QUANTIFICAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE CITOCINAS EM CÉLULAS INFLAMATÓRIAS EM DIFERENTES AMBIENTES.

Carlos Eduardo Kordiak (PIBIC/CNPq), Gabriela Ruva Fagundes, Giovani Marino Favero (Orientador), e-mail: gmfavero@uepg.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG/Departamento de Farmácia.

Diferenciação Celular/Citologia e Biologia Celular

Palavras-Chave: *Citocinas, inflamação, transtornos, antidepressivos, células macrofágicas*

Resumo

Avaliou-se a modulação inflamatória *in-vitro* de células macrofágicas (relacionadas a produção de citocinas em processos inflamatórios), em resposta à sua exposição aos fármacos psicotrópicos antidepressivos: paroxetina e imipramina.

Introdução

Alterações psiconeuroendócrinoimunológicas patológicas em mecanismos de neurotransmissão, estão relacionadas com a presença de um processo inflamatório crônico no sistema nervoso do organismo com transtorno depressivo (VISMARI et al., 2008). Esse processo inflamatório é modulado pela sinalização de células macrofágicas (SCHIEPERS, 2005). Mecanismos de inibição do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), expressos pela ação de alguns fármacos antidepressivos, estão relacionados com a atenuação de efeitos pró-inflamatórios de citocinas liberadas por macrófagos (LEONARD, 2001).

Materiais e Métodos

As células foram cultivadas em meio RPMI, 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% (v/v) de penicilina 100 U/ml, e armazenadas em garrafas de cultura celular dentro uma estufa de cultivo (sendo realizadas manutenções das culturas, com trocas do meio de crescimento das células, a cada quatro dias) para que pudessem ser plaqueadas em 10 ml de meio RPMI e 10% de SFB em placas de cultura de 100 mm de diâmetro para a realização de vários ensaios em diferentes quantidades de cada droga (0,3uM; 0,6uM e 0,9uM); para a realização dos testes: síntese do cDNA a partir da conversão enzimática do mRNA seguindo as instruções do fabricante - kit GoTaq® Probe 2-Step RT-qPCR System e reação de RT-PCR que será realizada em volume correspondente ao da amostra contendo o cDNA, tampão de PCR (10x), MgCl2, dNTPs, primers ISSR, enzima taq polimerase e água ultrapura em concentrações conforme a necessidade.

Resultados e Discussão

Os resultados da relação entre os genes INOS e os genes de referência (ACTb e RPL32) mostraram que INOS apresenta a mesma proporção quando normalizado com ACTb e RPL32. A expressão de INOS é um marcador pró-inflamatório relacionado a um perfil de polarização de macrófagos em M1.

Conclusão ou Conclusões

A eficiência dos dos genes de referência ACTb e RPL32 corrigidos foi apropriada para análise da expressão gênica em macrófagos J774, e para a expressão de INOS. A confirmação do perfil inflamatório necessita comparação dos resultados obtidos com a expressão de primers de caráter anti-inflamatório, que não apresentaram eficiência apropriada nesse experimento.

Agradecimentos

CNPq, UEPG, CLABMU, laboratório multiusuário, Professor Dr. Giovani Marino Favero, mestranda Gabriela Ruva Fagundes.

LEONARD, B. E. **The immune system, depression and the action of antidepressants.** Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, v. 25, n. 4, p. 767-780, 2001.

SCHIEPERS, O. J.; WICHERS, M. C.; MAES, M. **Cytokines and major depression**. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, v. 29, n. 2, p. 201-217, 2005.

VISMARI, L.; ALVES, G. J.; PALERMO-NETO, J. **Depressão, antidepressivos e sistema imune: um novo olhar sobre um velho problema**. Revista de Psiquiatria Clínica, v. 35, p. 196-204, 2008.