

7 PAPEL DA NECROPTOSE NA COLESTASE EM RATINHOS E EM DOENTES

Afonso M.B.¹, Rodrigues P.M.¹, Simão A.L.¹, Cortez-Pinto H.^{2,3}, Ofengeim D.⁴, Amaral J.D.¹, Castro R.E.¹, Yuan J.⁴, Rodrigues C.M.^{P1}

A colestase está associada a morte celular e inflamação. Recentemente identificou-se a necroptose como um novo tipo de morte celular relevante nas doenças hepáticas, onde a proteína RIP3 tem um papel central. Neste trabalho explorámos o papel da necroptose em ratinhos após laqueação do ducto biliar comum (LDB) e em doentes com cirrose biliar primária (CBP).

Métodos: Cirurgias foram realizadas em ratinhos C57BL/6 *wildtype* (n=10) ou RIP3 *knockout* (n=7). Soro e fígado foram recolhidos 3 e 14 dias após cirurgia, para análise histológica e bioquímica. Marcadores de necroptose e expressão de citocinas pro-inflamatórias foram avaliados no fígado. Níveis de RIP3 foram avaliados por imunohistoquímica em biópsias hepáticas de 5 doentes com CBP e de 5 indivíduos saudáveis.

Resultados: A LDB induziu hiperplasia dos ductos biliares, necrose multifocal, fibrose e inflamação no fígado de ratinho. A ativação da necroptose foi detectada por: 1) sequestro de RIP3 e sua proteína alvo MLKL na fração proteica insolúvel do fígado; 2) aumento da fosforilação de RIP1 e ativação de RIP3. O silenciamento de RIP3 levou à diminuição dos níveis séricos das enzimas hepáticas, da expressão hepática de citocinas pró-inflamatórias e da fibrose, 3 dias após a LDB. Curiosamente, estes efeitos protetores foram perdidos aos 14 dias. A nível histológico, o silenciamento da RIP3 protegeu o fígado da necrose induzida pela LDB aos 3 e 14 dias. Nas biópsias humanas, confirmou-se que a expressão de RIP3 estava fortemente aumentada no fígado de doentes com CBP, em relação aos saudáveis.

Conclusões: A sinalização dependente de RIP3 está envolvida na necroinflamação em ratinhos com colestase aguda, parecendo ocorrer ativação intra-hepática em doentes com CBP. Assim, a inibição da necroptose poderá constituir uma nova abordagem terapêutica na prevenção da lesão hepática associada a colestase, embora possam ser necessárias estratégias complementares para controlar a progressão para fibrose.

Financiamento: FCT (PTDC/SAU-ORG/119842/2010, HMSP-ICT/0018/2011; SFRH/BD/91119/2012).

1iMed.Ulisboa, Faculdade de Farmácia; 2Gastrenterologia, Hospital de Santa Maria e 3Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal; 4Departamento de Biologia Celular, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA.