



24º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

13º Mostra Científica de Integração
entre Pós-Graduação e Graduação
3º Jornada de Tecnologia e Inovação

ATIVIDADE DOS ANTAGONISTAS DE PPAR

Andriéli Regina Dutra, Larissa Benvenutti, Ozana Kethilen França Fernandes, Bruna de Araujo, Carlos Rafael Vaz,
Fátima de Campos Buzz, Elaine Cristina Kormann, Flora Aparecida Milton, José Roberto Santin
Farmacologia - Farmacologia Geral

Os macrofágos detectam lesões e respondem à invasão de patógenos, alterando sua polarização e fenótipo em resposta a uma variedade de estímulos, como a resolução da inflamação trazendo a homeostase. Durante esse processo pode ocorrer uma exacerbação da resposta desencadeando inflamação crônica. Os compostos D1, D2, D3, E2, E3, E4 foram sintetizados na Univali, para atuar como agonista de PPAR, porém não foram comprovados seus papéis no processo de resolução inflamatória. O objetivo deste estudo é investigar a função dos agonistas PPAR para resolução inflamatória. Ensaio de eferocitose os macrófagos (1×10^6) obtidos do canal medular de camundongos, tratados com agonistas de PPAR (D1, D2, D3, E2, E3, E4) nas concentrações 0,1, 1 e 10 μM . Os neutrófilos senescentes obtidos da cavidade peritoneal (glicogênio de ostra 1%), adicionados aos macrófagos, coletou o sobrenadante para dosagem de citocinas (TNF e IL-10) e lâminas coradas May-Grünwald-Giemsa para análise da fagocitose. Determinação de citocinas utilizando ELISA, a leitura da densidade óptica. Realizou-se a fenotipagem de macrófagos com a polarização induzida: M1: IFN- γ (10 ng/mL) \pm LPS (100 ng/mL). M2: IL-4 (20 ng/mL), exposição ao composto D3 (0,1 μM), os macrófagos corados para marcadores de superfície e intracelulares com CD206 (M2), CD80 (M1), CD86 (M1) e CD163 (M2), sendo analisado por citometria de fluxo. Teste do gene repórter com células HeLa (25×10^3), para avaliar o efeito do D3 sob a ativação das isoformas PPAR foi realizado. DMSO, WY14643 (100 μM), GW0742 (0,1 μM), BEZA (100 μM) rosiglitazona (10 μM) e pioglitazona (10 μM) foram usadas como controle. Células Raw 264.7 (1×10^5) foram utilizadas para avaliar o efeito do D3 na viabilidade celular, através do ensaio de MTT. D3 (1 μM) com ou sem a adição de antagonistas de isoformas de PPAR, (GSK3787, GW9662 e T0070907) e Dimetilsulfóxido (DMSO) a 10% foram analisados. Realizou-se o experimento de produção intracelular de ânion superóxido (NadpH oxidase), no qual células Raw 264.7 (2×10^5), foram tratadas com D3 (0,1; 1 e 10 μM), o antagonista T0070907, e LPS (controle positivo), por 30 minutos, adicionou-se NBT, diluídos em DMSO e KOH 2M para leitura no espectrofotômetro. O tratamento com os compostos resultou em um aumento da taxa de eferocitose em todas as concentrações testadas. O tratamento com os compostos D1, D2, D3 e E2 obteve redução nos níveis de TNF. O efeito dos compostos na liberação da citocina anti-inflamatória IL-10 ocorreu somente D1 e D2 (0,1 μM). O tratamento com D3 resultou em uma diminuição significativa da expressão de p38-MAPK em relação ao controle de macrófagos de M1. Além disso, D3 promoveu o aumento da expressão de pSTAT-3 sendo similar ao controle de macrófagos de fenótipo M2. No ensaio de gene repórter o D3 ativou o receptor PPAR γ de maneira parcial, em comparação aos agonistas usados como controle, ativando as isoformas PPAR α e PPAR β porém em menor proporção. O tratamento com o D3 e os antagonistas não alterou a viabilidade dos macrófagos. No NadpH oxidase a concentração que demonstrou os melhores resultados foram 1,0 μM e 10 μM que revertem a formação de peróxidos. Conclui-se que todos os compostos aumentaram a taxa de eferocitose, sugerindo uma melhora na resolução da inflamação. O composto D3 apresentou melhores efeitos reduzindo a expressão de p38-MAPK, aumentou a ativação de pSTAT-3 em níveis semelhantes aos macrófagos M2 e ativou parcialmente o receptor PPAR γ , além de interagir com PPAR α e PPAR β . Esses achados indicam que D3 pode modular vias de sinalização associadas à polarização de macrófagos para um fenótipo anti-inflamatório. Sem comprometer a viabilidade celular e demonstrou efeito protetor quando exposto ao NADPH oxidase.

Palavras-chave: PPAR; inflamação; macrófagos

Apoio: Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq); Universidade do Vale do Itajaí (Univali); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Universidade de Brasília (UnB); INCT Inovamed