



Efeito imunomodulador da Vitamina D3 sobre o receptor AhR durante a geração de células dendríticas tolerogênicas.

Natália Brunetti Silva*, Fernando Pradella, Alessandro dos Santos Farias.

Resumo

A Esclerose Múltipla é uma doença autoimune crônica e desmielinizante, que envolve fatores genéticos e ambientais. Acredita-se que dentre esses fatores está a deficiência de Vitamina D3. Anteriormente, nós demonstramos que as células dendríticas (DCs) são o principal alvo de regulação da vitamina, induzindo um perfil tolerogênico das DCs dependente da expressão deIDO. Essas DCs IDO+ induzem o aumento e a estimulação de linfócitos T CD4+FOXP3+ com ação reguladora, diminuído a resposta inflamatória no modelo experimental (EAE). AIDO gera quinureninas, que serão reconhecidas pelo receptor aril hidrocarboneto (Ahr) gerando uma resposta imunossupressora. Assim, nosso objetivo foi verificar a participação dos produtos daIDO expressa por células dendríticas tolerogênicas, geradas na presença da vitamina D3, na indução de células T regulatórias e estabelecer o protocolo de geração de células dendríticas a partir do sangue humano para estudos futuros.

Palavras-chave:

Vitamina D3, Receptor Aril Hidrocarboneto, Autoimunidade.

Introdução

A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença autoimune crônica e desmielinizante que acomete o Sistema Nervoso Central (SNC)¹. A encefalomielite autoimune experimental (EAE) é o mais bem definido modelo experimental da EM. Dentre os fatores ambientais relacionados com a doença está a baixa produção e/ou ingestão de Vitamina D₃.² Sua produção pode se dar pela exposição solar da pele ou através da transformação direta pelas células dendríticas. Recentemente, nós demonstramos que as células dendríticas (DCs) são o principal alvo de regulação da vitamina D₃, a qual induz um perfil tolerogênico nas DCs dependente da expressão daIDO. Essas DCs IDO+ induzem o aumento e a estimulação de linfócitos T CD4+Foxp3+ com ação reguladora, in vivo. Esse recrutamento de Treg diminui a resposta inflamatória da EAE.³ A enzimaIDO é capaz de degradar o aminoácido triptofano e gerar quinureninas, um ligante natural do receptor aril hidrocarboneto (AhR).⁴ Este receptor é um fator de transcrição que pode atuar na supressão da resposta imune tumoral, na diferenciação de células T reguladoras Foxp3+ e na diminuição da imunogenicidade das células dendríticas.⁵

Desta forma, é possível que os produtos do metabolismo daIDO possam agir diretamente sobre as células T atuando na conversão e/ou manutenção das Treg e/ou na manutenção do perfil tolerogênico das DCs de forma autócrina. Neste estudo, nossos objetivos foram analisar a participação dos produtos daIDO das células dendríticas, tolerogênicas, cultivadas na presença da vitamina D₃, sobre a geração de Tregs e estabelecer o protocolo de geração de células dendríticas a partir do sangue humano para estudos futuros.

Resultados e Discussão

- Estabelecimento da cultura de células dendríticas a partir de precursores obtidos na medula óssea de tíbias e fêmures de camundongos C57BL/6J e tratamento das mesmas com Vitamina D3 (colecalfiferol).
- PCR quantitativo em tempo real para verificar a expressão gênica do receptor AhR e da enzimaIDO, bem como de STAT1, STAT3, IL-6 e IL-10. Todas as

amostras apresentaram expressões significativas para os genes analisados. No entanto, a utilização de LPS para maturação das células influenciou as expressões desses genes.

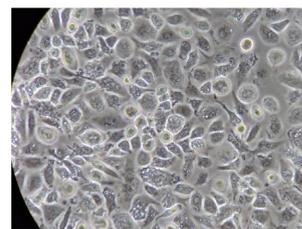


Figura 1. Diferenciação de precursores em DCs.

- Estabelecimento do protocolo de cultura de células dendríticas humanas a partir de monócitos isolados de sangue periférico.
- Caracterização fenotípica, por citometria de fluxo, das células dendríticas humanas geradas, uma vez que as estas apresentaram uma morfologia um pouco distinta quando comparadas às DCs de camundongos já cultivadas no laboratório.

Conclusões

Nossos resultados são preliminares, o que ainda não nos permite concluir o objetivo proposto no projeto. Como próximos passos pretendemos, verificar as expressões gênicas das DCs na ausência de LPS e aprimorar o protocolo de geração de DCs humanas.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pelo financiamento do projeto e aos meus colegas do Laboratório de Autoimunidade por todo o apoio.

1 Nylander, A.; Hafler, D. A. Multiple sclerosis. v.122, n.4, p.1180–1188, abr. 2012.

2 Hayes, C. E. Vitamin D: a natural inhibitor of multiple sclerosis. Proc Nutr Soc, v. 59, n. 4, p.531–535, nov. 2000.

3 Farias, A. S. et al. Vitamin D3 induces IDO+ tolerogenic DCs and enhances Treg, reducing the severity of EAE. CNS Neuroscience & Therapeutics, v. 19, n. 4, p. 269–277, abr. 2013.

4 Munn, D. H.; Mellor, A. L. Indoleamine 2,3 dioxygenase and metabolic control of immuneresponses. Trends in immunology, v. 34, n. 3, p. 137–143, mar. 2013.

5 Quintana, F. J.; Sherr, D. H. Aryl hydrocarbon receptor control of adaptive immunity. Pharmacological Reviews, v. 65, n. 4, p. 1148–1161, 2013.

6 Baida, H.; Importância das células dendríticas na resposta imune celular de pacientes com paracoccidiodomicose. Dissertação de Mestrado em Dermatologia - Universidade de São Paulo, 2007.