

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 de mecanismos microbicidas incluindo a 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 analisou o efeito dos AGCCs sobre a produção de NO por macrófagos ativados por interferon (IFN)- γ frente as bactérias *Agregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) e *Porphyromonas gingivalis* (Pg). A importância do NO nos efeitos dos AGCCs foi analisada através da utilização do doador de NO, a molécula SNAP (Sigma Aldrich) nas análises do efeito microbicida dos macrófagos.

Palavras-chave: Macrófagos - Ácidos graxos de cadeia curta - 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 dessas células em 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. Essas células foram tratadas com IFN- γ , AGCCs (acetato ou butirato), SNAP (composto doador de NO), e incubadas com bactérias Aa e Pg. A produção de NO e citocinas (TNF- α , IL-10) foram analisadas através dos métodos de ELISA (citocinas) e Griess (NO). Também foi avaliada a capacidade microbicida das células tratadas.

1- Quantificação de NO:

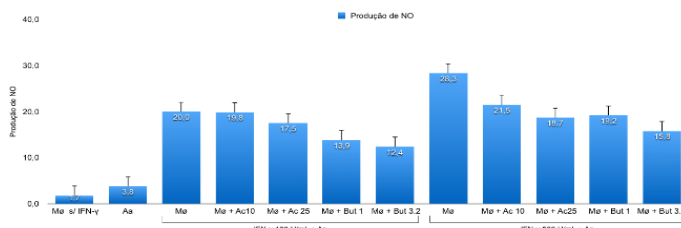


Figura 1. Produção de NO após tratamento com IFN- γ , acetato (Ac 10 e 25mM), butirato (Bt 1 e 3,2 mM) e bactéria (Aa). Normalizado considerando-se C (controle) igual a 100%.

O tratamento dos macrófagos com IFN- γ , aumentou de maneira dose dependente a produção de NO em relação às células não tratadas, ou tratadas apenas com bactérias, podendo-se notar também, a atividade inibidora da produção de NO pelo tratamento com butirato 3,2 Mm, em ambas concentrações de IFN- γ . Há uma atividade inibidora mais acentuada dos AGCCs, 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.

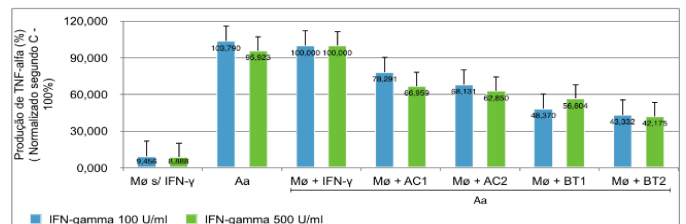


Figura 2. Produção de TNF- α (%) após tratamento com IFN- γ , acetato (AC1 - 10 e AC2 - 25mM), butirato (BT1 - 1mM e BT2 - 3,2 mM) e bactéria (Aa). Normalizado considerando-se C (controle) igual a 100%.

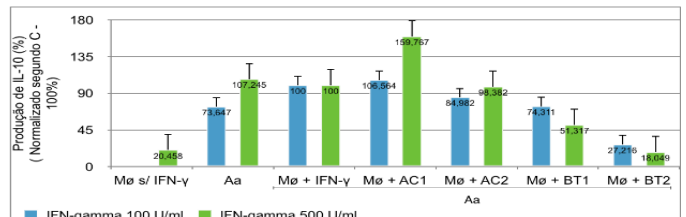


Figura 3. Produção de IL-10 (%) após tratamento com IFN- γ , acetato (AC1 - 10 e AC2 - 25mM), butirato (BT1 - 1mM e BT2 - 3,2 mM) e bactéria (Aa). Normalizado considerando-se C (controle) igual a 100%.

3- Atividade microbicida de macrófagos:

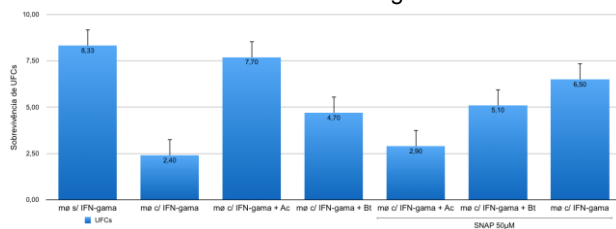


Figura 4. Sobrevivência de bactérias (UFCs) após tratamento com IFN- γ , acetato (Ac - 10mM), butirato (Bt - 1mM), SNAP (50 μ M) e bactéria (Aa).

Os macrófagos tratados com AGCCs apresentam atividade microbicida diminuída em relação aos tratados apenas com IFN- γ , sendo que a menor capacidade microbicida foi obtida no tratamento das células com acetato 10 mM, sem adição de NO pelo doador SNAP. O tratamento com SNAP aumentou a atividade microbicida dos macrófagos quando tratados juntamente com acetato 10 mM e IFN- γ , no entanto, diminuiu-a quando tratados apenas com IFN- γ (Fig 4). Nos ensaios (NO, Killing e ELISA) realizados com Pg não foram observadas diferenças significativas, provavelmente devido à ativação da via do receptor TLR2.

Conclusões

Macrófagos têm suas funções efetoras moduladas por AGCCs. Avaliaremos futuramente a importância desses efeitos para a resposta imune.