

# Expressão da IL-6, MMP-9, MMP-13 e agregan em condrócitos saudáveis expostos a acetono de triancinolona ou plasma rico em plaquetas

Heloisa Einloft Palma<sup>[a]</sup>, Miguel Gallio<sup>[a]</sup>, Roberta Carneiro da Fontoura Pereira<sup>[b]</sup>, Gabriele Biavaschi Silva<sup>[a]</sup>, Camila Cantarelli<sup>[a]</sup>, Kalyne Bertolin<sup>[a]</sup>, Patrícia Wolkmer<sup>[c]</sup>, Julien Wergutz, Alexandre Krause<sup>[a]</sup>, Karin Érica Brass<sup>[a]</sup>, Flávio De La Côte<sup>[a]</sup>

<sup>[a]</sup> Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil

<sup>[b]</sup> Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI), Injuí, RS, Brasil

<sup>[c]</sup> Centro Universitário Franciscano (UNIFRA), Santa Maria, RS, Brasil

\*Autor correspondente  
e-mail: heinloft@hotmail.com

## Resumo

Na cartilagem saudável, os condrócitos mantêm a expressão de colágeno e proteoglicanos e são sensíveis a fatores de crescimento e citocinas que aumentam ou reduzem a síntese de matriz. Na osteoartrite (OA), a decomposição da matriz é acompanhada por alterações fenotípicas dos condrócitos. As citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), desempenham papel fundamental na OA, aumentando a expressão de metaloproteinases (MMP) e diminuindo a síntese de macromoléculas, incluindo o colágeno tipo II e o agregano. Sabe-se que a MMP-9 e MMP-13 são importantes na destruição da cartilagem articular, especialmente por degradação de colágeno. A expressão de IL-6, que é induzida pela IL-1, também faz parte do processo de degradação articular. Para reduzir os efeitos clínicos causados pela OA, o acetono de triancinolona (TA) e o plasma rico em plaquetas (PRP) são utilizados com frequência por via intra-articular. Os pacientes da medicina esportiva necessitam de rápido retorno ao seu nível funcional e o PRP pode acelerar essa recuperação. Já o TA é considerado benéfico ao ambiente articular, sendo que os animais tratados se mostram menos claudicantes e com níveis mais baixos de proteínas no líquido sinovial. Devido ao uso bem difundido desses agentes nos casos de OA e com a finalidade de avaliar os possíveis efeitos deletérios do TA e do PRP, optou-se por realizar os tratamentos sobre um cultivo de condrócitos, avaliando a expressão gênica dos fatores produzidos pelos condrócitos. Articulações metacarpofalangeanas de cinco equinos adultos, clínica e radiograficamente saudáveis, foram usadas. Fragmentos de cartilagem foram colhidos sob ambiente asséptico e sofreram digestão enzimática com pronase e colagenase em tubos Falcon, sendo essa reação interrompida com meio de DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino, 60U/mL de penicilina, 60 $\mu$ g/mL de estreptomina e 2mmol/L de glutamina.



As células foram cultivadas em garrafas, encubadas a 37°C em uma estufa com 5% de CO<sub>2</sub>. Após um período de 21 dias, quando as células tinham confluência de 90%, elas foram transferidas às placas de cultivo celular. Após nova confluência de 90%, em três dias, realizou-se o tratamento das mesmas por 30 minutos como segue: G1 - controle condrócitos; G2 - condrócitos + PRP (500.000 plaquetas/poço); G3 - condrócitos + TA (0,06mg/mL), sendo que os testes foram repetidos cinco vezes. As células destinadas à realização da reação em cadeia da polimerase (PCR) foram encaminhadas para o processo de extração de RNA, realizado com o reagente TRIzol®. Após esse procedimento, as amostras foram analisadas para expressão gênica da IL-6, agrecano, MMP-9 e MMP-13. Uma alíquota celular foi encaminhada para realização de testes de viabilidade pelos métodos de azul de trypan e por citometria de fluxo. O PRP foi preparado após coleta de sangue total em bolsa de coleta com CPDA-1 da veia jugular de um equino saudável, que foi usado em todos os preparos para a realização deste estudo. As amostras foram centrifugadas para obtenção do PRP de acordo com técnicas já bem estabelecidas pelo nosso laboratório. Optou-se por usar um filtro de leucócitos a fim de remover células inflamatórias no momento da aplicação. Os dados foram analisados por teste de ANOVA de duas vias, seguido do teste de Tukey, sendo significativo quando  $p < 0,05$ . Observou-se alta viabilidade celular nos três grupos quando comparados ao grupo controle, em uma média de mais de 98% de células viáveis. Não foram observadas diferenças na produção de MMP-9, MMP-13, IL-6 e agrecano entre os tratamentos com TA ou PRP. Sugere-se que a exposição de condrócitos normais ao TA e ao PRP não resultou em um aumento na síntese de MMPs, IL-6 e agrecano, não tendo sido associados com efeitos deletérios para as culturas de condrócitos.

**Palavras-chave:** Metaloproteinases. IL-6. Agrecano.