

CONIC-SEMESP

13º Congresso Nacional de Iniciação Científica

Anais do Conic-Semesp. Volume 1, 2013 - Faculdade Anhanguera de Campinas - Unidade 3. ISSN 2357-8904

TÍTULO: EFEITO INIBITÓRIO DA CROTOXINA SOBRE A EXPRESSÃO DE CR3 EM NEUTRÓFILOS PERITONEAIS INDUZIDOS POR CARRAGENINA EM CAMUNDONGOS

CATEGORIA: EM ANDAMENTO

ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

SUBÁREA: BIOMEDICINA

INSTITUIÇÃO: FACULDADE MARIO SCHENBERG

AUTOR(ES): CAMILA LIMA NEVES

ORIENTADOR(ES): MARIA CRISTINA CIRILLO

COLABORADOR(ES): RENATA BEGLIOMINI BRUNO DE OLIVEIRA, SANDRA COCCUZZO SAMPAIO VESSONI, TATIANE SOARES DE LIMA

Realização:



Apoio:



EFEITO INIBITÓRIO DA CROTOXINA SOBRE A EXPRESSÃO DE CR3 EM NEUTRÓFILOS PERITONEAIS INDUZIDOS POR CARRAGENINA EM CAMUNDONGOS

1. RESUMO

O presente estudo investigou o efeito da crotoxina (CTX), principal componente do veneno de *Crotalus durissus terrificus* (VCdt), sobre a expressão de CR3 em neutrófilos peritoneais induzidos por carragenina (Cg). Para tanto foi avaliado o efeito do pré-tratamento dos animais com CTX, 1 hora antes da indução do modelo de peritonite. Quatro horas após a administração da carragenina, as células do exsudato peritoneal foram coletadas e incubadas com os anticorpos anti-CD11b e anti-CD18. Os resultados obtidos em citometria de fluxo demonstraram que a CTX tem efeito inibitório *in vivo*, uma vez que o pré-tratamento dos animais com CTX, 1 hora antes da administração de carragenina inibiu a expressão das subunidades de CR3 em neutrófilos da cavidade peritoneal de camundongos. Esses resultados contribuem para a melhor compreensão do efeito inibitório da CTX sobre a resposta inflamatória, particularmente sobre os neutrófilos.

2. INTRODUÇÃO

O veneno de *Crotalus durissus terrificus* e seu principal componente, a crotoxina, apresentam efeito anti-inflamatório de longa duração. Estudos realizados por nosso grupo demonstraram que o VCdt apresenta efeito anti-inflamatório prolongado sobre a resposta inflamatória induzida pela carragenina, em camundongos. Este estudo mostrou que uma única dose de VCdt, administrada 7 ou 21 dias antes da injeção de Cg inibe, respectivamente, o edema de pata e a migração de células para a cavidade peritoneal. Além disso, foi demonstrado que a CTX é o componente responsável pelo efeito anti-inflamatório do VCdt e que este efeito envolve a ativação de receptores formil peptídeo (Nunes *et al.*, 2007, 2010).

Ainda, estudos anteriores evidenciaram que o VCdt e a CTX, *in vitro* e *in vivo*, inibem a fagocitose mediada por CR3 por neutrófilos peritoneais, obtidos no modelo de peritonite induzido por Cg, em ratos. Esse efeito inibitório *in vivo* é prolongado, uma vez que o mesmo permanece por 14 dias após a administração de uma única dose de VCdt ou CTX (Lima *et al.*, 2012).

Apesar da evidência do efeito inibitório da CTX sobre a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal, bem como sobre a atividade fagocítica dessas células, o efeito da CTX sobre a expressão de receptores envolvidos em ambas as funções, ainda não foi investigado. Dessa forma, torna-se relevante avaliar o efeito da CTX sobre a expressão do receptor CR3 em neutrófilos peritoneais.

3. OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo é investigar o efeito da CTX sobre a expressão de CR3 (receptor do complemento 3, Mac-1 ou CD11b/CD18) em neutrófilos peritoneais de camundongos. Para tanto, será avaliado o efeito *in vivo* do pré-tratamento dos animais com CTX, 1 hora ou 7 dias antes da indução do modelo de peritonite.

