EFEITO DA DISLIPIDEMIA POR SUPEREXPRESSÃO DA APOCIII HUMANA SOBRE A MORFOLOGIA HEPÁTICA DE CAMUNDONGAS JOVENS, ADULTAS E IDOSAS

Rodrigo Pernomian Cianca (PIBIC/CNPq), Ana Luiza Russo Duarte, Smyrnna Cele Cabral Maia Sales, 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: Morfologia/Histologia.

Palavras-chave: Hepatócitos; hipertrigliceridemia; morfometria.

RESUMO

Este estudo investigou os efeitos da interação entre a hipertrigliceridemia crônica e o envelhecimento sobre o parênquima hepático. O objetivo foi avaliar as características morfológicas e morfométricas dos hepatócitos em camundongas transgênicas para a apolipoproteína C-III (ApoC-III) humana em diferentes idades. Foram utilizadas 36 camundongas C57BL/6 distribuídas entre transgênicas (apoCIII-tgn) e não transgênicas (NTG), subdivididas nos grupos jovem (3 meses), adulto (8 meses) e idoso (20 meses). As amostras de fígado foram submetidas ao processamento histológico e coradas em Hematoxilina e Eosina. Os resultados demonstraram que a transgenia isolada não provocou alterações significativas na massa corporal, massa hepática ou no escore morfológico entre animais da mesma faixa etária. Contudo, na análise morfométrica, a superexpressão de ApoC-III associada à senescência promoveu um aumento significativo da área dos hepatócitos e redução na densidade celular por campo nos animais transgênicos idosos em comparação aos seus controles NTG. Observou-se maior ocorrência de hepatócitos multinucleados no grupo transgênico de 20 meses. Conclui-se que o estresse metabólico crônico induzido pela hipertrigliceridemia altera a arquitetura e organização nuclear dos hepatócitos de forma mais evidente no envelhecimento, atuando como um mecanismo adaptativo.

INTRODUÇÃO

A apolipoproteína C-III (ApoC-III) atua diretamente no controle do metabolismo lipídico e sua superexpressão reduz a metabolização de lipoproteínas ricas em triglicerídeos, resultando em hipertrigliceridemia, inflamação e disfunção celular (LUO; PENG, 2016). Em modelos animais transgênicos, a expressão do gene humano da ApoC-III induz hipertrigliceridemia acentuada (ITO et al., 1990), culminando em maior acúmulo de gordura hepática e resistência à insulina. No fígado, a superexpressão de ApoC-III eleva o conteúdo lipídico, reduz a capacidade antioxidante e aumenta marcadores de inflamação, causando morte celular (PAIVA

et al., 2017). Para manter a homeostase tecidual, os hepatócitos respondem alterando seu tamanho, proliferação e nível de ploidia processo de remodelamento e multinucleação que também ocorre fisiologicamente com o envelhecimento. Como o envelhecimento e a hipertrigliceridemia alteram o metabolismo lipídico (PAIVA et al., 2017), é relevante investigar a interação entre ambos. O objeto desta pesquisa foi analisar modificações morfométricas e nucleares dos hepatócitos decorrentes da interação entre a hipertrigliceridemia crônica e o envelhecimento.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram avaliadas 36 camundongas C57BL/6, distribuídas em grupos transgênicos para apoCIII (apoCIII-tgn) e não transgênicos (NTG), nas idades de 3, 8 e 20 meses (n=6/grupo). Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo CEUA/UEM nº 6201190623. Os animais foram classificados quanto ao fenótipo transgênico por meio da dosagem de triglicerídeos plasmáticos. Após eutanásia, os fígados foram coletados, fixados, processados para inclusão em parafina, seccionados e corados por Hematoxilina-Eosina. As alterações histológicas foram avaliadas por escore semiquantitativo, considerando acúmulo lipídico, balonismo, morte celular, infiltrado inflamatório e congestão sinusoidal. A análise morfométrica incluiu a mensuração de 100 hepatócitos e a quantificação do mesmo tipo celular em 35 imagens por animal, obtidas em microscópio óptico Nikon Eclipse®, com objetiva de 40x e câmera de alta resolução Nikon®. As imagens foram analisadas pelo software Image-Pro Plus® 4.5. Os dados foram analisados no GraphPad Prism®, utilizando os testes de Kruskal-Wallis/Dunn e two-way ANOVA/Tukey, conforme a natureza das variáveis, considerando $p<0,05$ como significante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise biométrica indicou que a superexpressão de apoCIII humana e a hipertrigliceridemia crônica não alteraram a massa corporal ou hepática de camundongas da mesma faixa etária (Figura 1A e 1B). Adultos (8 meses) e idosos (20 meses) tiveram maior massa corporal e hepática em relação aos jovens (3 meses), refletindo crescimento fisiológico no desenvolvimento murino (XIE et al., 2021).

