

Implicação dos receptores de peptídeos formilados na modulação *in vitro* da resposta inflamatória de mucosa na doença de *Crohn* mediada por bactérias lácticas.

Izabella C. C. Ferreira¹, Cláudia M. Rodrigues², Juliana F. Almeida³, Yara C. P. Maia⁴, Luiz R. Goulart⁵.

1. Estudante de Mestrado do Instituto de Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia-UFU; *izabellacostaferreira@gmail.com

2. Estudante de Doutorado do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia-UFU

3. Professora do Departamento de Biologia Celular e Molecular-Universidade Federal da Paraíba-UFPB

4. Professora da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia-UFU

5. Professor do Instituto de Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia-UFU

Palavras Chave: *Epitélio Intestinal*, *L. delbrueckii*, *Ativação de Receptores*

Introdução

Doença de *Crohn* e Colite Ulcerativa compreendem os dois subtipos principais de doença inflamatória intestinal (DII), sendo desordens inflamatórias do trato gastrointestinal (TGI), crônicas e recorrentes. Recentemente, tem sido demonstrado que os probióticos, principalmente bactérias dos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Bifidobacterium*, possuem propriedades terapêuticas nas DIIs, podendo inibir bactérias patogênicas ou modular a imunidade da mucosa intestinal. Células epiteliais intestinais (CEIs) são mediadores cruciais da homeostase intestinal e expressam receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), tais como receptores de peptídeos formilados (FPRs) e receptores semelhantes a Toll (TLRs), que permitem essas células agirem como sensores dinâmicos do ambiente microbiano, e ativarem respostas imunes celulares de mucosa. Os receptores de peptídeos formilados (FPRs) são encontrados em várias células do sistema imune humano e têm uma variedade de ligantes que são capazes de ativá-los. Considerando a possível função anti-inflamatória dos probióticos, o estudo em questão almejou verificar o papel da bactéria *Lactobacillus delbrueckii* na modulação da resposta inflamatória de CEIs via FPRs e descrever um possível "cross-talk" entre FPRs e TLRs.

Resultados e Discussão

Células Caco-2 diferenciadas *overnight* e durante 14 dias foram submetidas a determinados estímulos, *L. delbrueckii* como agente comensal e LTA (ácido lipoteicóico) como estímulo inflamatório. Notou-se que quanto mais as células Caco-2 se encontravam diferenciadas, menor foi o reconhecimento das células em relação ao agente comensal (efeito anti-inflamatório não era como esperado) e menor foi o processo inflamatório induzido pelo LTA. Com base nos resultados contraditórios obtidos, foi possível inferir que o processo de diferenciação das células Caco-2 poderia estar interferindo na sua resposta aos estímulos utilizados. Portanto, adquiriu-se uma nova linhagem de CEIs derivada de adenocarcinoma coloretal, denominada Skco-15. No primeiro experimento com as CEIs Skco-15, estímulos com fMLP e LPS induziram aumento de IL-8 e, na presença da bactéria *Lactobacillus delbrueckii* houve redução de IL-8, sendo significativa apenas para o estímulo com LPS, provavelmente por haver competição pelo FPR entre fMLP e bactéria. Para células estimuladas com LPS, o bloqueio do FPR e sequente estímulo com bactéria levou ao aumento da produção de IL-8, que reflete a redução da ação anti-

inflamatória da bactéria devido ao bloqueio de uma via de atuação da mesma. Em um segundo experimento, as CEIs Skco-15 foram estimuladas com agonistas de FPR e TLR. Os agonistas de FPRs alteraram os níveis de transcritos de TLRs, assim como os próprios ligantes de TLR, demonstrando que a sinalização por FPR realiza "cross talk" com as vias dos TLRs, sensibilizando ou dessensibilizando-os de acordo com o ligante de FPR.

Conclusões

Essa investigação demonstrou a ação anti-inflamatória da bactéria comensal nas CEIs com menor grau de diferenciação e também demonstrou um complexo mecanismo de patogênese envolvendo múltiplos receptores que possuem modulação cruzada durante processos inflamatórios intestinais, sugerindo a sinalização via FPR como alvo para controlar a inflamação. Faz-se necessário continuar a investigação com objetivo de melhor compreender o possível envolvimento dos FPRs na modulação da resposta inflamatória intestinal mediada por bactérias lácticas. Contudo, devido a cultura celular em monocamada apresentar perda de receptores após diferenciação celular, propomos dar continuidade ao estudo com a utilização da cultura 3D para melhor mimetizar o que acontece *in vivo*, aplicando agonistas e antagonistas dos receptores juntamente com o *L. delbrueckii* para melhor compreender esses mecanismos de ativação.

Agradecimentos

Agradeço aos órgãos de fomento, CAPES, FAPEMIG e CNPq.