isoladas utilizando camundongos selvagens e MAGP-1 adultos de 7-8 semanas de idade. Foram realizados os ensaios de imunofluorescência após 4 dias de tratamento com losartan. Notou-se um aumento da deposição de componentes elásticos da matriz nos grupos tratamento quando comparados ao grupo controle.

### Conclusões

O aumento da deposição dos componentes elásticos da matriz nas células submetidas ao tratamento com losartan em comparação com o grupo controle indica que, assim como nos fibroblastos de derme, o uso deste anti-hipertensivo também diminui a degradação destes componentes em V-SMC e aumenta sua deposição, provavelmente pela diminuição da atividade do fator de crescimento TGF- $\beta$ .

### 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>Habashi, J. P., Judge, D. P., Holm, T. M., Cohn, R. D., Loeys, B. L., Cooper, T. K., Myers, L., Klein, E. C., Liu, G., Calvi, C., Podowski, M., Neptune, E. R., Halushka, M. K., Bedja, D., Gabrielson, K., Rifkin, D. B., Carta, L., Ramirez, F., Huso, D. L., and Dietz, H. C. *Science*. 2006, 312, 117-121.