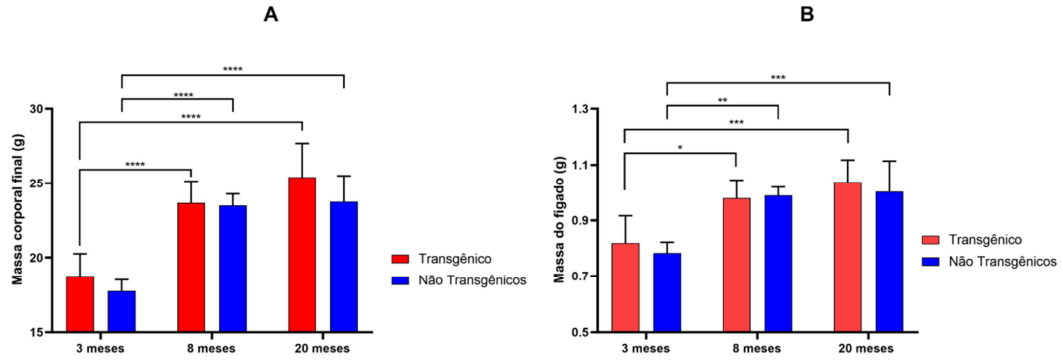


Figura 1 – Parâmetros biométricos: (A) massa corporal final. (B) massa do fígado de camundongas transgênicas e não transgênicas com 3, 8 e 20 meses de idade. Two-way ANOVA seguido de pós teste de Tukey, expressos em média ± desvio padrão. (n=6/grupo). *(p <0.05), ** (p<0.005) ***(p <0.001), ****(p <0.0001).

A avaliação morfológica semiquantitativa (Figura 2) não mostrou diferenças histológicas significativas pela transgenia na mesma idade. A análise morfométrica revelou nos transgênicos alterações na arquitetura tecidual e hepatócitos multinucleados (múltiplos núcleos de grande porte) mais intensas na senescência. Multinucleação e rearranjo celular refletem alterações no ciclo celular e falhas na citocinese, mecanismos associados à poliploidização e adaptação parenquimatosa frente a estressores (WIEDERKEHR et al., 2017).

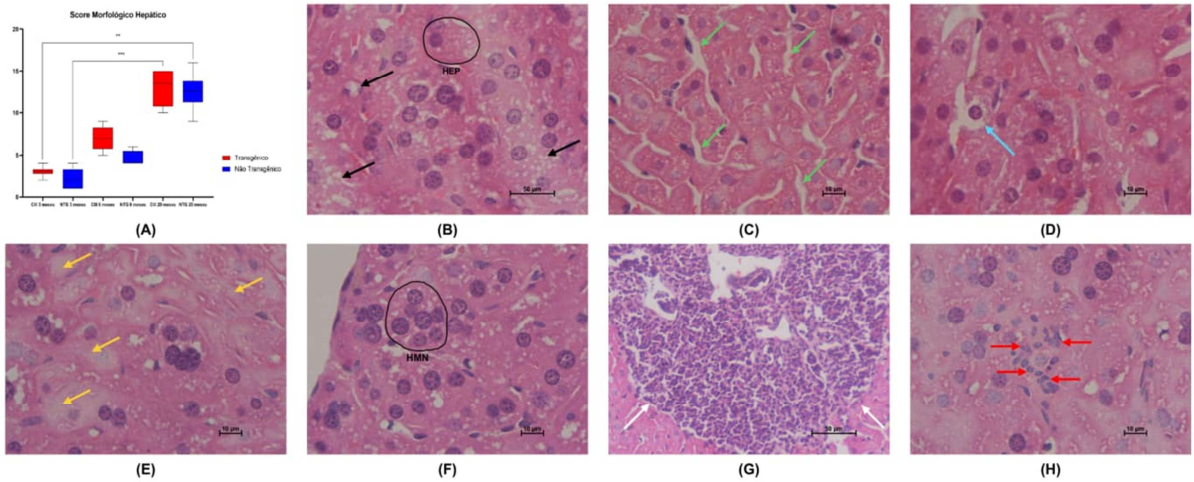


Figura 2 – Tecido hepático em coloração H&E: (A) Caracterização do tecido hepático por escore morfológico; (B) Delimitação da área do hepatócito (HEP) e microgotículas (setas pretas), objetiva 100x, escala = 50µm; (C) Congestão sinusoidal (setas verdes), objetiva 40x, escala = 10µm; (D) Macrogotícula de gordura (seta azul), objetiva 100x, escala = 10µm; (E) Balonismo (setas amarelas), objetiva 100x, escala = 10µm; (F) Hepatócito multinucledo (HMN) com 7 núcleos, objetiva 100x, escala = 10µm; (G) Área de intenso infiltrado inflamatório (setas brancas), objetiva 40x, escala = 50µm; (H) Morte celular de hepatócitos (setas vermelhas), objetiva 100x, escala = 10µm. Kruskall-Wallis seguido pelo pós teste de Dunn's. Resultados expressos em mediana ± percentis 25-75%. (n=8) . **(p < 0,01), ***(p < 0,005).

