

## 94 A NECROPTOSE CONTRIBUI PARA A PATOGÉNESE DA DOENÇA HEPÁTICA CRÓNICA

Afonso M.B. 1, Rodrigues P.M. 1, Caridade M. 1, Cortez-Pinto H. 3,4, Castro R.E. 1,2, Rodrigues C.M.P. 1,2

A necrose dos hepatócitos é uma característica patológica transversal à maioria das doenças hepáticas. A necrose regulada ou necroptose é um novo tipo de morte celular programada, independente da ativação das caspases, cuja morfologia é semelhante à da necrose. Este trabalho teve como objetivo avaliar o papel da necroptose em indivíduos com doença hepática crónica. A expressão de RIP3, um mediador essencial da necroptose, foi avaliada por imunohistoquímica em biópsias hepáticas controlo (n=5), bem como em biópsias de doentes com esteatose (n=5), esteatohepatite não alcoólica (EHNA; n=11), esteatohepatite alcoólica (n=5), cirrose biliar primária (n=5), hepatite B (n=5) e hepatite C (n=4). Além disso, marcadores de necrose foram analisados no soro de indivíduos saudáveis (n=5) e no soro de doentes com esteatose (n=29) e com EHNA (n=15). Em estudos *in vitro*, hepatócitos primários de rato foram expostos ao ácido palmítico, ou ao TNF-alfa/ciclohexamida, na presença ou ausência de um inibidor das caspases. Em algumas experiências, um inibidor da necroptose, a necrostatina-1, foi também incluído no meio de incubação. Os nossos resultados demonstram que a RIP3 estava fortemente expressa no fígado de doentes com patologia hepática crónica, independentemente da etiologia. Mais ainda, marcadores periféricos de necroptose, como as proteínas CK18-M65, HMGB1 e CyP A, para além de enzimas hepáticas, como as transaminases, estavam significativamente aumentadas no soro de doentes em diferentes estádios de fígado gordo não alcoólico, sugerindo necrose hepática. *In vitro*, o ácido palmítico e o TNF-alfa/ciclohexamida induziram necroptose, independente da ativação da caspase-3, bem como produção aumentada de espécies reativas de oxigénio e de RIP3. Estes eventos foram inibidos pela necrostatina-1 e pela depleção genética de RIP3. Em conclusão, a necroptose parece desempenhar um papel ativo na patogénese da doença hepática crónica, devendo por isso ser considerada como um potencial alvo terapêutico. (Financiado por FCT PTDC/SAU-ORG/119842/2010, HMSP-ICT/0018/2011 e SFRH/BD/91119/2012).

1Instituto de Investigação do Medicamento (iMed.Ulisboa) e 2Departamento de Bioquímica e Biologia Humana, Faculdade de Farmácia; 3Gastroenterologia, Hospital de Santa Maria e 4IMM, Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.