

III CONGRESSO NACIONAL DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS LABORATORIAIS

O POTENCIAL DA EPIGALOCATEQUINA-3-GALATO NA REATIVAÇÃO DA EXPRESSÃO DA γ -GLOBINA E INDUÇÃO DA HEMOGLOBINA FETAL

Daniela Sousa¹; Elisabete Matos²; Mariana Delgado¹; Edna Ribeiro¹; Vanessa Mateus¹; Inês Silva¹; Miguel Brito¹

1. H&TRC – Health & Technology Research Center, ESTeSL, IPL. Lisboa, Portugal

2. Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, IPL, Lisboa, Portugal

1. INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias estão entre as doenças genéticas mais comuns em todo o mundo, particularmente a doença falciforme (DF) e a β -talassemia (1), e são causadas por defeitos na estrutura da hemoglobina ou na expressão dos genes da globina durante a transição de hemoglobina fetal (HbF) pela hemoglobina adulta (HbA) (2).

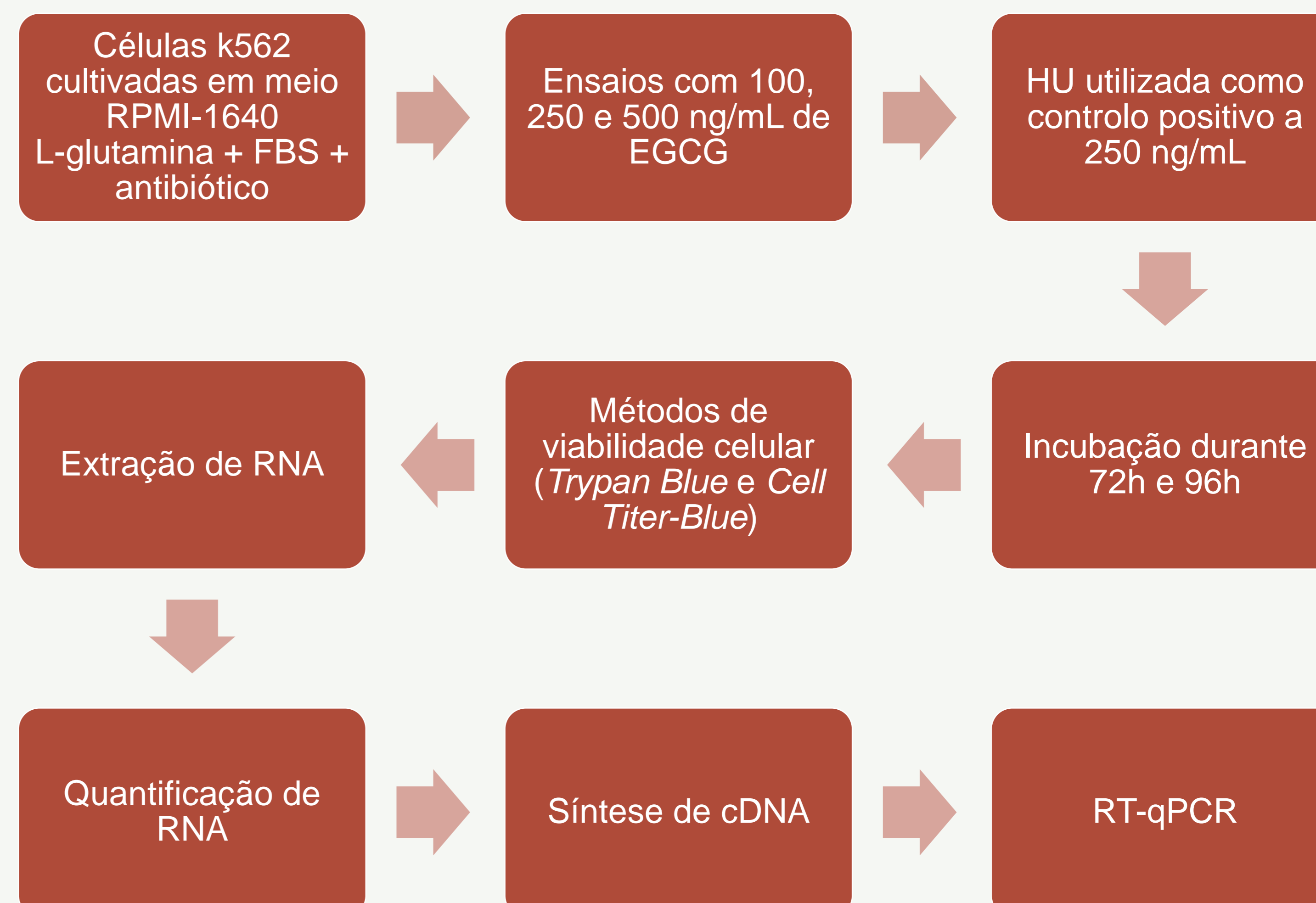
Novas abordagens terapêuticas estão a ser desenvolvidas para ir além do tratamento paliativo que impõe altos custos aos sistemas de saúde. Desta forma, uma terapia alternativa mais acessível e promissora é a indução farmacológica de HbF (2). A elevação da síntese da cadeia γ -globina fetal equilibra o excesso da cadeia α -globina pela formação de HbF, modulando a anemia severa nos pacientes com β -talassemia maior e inibindo diretamente a polimerização da hemoglobina falciforme em pacientes com DF (3).