4. METODOLOGIA

Camundongos *Swiss* (18-22g) foram pré-tratados com CTX (44 mg/kg em 60 μ L de solução salina estéril, via subcutânea) ou salina 1 hora antes da administração intraperitoneal de Cg (15 mg/kg em 200 μ L de salina estéril). Quatro horas após a injeção de Cg foi realizada a coleta do exsudato peritoneal por meio da lavagem da cavidade peritoneal com 5 mL de tampão fosfato salina, pH 7,4 (PBS). Em seguida os neutrófilos peritoneais (2×10^6 /mL) foram incubados com os anticorpos anti-CD11b (10 μ g/mL) e anti-CD18 (10 μ g/mL) por 30 minutos, a 4°C. A seguir os neutrófilos foram analisados em citometria de fluxo (BD FACSCanto II, BD Biosciences) para a avaliação da expressão das subunidades do receptor CR3. O software utilizado para aquisição foi o BD FACSDiva (BD, Biosciences). Os resultados foram expressos como a média das intensidades de fluorescência \pm erro padrão da média.

5. DESENVOLVIMENTO

Inicialmente foram realizados experimentos pilotos para a padronização do número de células (2×10^6 /mL) e da concentração dos anticorpos (10 μ g/mL) a serem utilizados. Após a padronização inicial, não foram encontradas dificuldades durante a obtenção dos resultados preliminares desse estudo.

6. RESULTADOS PRELIMINARES

Os resultados obtidos até o momento mostraram que o pré-tratamento dos animais com CTX, 1 hora antes da administração de carragenina, inibe a expressão de CD11b em 22% (controle: $6310,2 \pm 279,4$; CTX: $4979,2 \pm 211,60$) e de CD18 em 14% (controle: $43010,2 \pm 2447,6$; CTX: $37290,8 \pm 881,21$) em neutrófilos peritoneais obtidos no modelo de peritonite (Fig. 1). Sendo assim, esses resultados contribuem para a compreensão do efeito inibitório da CTX sobre a resposta inflamatória, particularmente sobre os neutrófilos.

Cabe salientar que a próxima etapa desse estudo consistirá em investigar o possível efeito prolongado da CTX sobre a expressão de CR3 em neutrófilos peritoneais. Para tanto será avaliado o efeito do pré-tratamento com CTX, 7 dias antes da indução do modelo de peritonite nos animais.

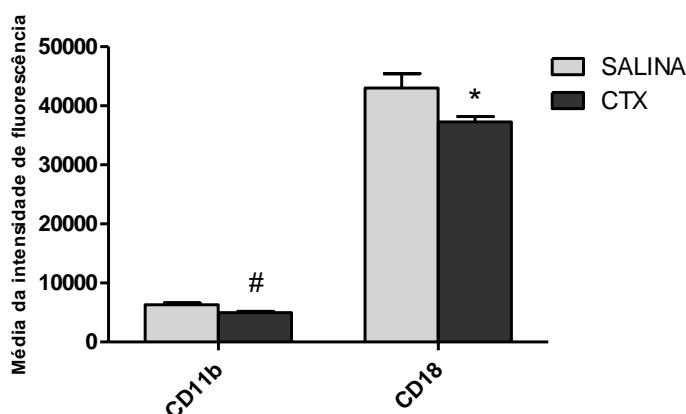


Figura 1. Efeito inibitório da CTX sobre a expressão de CD11b e CD18 em neutrófilos peritoneais de camundongos. Os resultados correspondem a média \pm SEM de 5 animais. * $P < 0,05$; # $P < 0,01$ quando comparado ao respectivo grupo controle (salina).

7. FONTES CONSULTADAS

LIMA, T.S.; CATANEO, S.C.; IRITUS, A.C.C; SAMPAIO, S.C.; DELLA-CASA, M.S.; CIRILLO, M.C. Crotoxin, a rattlesnake toxin, induces a long-lasting inhibitory effect on phagocytosis by neutrophils. *Exp. Biol. Med.*, v.237, n.10, p.1219-1230, 2012.

NUNES, F.P.B.; SAMPAIO, S.C.; SONTORO, M.L.; SOUSA-E-SILVA, M.C.C. Long-lasting anti-inflammatory properties of *Crotalus durissus terrificus* snake venom in mice. *Toxicon*. v.49, n.8, p.1090-1098, 2007.

NUNES, F.P.; ZYCHAR, B.C.; DELLA-CASA, M.S.; SAMPAIO, S.C.; GONÇALVES, L.R.; CIRILLO, M.C. Crotoxin is responsible for the long-lasting anti-inflammatory effect of *Crotalus durissus terrificus* snake venom: involvement of formyl peptide receptors. *Toxicon*, v.55, n.6, p.1100-1106, 2010.