

## MODULAÇÃO DE VIAS INFLAMATÓRIAS POR LECTINA *Bauhinia variegata* EM PBMC BOVINO

**CHRYSTIAN NUNES GONÇALVES<sup>1</sup>; CAMILA GARCIA DE SOUZA<sup>2</sup>; DANILLO DE OLIVEIRA DELLAVENTA<sup>2</sup>; GUILHERME FEIJÓ DE SOUSA<sup>2</sup>; ISABELA ORTIZ DE TUNES RAMOS<sup>2</sup>; LUCIANO DA SILVA PINTO<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [chrystianng@gmail.com](mailto:chrystianng@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [kaka.garcia.2010@outlook.com](mailto:kaka.garcia.2010@outlook.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [danillo.senta@gmail.com](mailto:danillo.senta@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [guima.sousa07@gmail.com](mailto:guima.sousa07@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [isabela@gmail.com](mailto:isabela@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [luciano.pinto@ufpel.edu.br](mailto:luciano.pinto@ufpel.edu.br)

### 1. INTRODUÇÃO

As lectinas são proteínas encontradas em uma variedade de plantas e animais que possuem a capacidade de se ligar a carboidratos de maneira específica. Estudos com foco nas aplicações de lectinas vegetais identificaram atividades biológicas que podem conferir diversas propriedades farmacológicas, como antifúngicas, antibacterianas e antivirais. Além disso, essas proteínas mostraram atividades moduladoras da inflamação, sendo algumas pró e outras anti-inflamatórias (CAGLIARI, KREMER, PINTO, 2018 ).

Embora o foco na relação entre lectinas e inflamação tenha se concentrado principalmente nos efeitos pró-inflamatórios de algumas lectinas, é importante notar que diferentes tipos de lectinas podem ter efeitos opostos. Certas lectinas presentes em plantas medicinais têm demonstrado efeitos promissores na redução da inflamação e na modulação do sistema imunológico. Essas descobertas podem abrir novas perspectivas sobre o uso terapêutico de lectinas na medicina (MEIERS et al., 2019).

As lectinas com propriedades anti-inflamatórias atuam de várias maneiras, modulando a resposta imunológica ou interferindo em vias bioquímicas responsáveis pela produção de mediadores inflamatórios. Elas podem atuar através de várias vias no organismo, incluindo a modulação da atividade imunológica, pela interação direta com as células do sistema imunológico para regular a produção de citocinas. Essas proteínas podem inibir a liberação de moléculas pró-inflamatórias ao mesmo tempo que estimulam a produção de interleucinas anti-inflamatórias, como a IL-10. Também podem inibir vias inflamatórias como a estimulada por IL-17. Ao inibir essas vias, as lectinas reduzem a produção de mediadores inflamatórios e ajudam a controlar a inflamação sistêmica (MEIERS et al., 2019).

A interleucina-10 (IL-10) é uma citocina que tem papel fundamental na modulação da inflamação e na manutenção da homeostase celular. Ela atua principalmente como uma citocina anti-inflamatória, protegendo o corpo de uma resposta imune descontrolada (CARLINI et al., 2023). A interleucina (IL)-17A é uma citocina pró-inflamatória e os primeiros estudos indicaram que a IL-17 derivada de células T poderia ativar uma variedade de células, incluindo sinoviócitos de artrite reumatoide, fibroblastos e queratinócitos, para liberar citocinas e quimiocinas e promover a inflamação levando as células do sistema imune a transcreverem outras citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, amplificando o processo inflamatório e, em certos casos, exacerbando a resposta autoimune (FLETCHER et al., 2020).

Outras citocinas como IL-12 também podem estar envolvidas no processo inflamatório e na defesa imunológica. A IL-12 é uma das principais citocinas envolvidas na indução da diferenciação de linfócitos T CD4+ em células Th1, que são essenciais para a defesa contra patógenos intracelulares. As células Th1 produzem interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), uma citocina chave para a ativação de macrófagos e a promoção de respostas imunes celulares que são eficazes contra infecções bacterianas e virais (ULLRICH et al., 2020).