A hidroxiureia (HU) é o único medicamento aprovado pela FDA para o tratamento de pacientes com DF e com β -talassemia intermédia. No entanto, este fármaco inibe a replicação do ADN e a possibilidade de ser mutagénico e carcinogénico limita o seu uso clínico. Por este motivo, o desenvolvimento de novos compostos indutores de HbF, com alta eficiência e menor toxicidade, estão a ser investigados (4).

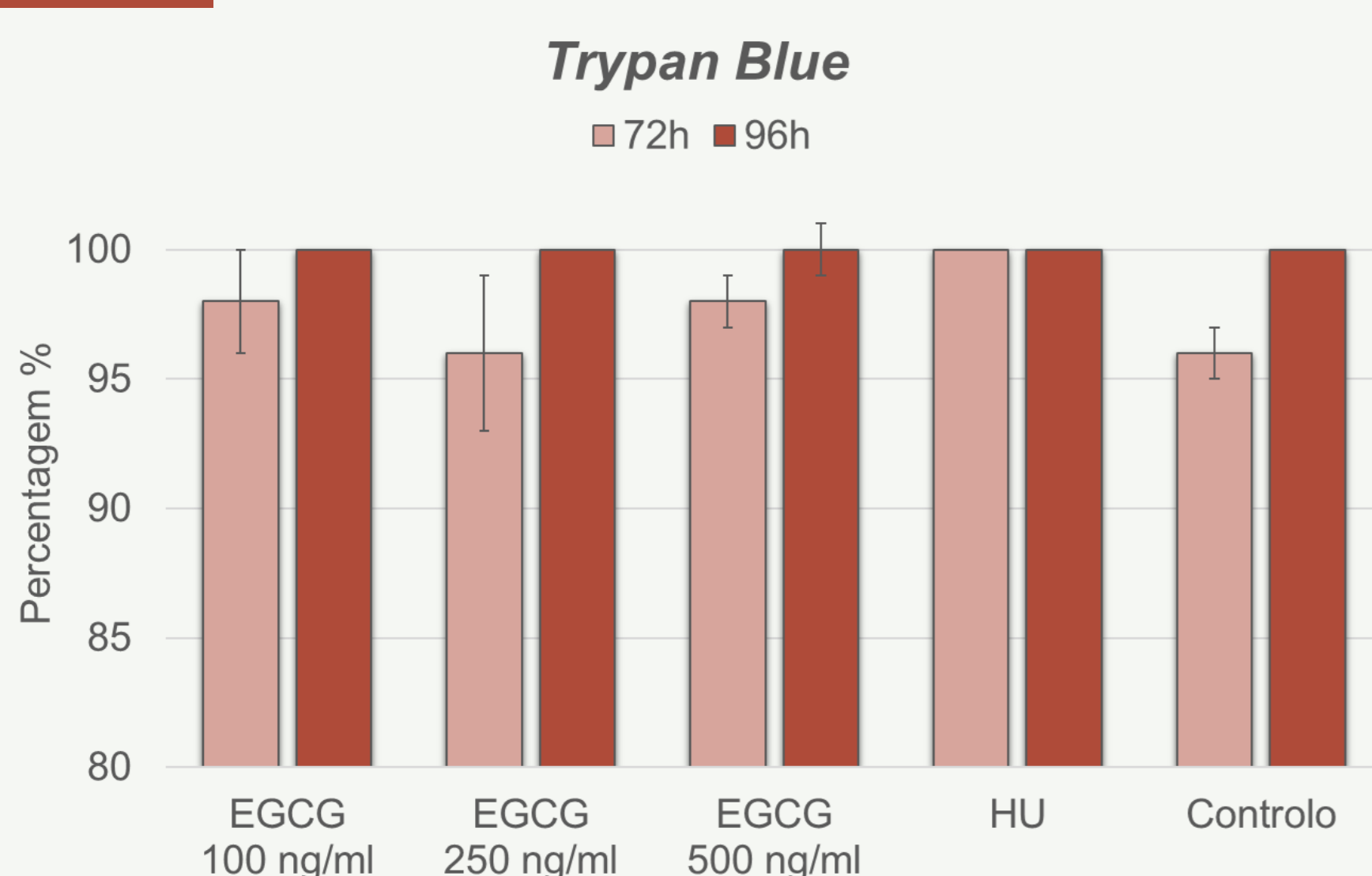
Os compostos biológicos da dieta, como a epigalocatequina-3-galato (EGCG), estão associados a efeitos benéficos para a saúde devido aos seus efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes. A EGCG é a catequina mais abundante no chá verde e a sua propriedade anti-inflamatória desempenha um papel crucial na regulação da expressão e transcrição relativa de genes (5).

