

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

CHRYSTIAN NUNES GONÇALVES¹; CAMILA GARCIA DE SOUZA²; DANILLO DE OLIVEIRA DELLASENTA²; GUILHERME FEIJÓ DE SOUSA²; ISABELA ORTIZ DE TUNES RAMOS²; LUCIANO DA SILVA PINTO³

¹Universidade Federal de Pelotas – chrystianng@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – kaka.garcia.2010@outlook.com

²Universidade Federal de Pelotas – danillo.senta@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – guima.sousa07@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – isabela@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – 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- γ), 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 1×10^5 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 (1×10^4 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% CO₂ 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 μg 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- γ).

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- γ (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.

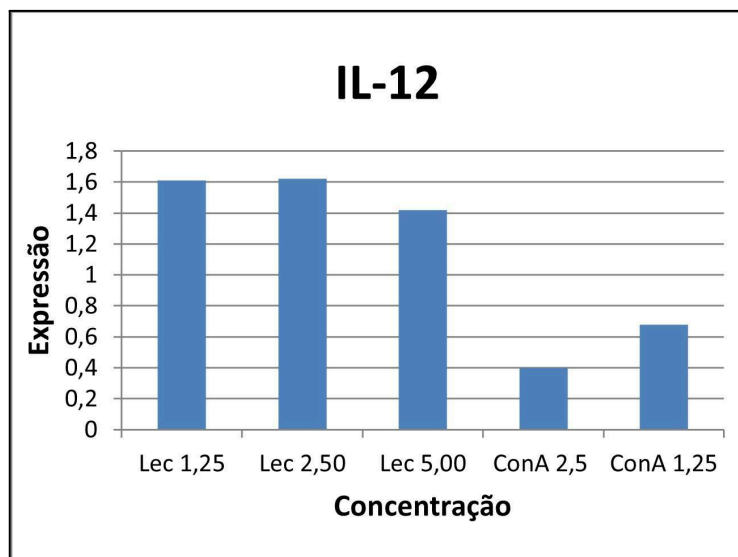


Figura 1. Avaliação da expressão relativa de IL-12 em relação ao gene de referência GAPDH em células de sangue periférico bovino tratadas com diferentes concentrações de lectina de *Bauhinia variegata* (BvL) e lectina de *Canavalia ensiformis* (ConA)

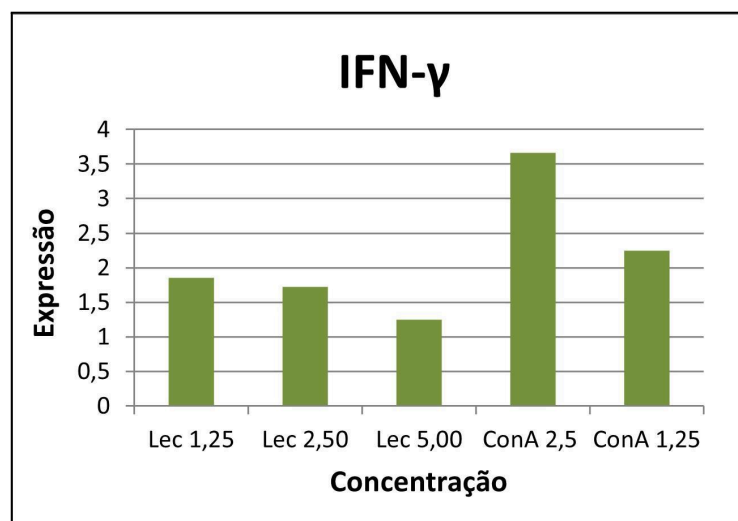


Figura 2. Avaliação da expressão relativa de IFN- γ em relação ao gene de referência GAPDH em células de sangue periférico bovino tratadas com diferentes concentrações de lectina de *Bauhinia variegata* (BvL) e lectina de *Canavalia ensiformis* (ConA)

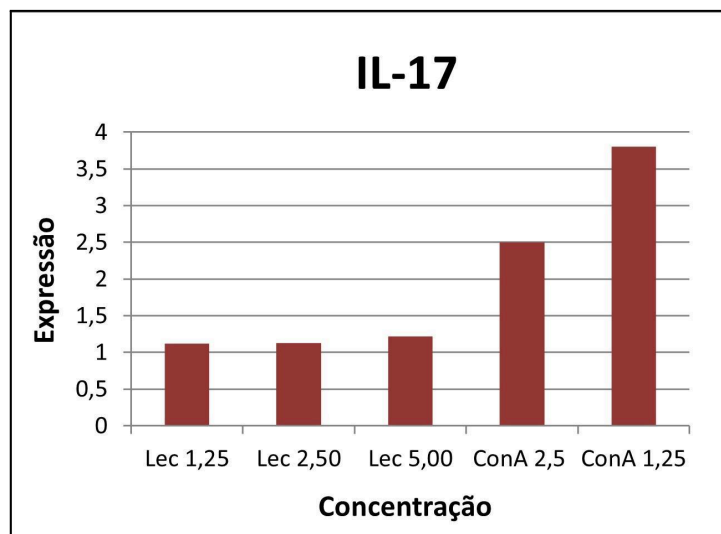


Figura 3. Avaliação da expressão relativa de IL-17 em relação ao gene de referência GAPDH em células de sangue periférico bovino tratadas com diferentes concentrações de lectina de *Bauhinia variegata* (BvL) e lectina de *Canavalia ensiformis* (ConA)

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- γ 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.