

Título: Papel da gedunina sobre a ativação de macrófagos induzida por LPS: avaliação do envolvimento da Hsp90.

Autor(es) Carmen Penido; Katelim Hottz Moret; Maria das Graças Henriques; Patricia Pacheco; Perla Villani

E-mail para contato: patricia.pacheco.silva@gmail.com

IES: FIOCRUZ

Palavra(s) Chave(s): macrófago, genuína, inflamação, LPS, HSP90

RESUMO

Os macrófagos apresentam um papel central na resposta inflamatória e na regulação da resposta imune. O lipopolissacarídeo (LPS) presente na membrana externa de bactérias Gram-negativas é um potente ativador de macrófagos, reconhecido pelo complexo TLR4/MD-2/CD14 presente na membrana celular, o que leva à ativação de uma cascata de sinalização intracelular, que depende das proteínas adaptadoras contendo domínios TIR MAL/MyD88 (via aguda) e TRAM/TRIF (via tardia), induzindo a translocação nuclear do NF- κ B, a geração de diversos mediadores inflamatórios e a expressão de enzimas responsáveis pela geração de mediadores lipídicos. Esta pesquisa vem estudando os efeitos e o mecanismo de ação da gedunina, um tetranortriterpenóide isolado de espécies vegetais, cuja atividade anti-inflamatória e imunomoduladora foi demonstrada em diferentes modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*, incluindo a inflamação induzida por LPS. A literatura demonstra que a gedunina é capaz de inibir a ativação de Hsp90, uma chaperona importante para a estabilização e ativação de diversas proteínas eucarióticas, tais como tirosinas quinase e fatores de transcrição, apresentando um importante papel na resposta imune. O objetivo geral deste projeto foi avaliar o efeito da gedunina na ativação de macrófagos ativados por LPS, investigando o seu impacto sobre a sinalização e o envolvimento da Hsp90. A incubação de macrófagos WT (selvagens) com gedunina (0,001 - 1000 μ M) demonstrou que esta substância não foi citotóxica entre 0,001 - 10 μ M. O pré-tratamento de macrófagos com a gedunina (0,01 - 10 μ M) foi capaz de inibir, de forma dependente da concentração, a produção dos mediadores inflamatórios TNF- α e óxido nítrico entre 6 h - 24 h após estímulo com LPS (50 ng/ml). O pré-tratamento de macrófagos deficientes geneticamente para TRIF ou para MAL com a gedunina (10 μ M) foi capaz de inibir a produção TNF- α , IL-6 e IL-1 β em 6 h e 24 h, respectivamente, modulando tanto a via aguda como a via tardia da sinalização do TLR4. Além disso, a gedunina inibiu a expressão de COX-2 e a translocação de NF- κ B em macrófagos WT induzidas por LPS. De forma interessante, em adição à inibição de fatores inflamatórios, a gedunina induziu um aumento na produção/expressão dos fatores anti-inflamatórios, IL-10, heme-oxigenase e Hsp70 em macrófagos estimulados com LPS. Ainda, a gedunina induziu a expressão de Hsp90 em macrófagos WT estimulados com LPS. Os resultados deste trabalho sugerem que a gedunina apresenta um efeito inibitório sobre a ativação de macrófagos estimulados com LPS e é capaz de modular a Hsp90. Compreendendo a importância de macrófagos como células centrais de respostas inflamatórias de origem infecciosa ou alérgica, a identificação de novos alvos e a elucidação dos seus mecanismos de ação são de extrema importância para entender as respostas imunes desencadeadas por estas células. Ainda, a busca de novas substâncias capazes de interferir com mecanismos de ativação destas é de grande relevância para o controle de respostas imunes na qual a ativação exacerbada destas células é deletéria ao organismo. Desta forma, pretendemos aprofundar os estudos de mecanismo de ação da gedunina sobre macrófagos ativados por LPS, elucidando o seu impacto sobre a sinalização do LPS em macrófagos, incluindo a modulação das vias TRAM/TRIF e MAL/MyD88.