

EFEITOS DA DISLIPIDEMIA POR SUPEREXPRESSION DA APOCIII HUMANA SOBRE ASPECTOS ARTICULARES DE CAMUNDONGAS IDOSAS TRANSGÊNICAS

Emanuel Gomes Ferreira (PIBIC-AF-IS/CNPq/FA/UEM), Nilton R. Teixeira Júnior, Jairo Augusto Berti, Diogo Rodrigues Jimenes (coorientador), Carmem Patrícia Barbosa (orientadora). E-mail: cpbarbosa@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/ Morfologia/ Anatomia Humana.

Palavras-chave: hipertrigliceridemia; envelhecimento; aparelho locomotor.

RESUMO

As alterações na expressão gênica e proteica da apolipoproteína CIII humana (apoCIII) estão entre as etiologias das dislipidemias. Tais modificações predispõem o aumento da síntese hepática das VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade) e diminuição da hidrólise dos triglicerídeos pelas lipoproteínas lipases, induzindo à hipertrigliceridemia. Adicionalmente, o envelhecimento pode potencializar alterações no metabolismo lipídico e articular. Porém, investigações acerca dos mecanismos fisiopatológicos associados às alterações na expressão da apoCIII e à idade em humanos é de certa forma restrita. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da hipertrigliceridemia e da idade sobre aspectos morfométricos da articulação do joelho de camundongas transgênicas para a apoCIII. Para isso, foram utilizados camundongas C57BL6, que superexpressam ou não a apoCIII, aos três, seis e 20 meses de idade. Após o período experimental, a articulação do joelho direito foi coletada e submetida à rotina histológica e análise morfométrica. Diferenças foram observadas na cartilagem articular da tíbia, que apresentou redução na densidade dos condrocitos associada à idade e aumento na espessura nos grupos CIII-3 meses e CIII-20 meses. Os resultados corroboram com o fato de que o envelhecimento é um importante fator predisponente a alterações articulares.

INTRODUÇÃO

As dislipidemias podem ser causadas por vários fatores como dieta, medicamentos, hormônios, diabetes mellitus, fatores genéticos e idade (Spitler; Davies, 2020). A hipertrigliceridemia (caracterizada pelo aumento exacerbado dos triglicerídeos - TG)

destaca-se por estar diretamente relacionada à aterosclerose e ao aumento da morbidade e mortalidade. Os TG, quando produzidos pelo fígado, são empacotados nas VLDL as quais são lançadas na corrente sanguínea para os transportarem. Entre os componentes das VLDL está a apoCIII, que inativa as lipases lipoprotéicas (LPL), responsáveis pela metabolização dos TG para que os AG sejam armazenados nos adipócitos. Assim, o aumento da expressão da apoCIII pode aumentar a concentração de TG no sangue, causando hipertrigliceridemia. Percebe-se que o transporte e o metabolismo dos TG são dinâmicos e complexos, e podem ser influenciados pela idade, já que o processo de envelhecimento modifica importantes aspectos morfológicos e fisiológicos dos seres vivos. De acordo com Spitler e Davies (2020), entre essas modificações está a diminuição da atividade das LPL, o que eleva os TG e modifica a distribuição do tecido adiposo.

O estudo dos mecanismos bioquímicos, morfológicos e fisiológicos na população idosa é bastante difícil, tanto pela padronização metodológica quanto pela invasividade dos métodos. Por isso, Ito e colaboradores (1990) desenvolveram uma linhagem de camundongos transgênicos (tgn) que superexpressam a apoCIII (apoCIII-tgn). Esses camundongos, com tendência a se tornarem dislipidêmicos, foram utilizados no estudo para averiguar os efeitos da hipertrigliceridemia sobre o sistema articular, especificamente sobre a articulação do joelho, e comparar essas alterações dentre as diferentes idades.

Sabe-se que o envelhecimento está intimamente associado ao desenvolvimento de modificações morfológicas na cartilagem articular, as quais podem evoluir para artropatias degenerativas (Arias et al., 2020). Contudo, ainda não é evidente que a hipertrigliceridemia isoladamente possa provocar alterações articulares importantes. Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da hipertrigliceridemia e da idade sobre aspectos morfométricos da articulação do joelho de camundongos transgênicos para a apoCIII.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas como modelos experimentais 33 camundongas divididas em seis grupos (n=6): Grupo transgênico jovem (CIII-3 meses), grupo transgênico adulto (CIII-6 a 8 meses), grupo transgênico idoso (CIII-20 meses), grupo não-transgênico jovem (NTG-3 meses), grupo não-transgênico adulto (NTG-6 a 8 meses) e grupo não-transgênico idoso (NTG-20 meses). Todos os procedimentos realizados foram previamente aprovados pela Comissão Interna de Biossegurança - CIBio e pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA-UEM) e seguiram todas as normas de ética e segurança animal, protocolada sob o CEUA nº 6201190623.