A área dos hepatócitos aumentou nas camundongas transgênicas idosas em comparação aos controles não transgênicos da mesma idade (Figura 3A). Dentre os transgênicos, animais de 20 meses exibiram área hepatocitária superior aos demais. Em contrapartida, a contagem celular por campo demonstrou redução significativa no número de hepatócitos nos animais transgênicos idosos em relação aos jovens (Figura 3B), bem como redução nos controles NTG adultos em relação aos jovens.

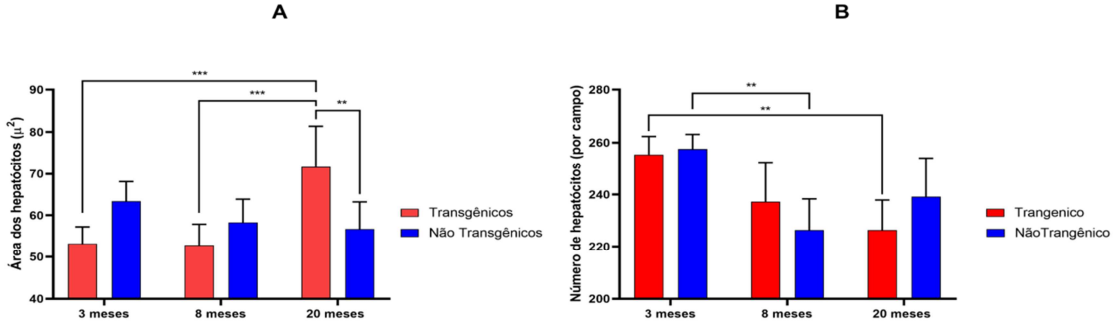


Figura 3 – Análise morfométrica: (A) área dos hepatócitos (µm2). (B) número de hepatócitos (por campo) de camundongas transgênicas e não transgênicas com 3, 8 e 20 meses de idade. Two-way ANOVA seguido de pós teste de Tukey, expressos em média ± desvio padrão. (n=6/grupo). **(p <0.005), ***(p <0.001).

Os achados demonstram que, embora a hipertrigliceridemia crônica isolada não altere a morfologia macroscópica do fígado, atua em sinergia ao envelhecimento (PAIVA et al.,2017), promovendo um remodelamento celular caracterizado por menor densidade celular, hipertrofia dos hepatócitos e multinucleação acentuada, em uma tentativa adaptativa de preservar a homeostase tecidual ao longo do tempo.

CONCLUSÕES

A superexpressão da ApoC-III humana age em sinergia ao envelhecimento, causando alterações morfológicas, morfométricas e nucleares no fígado de camundongas transgênicas. Embora a hipertrigliceridemia crônica isolada não altere parâmetros biométricos ou a histopatologia global em animais de mesma faixa etária, ela intensifica o remodelamento celular no fígado dos animais idosos.

AGRADECIMENTOS

À UEM, ao DCM, ao DFS e ao Biotério Setorial pela infraestrutura e suporte técnico, e ao CNPq pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

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

LUO, M.; PENG, D.-Q. The emerging role of apolipoprotein C-III: beyond hypertriglyceridemia. Lipids in Health and Disease, v. 15, n. 1, art. 184, p. 1-8, 2016.

PAIVA, A. A. et al. Hypertriglyceridemia induced by apolipoprotein C-III overexpression impairs liver antioxidant capacity and increases inflammatory responses in mice. Free Radical Biology and Medicine, v. 112, p. 245-253, 2017.

WIEDERKEHR, H. A. et al. Transection of the hepatic parenchyma associated or not with the contralateral portal vein branch ligature and its effect in liver regeneration. Einstein (São Paulo), v. 15, n. 2, p. 178-185, 2017. DOI: 10.1590/S1679-45082017AO3831.

XIE, W.-Q. et al. Age equivalence between humans and mice in cardiovascular and metabolic research. Aging Cell, v. 20, n. 10, art. e13473, p. 1-12, 2021.