



AVALIAÇÃO DO EFEITO DA DELEÇÃO DO RECEPTOR $\alpha 7nAChR$ SOBRE O PROCESSO AUTOFÁGICO EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À HEPATECTOMIA PARCIAL

Palavras-chave: REGENERAÇÃO HEPÁTICA; AUTOFAGIA; PHX.

Pereira, N.L.N¹, da Silva, F.A¹, Torsoni, A.S¹.

¹Faculdade de Ciências Aplicadas da UNICAMP, Laboratório de Distúrbios do Metabolismo, Limeira-SP.

INTRODUÇÃO

O fígado possui grande capacidade regenerativa e é fundamental na manutenção da homeostase corporal. Em casos de danos hepáticos, a hepatectomia parcial (PHx) é recomendada para remoção da parte lesionada, e, assim, promover a regeneração de um novo tecido. Durante a regeneração hepática (RH), o processo inflamatório é essencial, pois induz a transcrição de genes envolvidos com o crescimento celular. Neste processo, a autofagia participa como um mecanismo importante, pois fornece energia para a divisão celular. Os receptores colinérgicos, especialmente os nicotínicos do tipo alfa 7 ($\alpha 7nAChR$), através de sua conexão com o nervo vago, vem sendo apontados como supressores da

resposta inflamatória, através de um mecanismo conhecido como *via anti-inflamatória colinérgica*. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito desses receptores no processo autofágico.

OBJETIVO:

Desta forma, o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da deleção do receptor $\alpha 7nAChR$ em camundongos submetidos a cirurgia de PHx e seu impacto na regeneração hepática e nos processos autofágicos.

METODOLOGIA:

Neste trabalho foram utilizados camundongos (C57BL/6) machos adultos provenientes de acasalamento entre homozigotos e desmamados na 4ª semana de vida (28º dia). O presente projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Campinas, Campus FCA, Limeira/SP (Protocolo nº5692-1/2021). Todos os animais foram alocados em mini isoladores individuais com sistema IVC (Alesco®, SP, Brasil), mantidos em ambiente de ciclo claro/escuro (12h/12h) com temperatura controlada (22-24°C), sendo alimentados sob livre demanda com ração comercial. Aos 70 dias de vida os animais foram subdivididos em 4 grupos diferentes: WT-sham, $\alpha 7nAChR^{-/-}$ - sham, WT-PHx e $\alpha 7nAChR^{-/-}$ - PHx, para a realização da cirurgia. Após a coleta das amostras de tecido hepático, foram realizadas análises por Western Blotting visando investigar os efeitos da PHx sobre a expressão de proteínas envolvidas no processo autofágico, como p-AMPK, AMPK, LC3II e p62, após 4 horas de PHx, ou seja, na fase regenerativa inicial.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

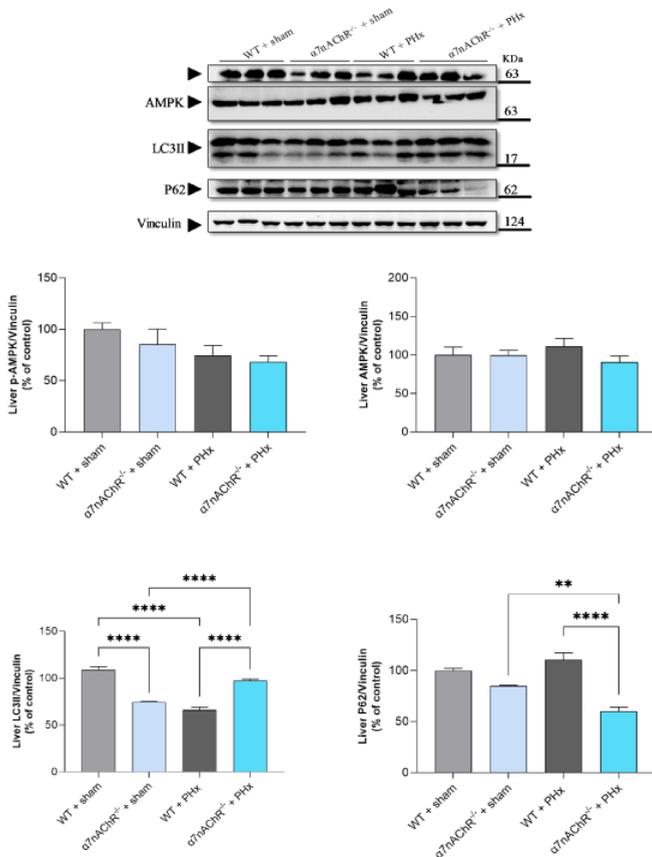


Figura 1. Conteúdo das proteínas detectadas no tecido hepático: (A) AMPK, (B) pAMPK, (C) LC3II e (D) P62 de camundongos machos submetidos à dieta controle durante 70 dias após 4 horas de PHx. Os resultados estão expressos usando a Vinculina como controle interno. Valores expressos em Média \pm EPM. Anova de duas vias (p - valor $< 0,05$), Post hoc de Tukey HSD nível de significância de $p < 0,05$ ($n = 6$ animais por grupo).

