

Redução da expressão da proteína KSRP está associada a prejuízos no funcionamento da célula beta pancreática

Barssotti, L; Marconato-Júnior, E; Soares, GM; Boschero, AC; Barbosa, HC.

Introdução: Disfunções nas células beta pancreáticas podem levar a prejuízos na produção e secreção de insulina, à morte celular, e, eventualmente, ao diabetes mellitus tipo 2. Compreender os mecanismos que regulam a síntese de proteínas envolvidas na função e sobrevivência da célula beta é de fundamental importância para se entender como tais disfunções podem se instalar ou ser evitadas. A *KH-type splicing regulatory protein* (KSRP) atua na regulação pós-transcricional, participando de mecanismos como *splicing* alternativo, degradação do mRNA e processamento primário e maturação de microRNAs. Apesar de existirem estudos descrevendo o papel da KSRP em tecidos intimamente relacionados à homeostase glicêmica, até o momento seu efeito não foi investigado nas células beta pancreáticas. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar possível modulação na expressão da KSRP em ilhotas pancreáticas de camundongos obesos induzidos por dieta, assim como em modelos *in vitro* de disfunção da célula beta.

Métodos: Foram utilizadas ilhotas pancreáticas isoladas, provenientes de camundongos C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica por 16 semanas (CEUA/Unicamp 5023-1/2018). O conteúdo de mRNA das ilhotas foi avaliado por PCR *real time* (RT-PCR). Para modelos *in vitro* de disfunção, a linhagem de células beta pancreáticas de rato, INS-1E, foi exposta à 0,5 mmol/l de palmitato, assim como a 6,25 μ mol/l, 12,5 μ mol/l e 25,0 μ mol/l de ácido ciclopiazônico (CPA), indutor de estresse de retículo endoplasmático (RE), por 12h, 16h e 24h. O conteúdo de mRNA foi avaliado por RT-PCR e o conteúdo proteico por Western Blotting. Os dados foram submetidos ao teste t de Student (animais), One-Way ANOVA (palmitato) e Two-Way ANOVA (CPA) e apresentados como média \pm EPM; $P \leq 0,05$.

Resultados: Os resultados mostram diminuição de 29,5% no conteúdo de mRNA da KSRP na ilhota de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica por 16 semanas. Nos modelos *in vitro*, a exposição por 24h das células INS-1E a 0,5 mmol/l de palmitato (ácido graxo saturado) causou diminuição de 33,7% no conteúdo proteico de KSRP, ao mesmo tempo em que foi observado diminuição no conteúdo de syntaxina 1A, que sugere prejuízo na secreção de insulina. Os resultados das análises de RT-PCR também mostraram que após 24h de exposição ao palmitato, o mRNA da KSRP diminuiu em 62,7%, e é observada, ainda, redução no conteúdo do mRNA da insulina 2, assim como aumento no mRNA da CHOP, envolvida na morte celular induzida pelo estresse de RE. Nas células tratadas com CPA, inibidor da bomba de cálcio (SERCA) do RE, foi observado aumento no conteúdo proteico de CHOP e diminuição no conteúdo de KSRP após 24h com 12,5 μ mol/l e 25,0 μ mol/l de CPA.

Conclusão: Os resultados obtidos demonstram que a KSRP está diminuída em contextos de disfunção da célula beta, e até mesmo de indução de morte, sendo assim um importante alvo para estudo dos mecanismos que envolvem o comprometimento da função e sobrevivência da célula beta pancreática.