XXXII Encontro Anual de Iniciação Científica
IX Encontro Anual de Iniciação Científica Jr.
EAIC 2023

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES ESTÍMULOS DE DIFERENCIAÇÃO MACROFÁGICA

Fagundes, G.(PIBIC/ CNPq)., Glugoski,L.M., Camargo, G.A., Kordiak, C.E.,Favero, G.M (Orientador).

gmfavero@yahoo.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa

Departamento de Ciências Farmacêuticas.

Diferenciação celular – Citologia e Biologia Celular

Palavras-Chave: *Fosfotidilseria/7-cetocolesterol, diferenciação macrofágica, cultivo celular, biologia molecular.*

Resumo

Este estudo explorou o papel dos macrófagos na regulação do equilíbrio do corpo, podendo assumir formas pró-inflamatórias (M1) ou reguladoras imunológicas (M2) conforme as condições. Uma mistura de fosfatidilserina e 7-cetocolesterol foi desenvolvida para induzir uma resposta inflamatória nos macrófagos, preparada em laboratório com clorofórmio e metanol. As células macrofágicas foram cultivadas em placas e divididas em grupos que receberam essa mistura ou apenas meio de cultura. Foram conduzidos testes para avaliar a expressão de genes específicos (Inos, IL 10, Mcr1 e Arg1) relacionados à atividade dos macrófagos, com ACTb e Rp132 como genes de controle.

Introdução

Os macrófagos são essenciais para a modulação das condições fisiológicas homeostáticas do organismo. Devido sua alta capacidade de alteração nos marcadores de superfície celular, os macrófagos conseguem se diferenciar em M1[1], com característica pró-inflamatória, e em macrófagos M2, classificados como imunorreguladores. O presente estudo teve como objetivo utilizar a junção da fosfotidilserina, presente como sinal apoptótico juntamente com o 7-cetocolesterol, proporcionando uma emulsão capaz de gerar um ambiente orquestral macrofágico inflamatório. [2]

Materiais e Métodos

A emulsão de Fosfotidilseria/7-cetocolesterol foi realizada em laboratório com uso de solução 9:1 de clorofórmio e metanol.

Células macrofágicas J774 foram mantidas em condições de cultura. As células foram plaqueadas em 6 poços na quantidade $4x10^4$/mL e divididas em grupos com emulsão ou apenas SFB: A-100 µL; B - 300 µL ; C – 500 µL; D - 0 µL. Após tratamento, foi realizada extração de RNA seguindo o método presente no kit e quantificadas no aparelho GE Healthcare - NanoVue Plus. A síntese de cDNA, deu-se a partir da conversão enzimática de mRNA, por transcriptase reversa dependente do RNA extraído da célula e foi realizada seguindo instruções do fabricante (kit GoTaq® Probe 2-Step RT-qPCR System). Foi realizada RT-PCR, utilizando os primers Inos, IL 10, Mcr1 e Arg1, tendo como controle ACTb e Rp132

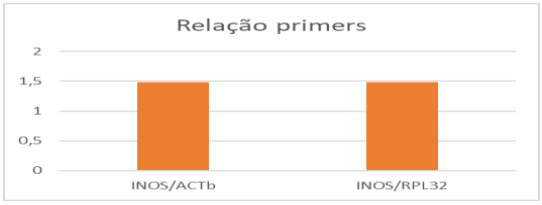
Resultados e Discussão

Os primers com eficiência de 101% foram adicionados na PCR em triplicata.

Os primers ACTb e RPL32 foram utilizados como controles internos como observados o primer INOS em realação a ambos apresentou a mesma proporção. INOS é um marcador de caratér inflamatório dos macrófagos, podendo levantar uma proporção superior quando for comparado com genes de perfil antiinflamatório.

Conforme a Figura 1, observou-se um predomínio da expressão de caráter anti-inflamatório.

Figura 1 – Relação de primers



Conclusão ou Conclusões

Os resultados presentes demonstraram um perfil inflamatório através da expressão de INOS em primers de ACTb e RPL32 corrigidos, entretanto uma comparação com primers de caráter anti-inflamatório é necessária, para afirmação de perfil M1.

Agradecimentos

Agradeço ao Orientador Giovani Marino Favero pelo auxílio durante a realização dos experimentos e ao CNPq pelo apoio financeiro.

[1] ORECCHIONI, M. *et al.* Macrophage polarization: different gene signatures in M1 (LPS+) vs. classically and M2 (LPS–) vs. alternatively activated macrophages. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 1084, 2019.

[2] SHAHANI, L.; SINGH, S.; KHARDORI, N. M. Immunotherapy in Clinical Medicine: Historical Perspective and Current Status. **Medical Clinics of North America**, v. 96, n. 3, p. 421–431, maio 2012