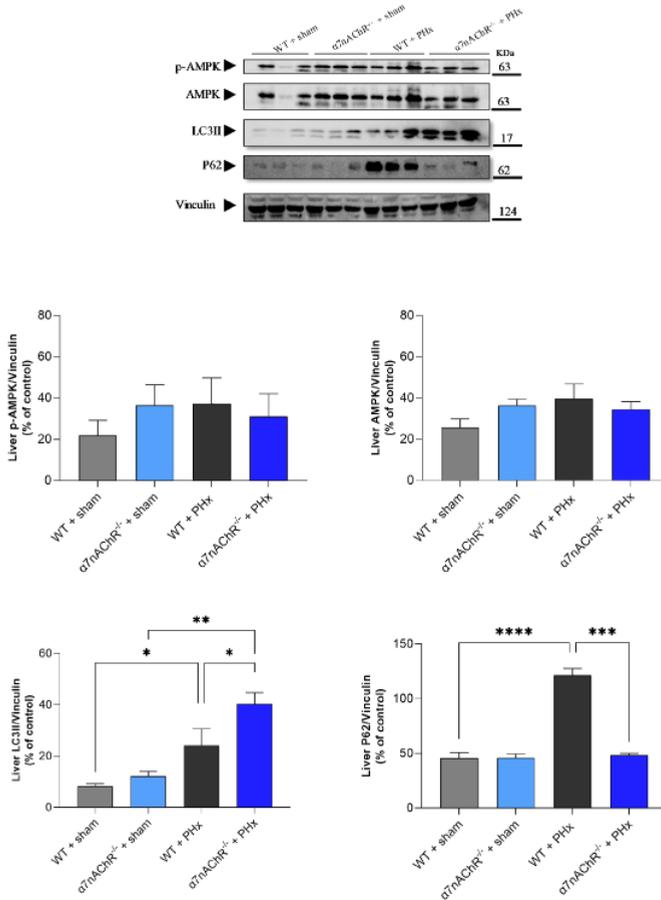


Figura 2. Conteúdo das proteínas detectadas no tecido hepático: (A) AMPK, (B) pAMPK, (C) LC3II e (D) P62 de camundongos machos submetidos à dieta controle durante 70 dias após 42 horas de PHx. Os resultados estão expressos usando a Vinculina como controle interno. Valores expressos em Média \pm EPM. Anova de duas vias (p - valor $< 0,05$), Post hoc de Tukey HSD nível de significância de $p < 0,05$ ($n = 3$ animais por grupo).

Entre os resultados obtidos, observamos que no tempo de 4 horas houve um aumento do conteúdo de LC3II (p-valor < 0,05, n = 3 animais por grupo) no grupo $\alpha 7nAChR^{-/-}$ PHx, quando comparado ao grupo WT-PHx (fig.1). Em seguida, analisamos as mesmas proteínas após 42 horas para observarmos como está a fase proliferativa da regeneração em relação a estes marcadores autofágicos. Observamos que o conteúdo de LC3II no grupo $\alpha 7nAChR^{-/-}$ -PHx foi maior (p-valor < 0,05, n = 3 animais por grupo), quando comparado ao grupo WT-PHx e o conteúdo de P62 no grupo $\alpha 7nAChR^{-/-}$ -PHx foi menor (p - valor < 0,05, n = 3 animais por grupo), quando comparado ao grupo WT-PHx (fig.2). Ademais, a sobrevivência dos animais $\alpha 7nAChR^{-/-}$ após cirurgia foi menor, comparado ao grupo WT.

CONCLUSÃO:

Em conclusão, nossos resultados são sugestivos de que o processo autofágico esteja aumentado em animais $\alpha 7nAChR^{-/-}$, impactando positivamente no processo de regeneração hepática e aumentando a sobrevivência desses animais após a cirurgia.

REFERÊNCIAS:

XU, Fengming et al. **The role of autophagy for the regeneration of the aging liver**. International Journal of Molecular Sciences, v. 21, n. 10, p. 3606, 2020.

KANG, L.-I., Mars, W. M., & Michalopoulos, G. K. (2012). **Signals and cells involved in regulating liver regeneration**. *Cells*, 1(4), 1261-1292. doi: 10.3390/cells1041261.