

Envolvimento do óxido nítrico na ação microbicida de macrófagos: Possível modulação por ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs).

Lais P. Pral*, Marco A. R. Vinolo.

Resumo

Os macrófagos são células integrantes da imunidade inata, residentes dos tecidos, cuja principal função efetora consiste na fagocitose e destruição de organismos invasores através da produção de óxido nítrico (NO). Pesquisas apontam a possível modulação da atividade dessa enzima por ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs), os quais são produtos do metabolismo bacteriano, assim, possuindo impacto na produção de NO, e possivelmente, na resposta de macrófagos a patógenos. Este projeto visa compreender o efeito dos AGCCs sobre a produção de NO por macrófagos ativados por interferon (IFN)- γ frente a bactéria *Agregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa).

Palavras-chave: Macrófagos - Ácidos graxos de cadeia curta - Produção de óxido nítrico.

Introdução

O óxido nítrico possui um importante papel na ação efetora dos macrófagos, assim, a modulação da produção dessa molécula por AGCCs pode interferir na capacidade da imunidade inata de eliminar possíveis patógenos, tornando-se importante elucidar as consequências desse efeito para a função microbicida dessas células frente a bactérias.

Resultados e Discussão

Foram utilizados macrófagos derivados da medula óssea de camundongos, tratados com IFN- γ , AGCCs (acetato ou butirato), e bactérias Aa, induzindo assim a produção de NO e citocinas (TNF- α , IL-10). Esses mediadores foram analisados através dos métodos de ELISA (citocinas) e Griess (NO). Também foram avaliadas a capacidade microbicida das células tratadas.

1- Quantificação de NO:

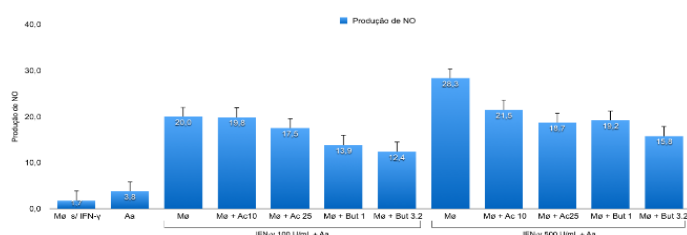


Figura 1. Produção de NO após tratamento com IFN- γ , acetato (Ac 10 e 25mM), butirato (Bt 1 e 3,2 mM) e bactéria (Aa). Normalizado considerando-se C (controle) igual a 100%

Observou-se que a atividade inibidora da produção de NO mais acentuada, em ambas concentrações de IFN- γ , foi exercida pelo tratamento com butirato 3,2 mM. Pode-se notar uma atividade inibidora mais acentuada dos ácidos graxos, quando adicionados aos macrófagos estimulados com IFN- γ 500 U/mL, do que com 100 U/mL (Fig. 1).

2- Quantificação de Citocinas TNF- α e IL-10:

O tratamento com acetato e butirato reduziu a produção da citocina pró-inflamatória TNF- α (Fig. 2). Já para a produção de IL-10 (Fig 3), uma citocina anti-inflamatória, houve redução mediante tratamento com acetato 25 mM e butirato 1 e 3,2 mM. O tratamento com acetato a 10 mM, aumentou a produção de IL-10, quando adicionado juntamente com IFN- γ 500 u/mL.

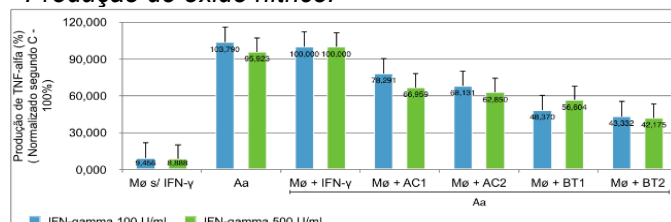


Figura 2. Produção de TNF- α (%) após tratamento com IFN- γ , acetato (AC1 - 10 e AC2 - 25mM), butirato (BT1 - 1mM e BT2 - 3,2 mM) e bactéria (Aa). Normalizado considerando-se C (controle) igual a 100%.

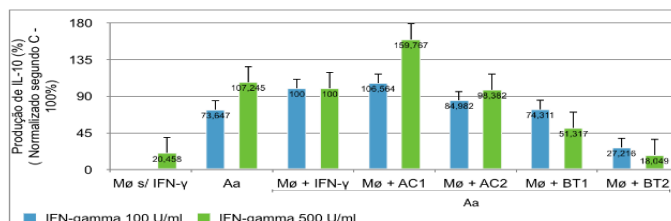


Figura 3. Produção de IL-10 (%) após tratamento com IFN- γ , acetato (AC1 - 10 e AC2 - 25mM), butirato (BT1 - 1mM e BT2 - 3,2 mM) e bactéria (Aa). Normalizado considerando-se C (controle) igual a 100%.

3- Killing de macrófagos:

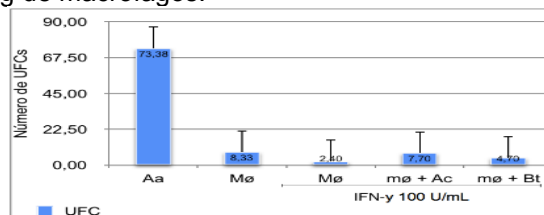


Figura 4. Sobrevivência de bactérias (UFCs) após tratamento com IFN- γ e acetato (Ac), butirato (Bt) e bactéria (Aa).

Os macrófagos tratados com ácidos graxos apresentam atividade microbicida reduzida em relação aos macrófagos estimulados com IFN- γ e não incubados com AGCCs. Comprovando a importância da ativação dos macrófagos por IFN- γ e, possivelmente, do NO na ação microbicida dessas células, o número de UFCs obtidas em cultura de macrófagos não estimulados com interferon foi maior do que a dos controles estimulados (Fig 4).

Conclusões

Macrófagos têm suas funções efetoras moduladas por AGCCs. A continuação avaliaremos a importância desses efeitos para a resposta imune.