

Estudo do papel do receptor AhR na função imunomoduladora da Vitamina D3 na geração de células dendríticas tolerogênicas.

Natália Brunetti Silva*, Fernando Pradella, Carolina Francelin Rovarotto, 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). A IDO gera quinureninas, que serão reconhecidas pelo receptor aril hidrocarboneto (Ahr) gerando uma resposta imunossupressora. Assim, nosso objetivo foi verificar a participação dos produtos da IDO expressa por células dendríticas tolerogênicas, geradas na presença da vitamina D3, na indução de células T regulatórias.

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 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 pelas células dendríticas. Recentemente, nós demonstramos que as células dendríticas (DCs) são o principal alvo de regulação da vitamina D3, que induz um perfil tolerogênico nas DCs dependente da expressão da IDO. 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 enzima IDO é capaz de degradar o 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 da IDO 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. O nosso objetivo neste estudo é analisar a participação dos produtos da IDO das células dendríticas tolerogênicas, cultivadas na presença da vitamina D3, sobre a geração de Tregs.

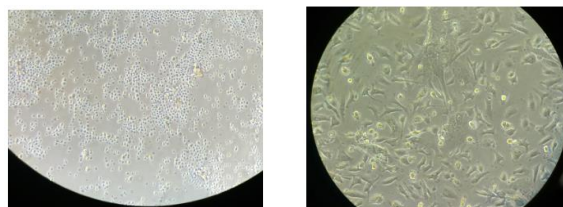
Resultados e Discussão

- 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.
- PCR quantitativo em tempo real para verificar a expressão gênica do receptor AhR e da enzima IDO. Apenas a expressão de GAPDH foi significativa para

diversas amostras. Demais genes não apresentaram expressões detectáveis.

-Transferência adotiva de DCs tolerogênicas geradas a partir de animais C57BL/6 WT para animais C57BL/6 WT, previamente à indução de EAE e acompanhamento da doença após 10 dias de imunização.

Figura 1. A-Precursores da medula óssea. **B-**Diferenciação de precursores em DCs.



Conclusões

Nossos resultados são preliminares, o que não nos permite concluir o objetivo proposto no projeto. Como próximos passos, pretendemos realizar a pré amplificação das amostras de cDNA obtidas através das culturas de células dendríticas e posteriormente realizar o PCR quantitativo das mesmas. Assim como, repetir os experimentos de transferência de células e indução da EAE.

Agradecimentos

Agradeço ao SAE/UNICAMP pelo financiamento do projeto.

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.