



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Ação da proteína HSP70 extracelular sobre o receptor para produtos finais de glicação avançada (RAGE) em modelo celular
Autor	GUILHERME DANIELSKI VIOLA
Orientador	DANIEL PENS GELAIN

Ação da proteína HSP70 extracelular sobre o receptor para produtos finais de glicação avançada (RAGE) em modelo celular

Autor: Guilherme Danielski Viola

Orientador: Daniel Pens Gelain

Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS

Introdução: O receptor para produtos finais de glicação avançada (RAGE) é uma proteína transmembrana multi-ligante da superfamília das imunoglobulinas. Um dos efeitos principais da ativação de RAGE é a ativação redox-dependente de NF- κ B, a qual leva à produção de TNF- α , sendo este um processo de retroalimentação positiva e tal mecanismo vem sendo sugerido como o eixo principal da intensificação/perpetuação de estados pró-inflamatórios. Entre os diversos moduladores da resposta inflamatória mediada por RAGE, as HSP70, proteínas de choque térmico, aparecem como potenciais reguladores em múltiplos níveis. Estudos recentes do nosso grupo de revelaram que os níveis séricos de HSP70 em pacientes sépticos são modulados de acordo com o estado redox do soro; estudos complementares baseados em modulação computacional indicam uma possível interação entre a proteína extracelular HSP70 e o receptor. **Objetivo:** elucidar a relação entre a presença da HSP70 em processos inflamatórios, avaliando a modulação do mecanismo via RAGE. **Materiais e Métodos:** Macrófagos da linhagem RAW 264.7 obtidas do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ) foram cultivadas em meio de cultura DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino, 2 mM de glutamina, 0.28 μ g/ μ L de gentamicina e 250 μ g de Anfotericina B em incubadora com 5% de CO₂ e a 37°C. As células foram tratadas com moléculas já conhecidas como agonistas de RAGE: HMGB1 (1 μ g/mL), S100B (20 μ g/mL), LPS (1 μ g/mL) e AGE(Albumina Glicada)(1mg/mL). A proteína HSP70 bovina purificada foi adicionada às células (1 μ g/mL) e seu efeito foi observado em diferentes tempos. O imunoconteúdo de MAPK e de RAGE foi detectado por Western Blot. A expressão de RAGE foi diminuída utilizando RNA interferente. As células foram tratadas por 20 minutos com os agonistas de RAGE e com HSP70. Significâncias foram consideradas com valor P<0,05. **Resultados:** Foi possível visualizar aumento do imunoconteúdo das MAPK fosforiladas ERK e p38 nos tratamentos com S100B e LPS. O mesmo padrão não foi visualizado na presença das outras proteínas, inclusive no grupo tratado com HSP70. Posteriormente, HSP70 foi adicionada às células em diferentes tempos de tratamento; após 60 minutos foi detectada uma ativação significativa de ERK, e nenhuma alteração na ativação de p38. A expressão de RAGE foi validada em nossa linhagem; o imunoconteúdo do receptor encontra-se em níveis basais na célula, porém na presença de LPS, por um período de 24h, verificou-se um aumento significativo no imunoconteúdo do receptor e ativação dos macrófagos de acordo com a morfologia observada. Os resultados envolvendo o silenciamento de RAGE mostraram uma leve diminuição do imunoconteúdo, entretanto, a diferença não foi estatisticamente significativa. **Conclusões:** Com a finalidade de estudar melhor o papel extracelular da proteína HSP70, sua interação com o receptor para produtos finais de glicação avançada e ação intracelular via RAGE-dependente, mais estudos devem ser realizados. Os agonistas de RAGE, uma vez ligados nesse receptor, ativam vias de sinalização como a das MAPK, e a proteína HSP70 também foi capaz de causar mudanças na resposta das células. A expressão de RAGE nos macrófagos RAW 264.7 encontra-se em níveis basais, sendo aumentada presença de estímulos por agonista. O silenciamento não foi tão eficaz como desejado, sendo necessária a realização de novos experimentos para uma melhor compreensão entre a importância da relação entre a proteína HSP70 e o receptor RAGE durante processos inflamatórios.

Financiamento : CNPQ,FAPERGS e PROPESQ-UFRGS