O objetivo deste projeto foi avaliar o potencial da EGCG, na reativação da expressão do gene da γ -globina e, deste modo, na indução de HbF.

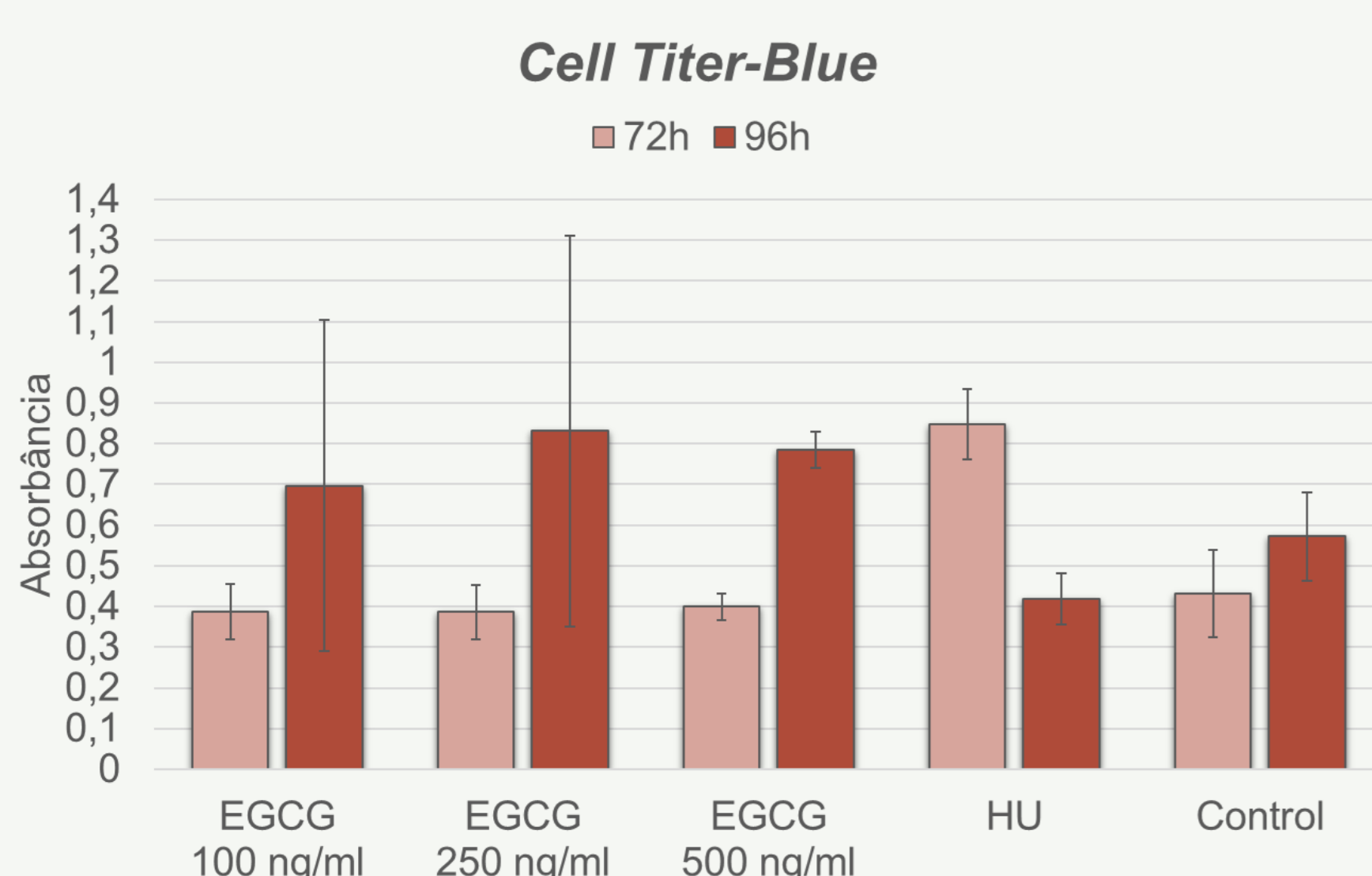
2. METODOLOGIA



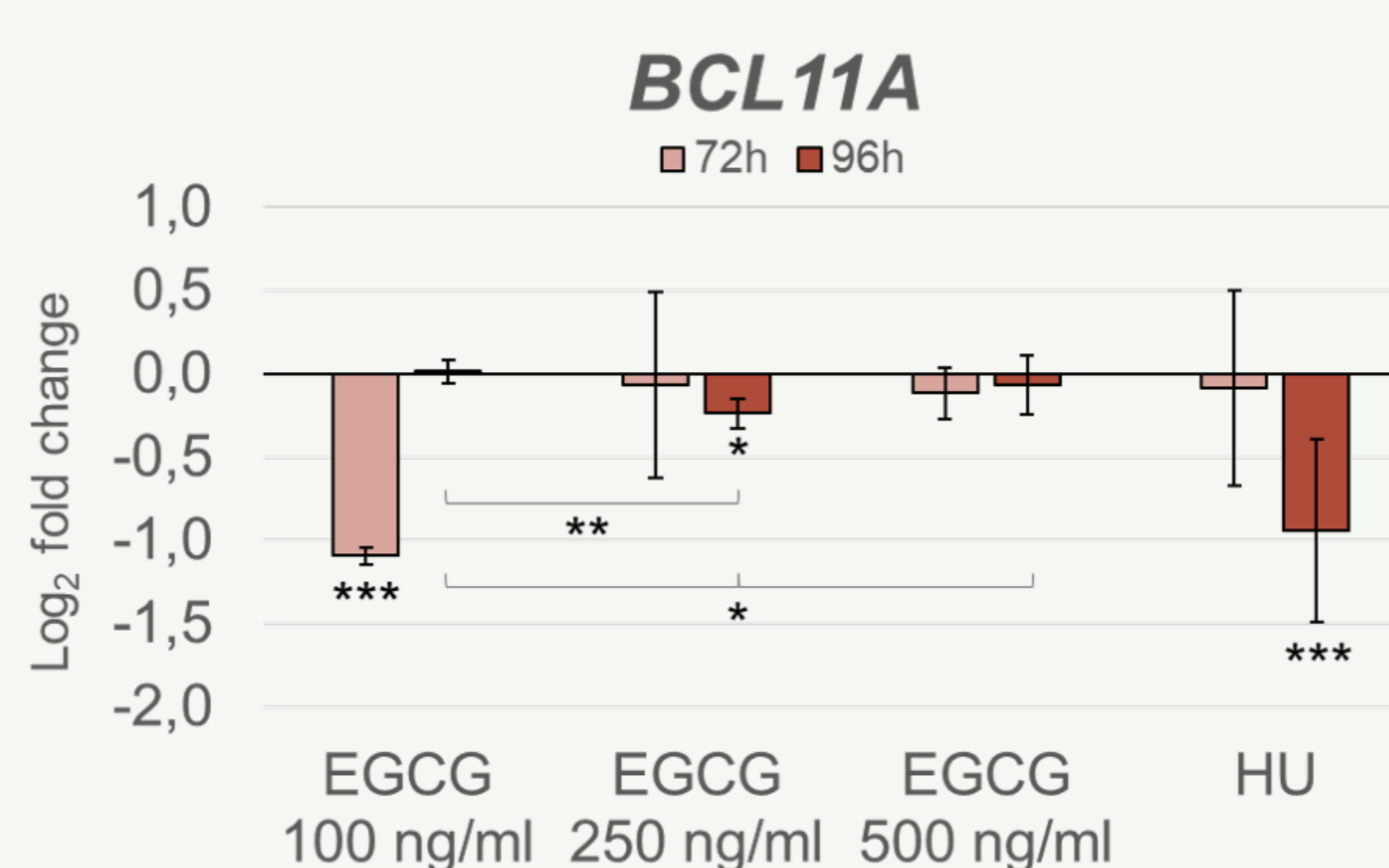
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO