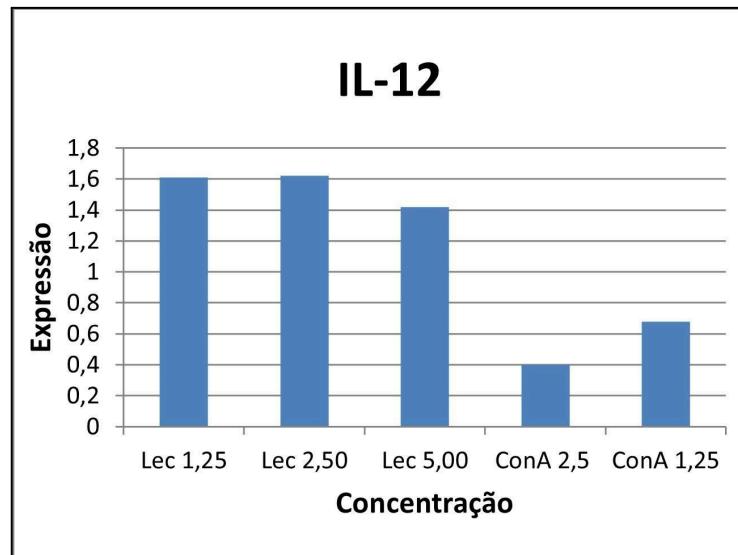
Neste ensaio procuramos entender, em parte, a ação da lectina de *Bauhinia variegata*, uma lectina galactose específica expressa de forma heteróloga por nosso grupo, sobre o sangue periférico de Bovinos no que tange às vias de sinalização inflamatória envolvidas na resposta celular ativada por esta proteína e possíveis aplicações.

## 2. METODOLOGIA

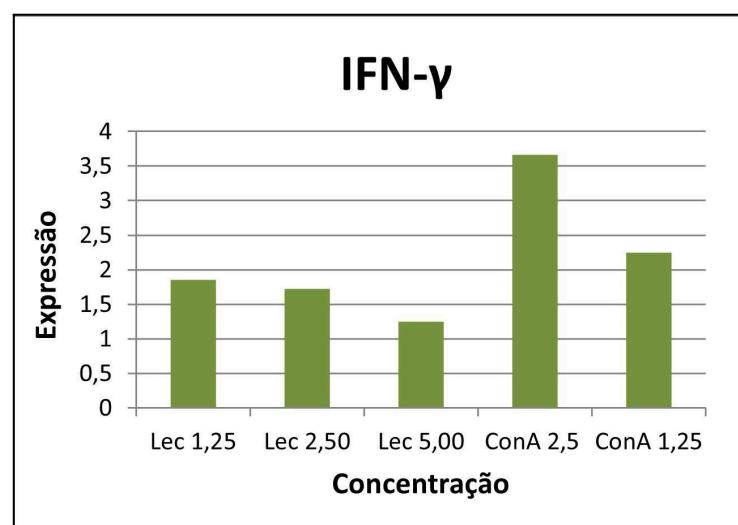
PBMCs foram isolados das amostras de sangue total por centrifugação de gradiente de densidade em Ficoll. Os PBMCs foram então lavados duas vezes com PBS e suspensos em uma concentração de  $1 \times 10^5$  células/ml em meio RPMI. As células separadas foram usadas para ensaios de proliferação e extração de RNA. Os PBMCs foram semeados em placa de 6 poços ( $1 \times 10^4$  células/poço) em meio RPMI-1640 suplementado com 5% de soro bovino fetal e solução antibiótica-antimicótica, com a lectina nas concentrações de 1,5, 2,5 e 5,0  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  e o mitógeno Concanavalina A (ConA, 1,5 e 2,5  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) e cultivados por 24h sob uma atmosfera umidificada de 5%  $\text{CO}_2$  a 38,5°C. Para a extração do RNA total, amostras de RNA foram isoladas usando com 1 mL do Reagente TRIzol® (Invitrogen™, Carlsbad, USA) e tratadas com DNase usando o kit DNA-free® kit (Ambion™, USA), conforme instruções do fabricante. A síntese do cDNA foi feita com 2  $\mu\text{g}$  de RNA total usando o kit High Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Applied Biosystems™, UK), conforme descrição do fabricante. As reações de Real-Time PCR foram corridas em um sistema Stratagene® Mx3005P™ Real-Time PCR System (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) usando SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems™, UK) usando iniciadores desenvolvidos para vias de sinalização celular, sobretudo envolvidos na inflamação (IL-10, IL-12, IL-17 e INF- $\gamma$ ).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