Após o período experimental, foi realizada a eutanásia dos animais para a coleta da articulação do joelho, o qual foi submetido à rotina de processamento histológico. Cortes semi-seriados foram coletados a partir de um micrótomo rotatório e distribuídos em lâminas silanizadas, obedecendo um total de cinco cortes por lâmina, as quais, posteriormente foram coradas pela técnica de Hematoxilina/Eosina. Para as análises morfométricas, foi realizada a captura de imagens dos cortes histológicos em microscópio óptico com uma lente objetiva de 20x equipada com uma câmera associada ao sistema de análise de imagem *Image Pró-Plus 4.0*, sendo possível a quantificação da densidade de condrócitos (em μm^2) e da espessura da cartilagem (em μm), na região posterior, medial e anterior do fêmur e da tíbia. Os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão da média e feita a análise por variância (ANOVA two-way) seguida pelo pós-teste de Bonferroni (para comparar três ou mais grupos) por meio do programa *GraphPad Prism 8®*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à densidade numérica dos condrócitos, na cartilagem articular do fêmur não foram observadas diferenças significativas nas três regiões analisadas ($p > 0.05$). Já na cartilagem articular da tíbia, foi observada uma redução na densidade dos condrócitos com a idade nos animais NTG na região medial da cartilagem, porém sem diferença significativa (Figura 1A; $p = 0.0586$). Por outro lado, na região anterior foi observada redução significativa na densidade numérica dos condrócitos em relação à idade (Figura 1B; $p = 0.0405$).

Em relação à espessura da cartilagem articular, não foram observadas diferenças significativas em nenhuma das regiões analisadas na cartilagem articular do fêmur ($p > 0.05$). Na cartilagem articular da tíbia, destacou-se a região anterior, onde os grupos apoCIII apresentaram maior espessura nesta região, principalmente nos grupos CIII-3 meses e CIII-20 meses (Figura 1C; $p = 0.0050$).

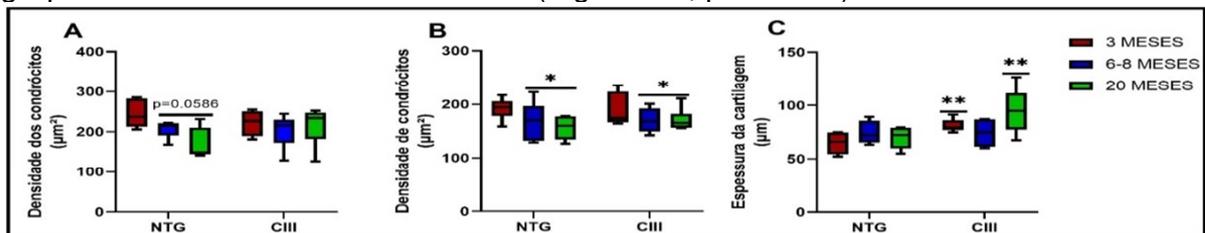


Figura 1. Gráficos box-plot mostrando a densidade dos condrócitos da cartilagem articular da tíbia na região medial (A) e anterior (B), e da espessura da cartilagem na região anterior da tíbia (C). (*), (**) $p < 0.05$.

As análises morfométricas envolvendo os modelos experimentais, especificamente sobre o fator CIII, carecem de estudos para relacionar alterações entre a saúde articular e a hipertrigliceridemia. Todavia, nossos resultados mostraram que pode

haver modificação na cartilagem articular em função dos níveis elevados de triglicérides. Além disso, os resultados encontrados em relação à variável idade e densidade celular corroboram com estudos realizados em ratos os quais afirmam que a densidade dos condrócitos pode de fato diminuir com o avançar da idade (Oda et. al., 2007; Arias et. al., 2020).

CONCLUSÃO

Nossos resultados permitem concluir que a hipertrigliceridemia foi capaz de causar modificações em uma das regiões da cartilagem articular da tíbia das camundongas avaliadas. Porém, é precoce correlacionar essa dislipidemia com o desenvolvimento de artropatias degenerativas uma vez que mais pesquisas que estudem esse fator ainda precisam ser desenvolvidas. Ademais, os resultados envolvendo o fator idade confirmam que o envelhecimento é um importante fator desencadeador de alterações articulares.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Universidade Estadual de Maringá (UEM), ao Departamento de Ciências Morfológicas (DCM-UEM), ao CNPq que fomentou esse projeto pelo programa de bolsas, aos técnicos de laboratório e todos os responsáveis que auxiliaram no seguimento dos estudos que contribuíram, direta ou indiretamente, para sua realização.

REFERÊNCIAS

ITO, Y. et al. Hypertriglyceridemia as a result of human apolipoprotein C-III gene expression in transgenic mice. *Science*, v. 249, n. 4970, p. 790–793, 1990.

SPITLER, K. M.; DAVIES, B. S. J. Aging and plasma triglyceride metabolism. *Journal of Lipid Research*, v. 61, n. 8, p. 1161-1167, 2020.

ODA, J. Y. et al. Variation in articular cartilage in rats between 3 and 32 months old. A histomorphometric and scanning electron microscopy study. *Biogerontology*, v. 8, p. 345–352. 2007.

ARIAS, C. et. al. Histological Evaluation and Gene Expression Profiling of Autophagy-Related Genes for Cartilage of Young and Senescent Rats. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n 8607. 2020.