A viabilidade celular foi calculada como percentagem através do teste *trypan blue* e obtiveram-se melhores resultados às 96h de incubação. Todos os grupos de tratamento demonstraram viabilidade celular superior a 95% o que significa que o composto EGCG não apresentou qualquer efeito citotóxico na linhagem celular k562.

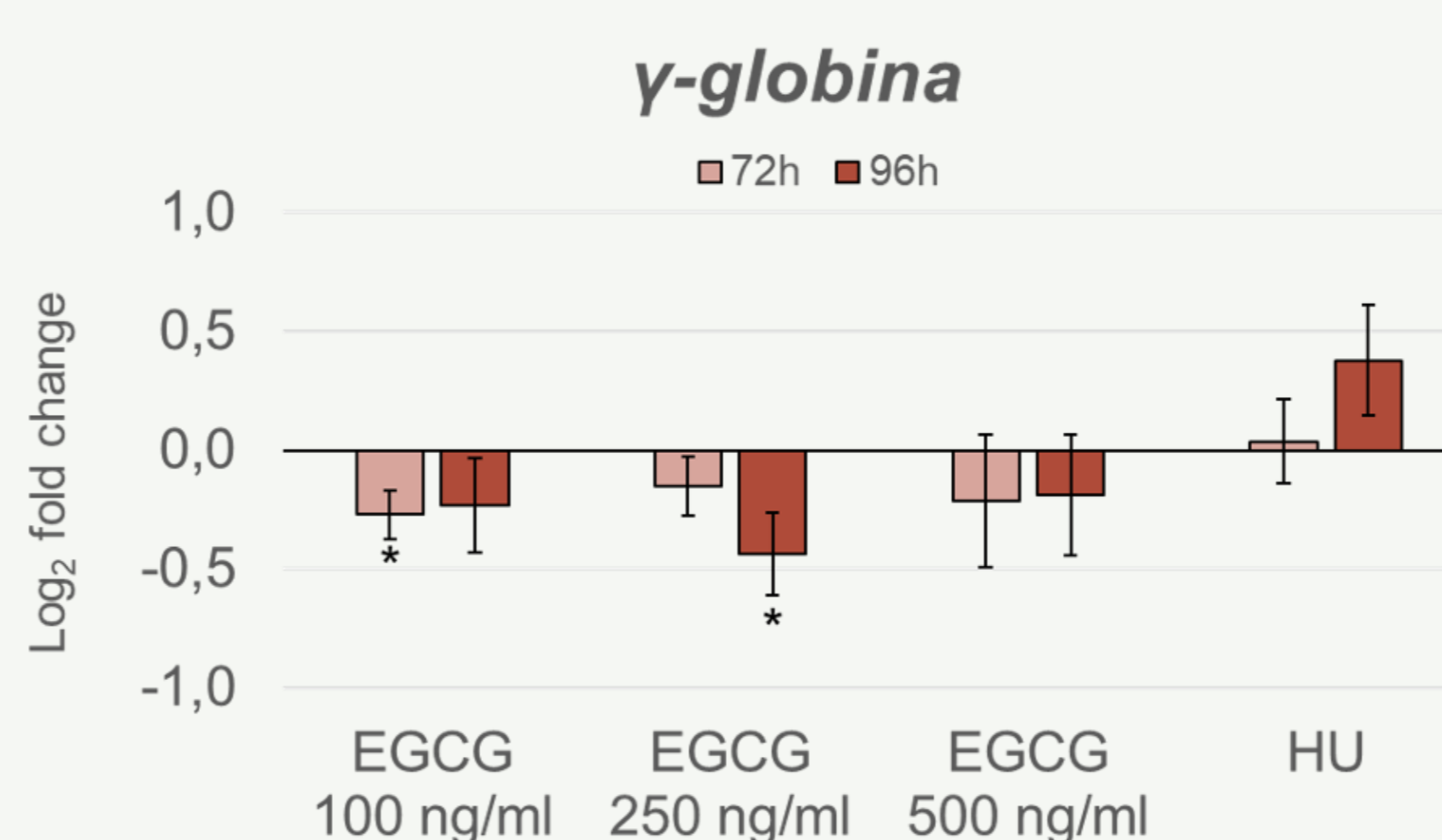


No teste de viabilidade celular *cell titer-blue* foi possível confirmar que a EGCG não afetou a viabilidade celular uma vez que às 96h de incubação houve um aumento de concentração celular em todos os grupos de tratamento. Através deste teste foi também possível observar os efeitos citotóxicos da HU visto que com um aumento da exposição ao fármaco a concentração celular diminuiu.



O silenciamento do gene da HbF é regulado por silenciadores de fatores de transcrição como o *BCL11A*, cuja única ação conhecida na linhagem celular eritróide é mediar a alteração de HbF pela HbA. Uma diminuição na expressão do gene *BCL11A* na linhagem celular k562 resulta num aumento significativo na expressão do gene da γ -globina.

Assim, a EGCG induziu uma diminuição na expressão do gene *BCL11A* principalmente com a concentração de 100 ng/ml às 72h de incubação ($p < 0.001$) e, embora com pouca significância, com a concentração de 250 ng/ml às 96h de incubação ($p = 0.041$). Por conseguinte, a EGCG induziu um aumento, pouco significativo, na expressão do gene da γ -globina com as concentrações de 100 ng/ml às 72h de incubação ($p = 0.027$) e de 250 ng/ml às 96h de incubação ($p = 0.036$).



4. CONCLUSÃO

Atualmente, a investigação de compostos seguros e acessíveis a toda a população com a propriedade de induzir a expressão do gene da γ -globina é de grande interesse. Por este motivo, a EGCG foi testada devido ao seu efeito na inibição das proteínas específicas da quinase que interrompem o ciclo celular ou bloqueiam a ativação de fatores de transcrição.