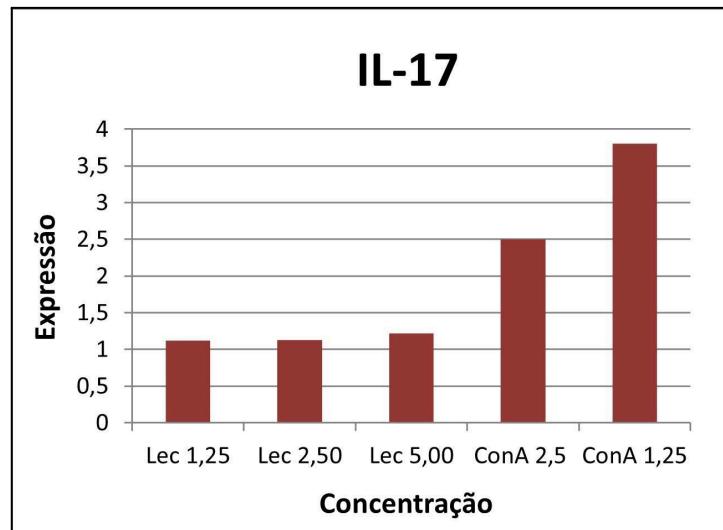
Neste estudo foi realizada uma abordagem preliminar para verificar a ação da lectina de *Bauhinia variegata* (BvL) sobre as vias de inflamação em sangue periférico de bovinos. Esta lectina tem sido utilizada por nosso grupo em diferentes aplicações biológicas, incluindo inibição de bactérias orais, na cicatrização e como antitumoral. Os resultados demonstram que a lectina estimula a indução de IL-12 (Fig.1), não apresenta uma expressão acentuada de INF- $\gamma$  (Fig. 2) e reprime a expressão de IL-17(Fig.3). Nós verificamos a expressão de IL-10, mas, apesar da expressão ter se mostrado aumentada, não foi possível confirmar o resultado, pois o controle da reação (GAPDH) também estava alterado. Os resultados são diferentes aos apresentados pelo uso da lectina ConA, uma proteína comumente utilizada nos estudos de inflamação.



**Figura 1.** Avaliação da expressão relativa de IL-12 em relação ao gene de referência GAPDH em células de sangue periférico bovino tratadas com diferentes concentrações de lectina de *Bauhinia variegata* (BvL) e lectina de *Canavalia ensiformis* (ConA)



**Figura 2.** Avaliação da expressão relativa de IFN- $\gamma$  em relação ao gene de referência GAPDH em células de sangue periférico bovino tratadas com diferentes concentrações de lectina de *Bauhinia variegata* (BvL) e lectina de *Canavalia ensiformis* (ConA)



**Figura 3.** Avaliação da expressão relativa de IL-17 em relação ao gene de referência GAPDH em células de sangue periférico bovino tratadas com diferentes concentrações de lectina de *Bauhinia variegata* (BvL) e lectina de *Canavalia ensiformis* (ConA)

#### 4. CONCLUSÕES

A lectina BvL apresenta atividade sobre rotas de sinalização celular envolvidas na inflamação, sobretudo reprimindo uma das principais vias de sinalização mediadas por IL-17, mas não a via mediada por IL-12. Portanto, novos estudos com outros mediadores precisam ser investigados para garantir a segurança do uso desta proteína na terapêutica humana, principalmente.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAGLIARI, Rafael; KREMER, Frederico Schmitt; DA SILVA PINTO, Luciano. *Bauhinia* lectins: Biochemical properties and biotechnological applications. **International journal of biological macromolecules**, v. 119, p. 811-820, 2018.

CARLINI, Valentina et al. The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions. **Frontiers in immunology**, v. 14, p. 1161067, 2023.

FLETCHER, J. M. et al. IL-17 in inflammatory skin diseases psoriasis and hidradenitis suppurativa. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 201, n. 2, p. 121-134, 2020.

JORGOVANOVIC, Dragica et al. Roles of IFN- $\gamma$  in tumor progression and regression: a review. **Biomarker research**, v. 8, p. 1-16, 2020.

MEIERS, Joscha et al. Lectin antagonists in infection, immunity, and inflammation. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 53, p. 51-67, 2019.

ULLRICH, Karen A.-M. et al. Immunology of IL-12: An update on functional activities and implications for disease. **EXCLI journal**, v. 19, p. 1563, 2020.