Através dos resultados obtidos é possível concluir que a EGCG não apresentou qualquer efeito citotóxico na linhagem celular k562 uma vez que a viabilidade celular foi superior a 95% em todos os grupos de tratamento. Além disso, a EGCG induziu uma diminuição na expressão do gene *BCL11A*, um dos principais silenciadores da expressão da γ -globina, e, consequentemente, induziu um aumento na expressão do gene da γ -globina, embora com pouca significância. Deste modo, estes resultados suportam a necessidade de desenvolver estudos futuros, nomeadamente com aumento das doses e tempos de exposição para avaliar o efeito mais prolongado na expressão de HbF.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Park B-K, Kim H-S, Kim S, Lee J-W, Park YS, Jang P-S, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in congenital hemoglobinopathies with myeloablative conditioning and rabbit. 2018;53(2).
2. Schaeffer EK, West RJ, Conine SJ, Lowrey CH. Multiple physical stresses induce γ -globin gene expression and fetal hemoglobin production in erythroid cells. Blood Cells, Mol Dis. 2014;52(4):214–24.
3. Chou Y-C, Chen R-L, Lai Z-S, Song J-S, Chao Y-S, Shen C-K. Pharmacological induction of human fetal globin gene in hydroxyurea-resistant primary adult erythroid cells. MCB. 2015;35(14):2541–53.
4. Fard AD, Hosseini SA, Shahjehani M, Salari F, Jaseb K. Evaluation of Novel Fetal Hemoglobin Inducer Drugs in Treatment of β -Hemoglobinopathy. 2013;7(3).
5. Vahid F, Zand H, Nosrat-Mirshakarlou E, Najafi R, Hekmatdoost A. The role dietary of bioactive compounds on the regulation of histone acetylases and deacetylases: A review. Gene. 2015;562(1):8–15.