



Uso de Ferramentas de Bioinformática para a Caracterização de Fenótipos de Macrófagos

Matheus Becker Freitas, Marco A. De Bastiani, Mariana M. Parisi, Fátima T. C. R. Guma, Melissa M. Markoski, Mauro A. A. Castro, Mark H. Kaplan, Florência M. Barbé-Tuana, Fábio Klamt,

INTRODUÇÃO

Os macrófagos são células do sistema imune inato que desempenham inúmeras funções celulares dentre elas estão o ataque à microrganismos e à tumores e reparação tecidual. No entanto, devido a suas múltiplas funções, os macrófagos apresentam um enorme espectro de plasticidade e, dessa forma, constitui-se muito difícil caracterizar seus fenótipos. Por possuírem uma papel chave em diversos contextos patológicos, caracterizar de forma mais precisa seus fenótipos se faz de extrema importância para a compreensão do mecanismos envolvidos nas mais diversas doenças.

MATERIAIS E MÉTODOS

- Perfis de expressão de microarranjos foram extraídos do repositório público Gene Expression Omnibus (GEO) do NCBI.
- A ferramenta GEO2R (www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/geo2r) foi usada para identificar os genes diferencialmente expressos com o intuito de obter as assinaturas gênicas do fenótipo de ativação clássica M(IFN γ + LPS, TNF α) e do fenótipo de ativação alternativa M(IL-4, IL-13).
- PCR *real time* foi realizado nas células U-937 e THP-1, diferenciadas com 20 nM de PMA por 72 h e polarizadas com IFN γ (20 ng/mL) + LPS (100 ng/mL) ou IL-4 (20 ng/mL) por 24 h; e em cultivo primário de macrófagos derivados de monócitos circulantes, diferenciados com 50 ng/mL de M-CSF por 7 dias e polarizados por 24 h com IFN γ (20 ng/mL) + LPS (100 ng/mL) ou IL-4 (20 ng/mL).

RESULTADOS

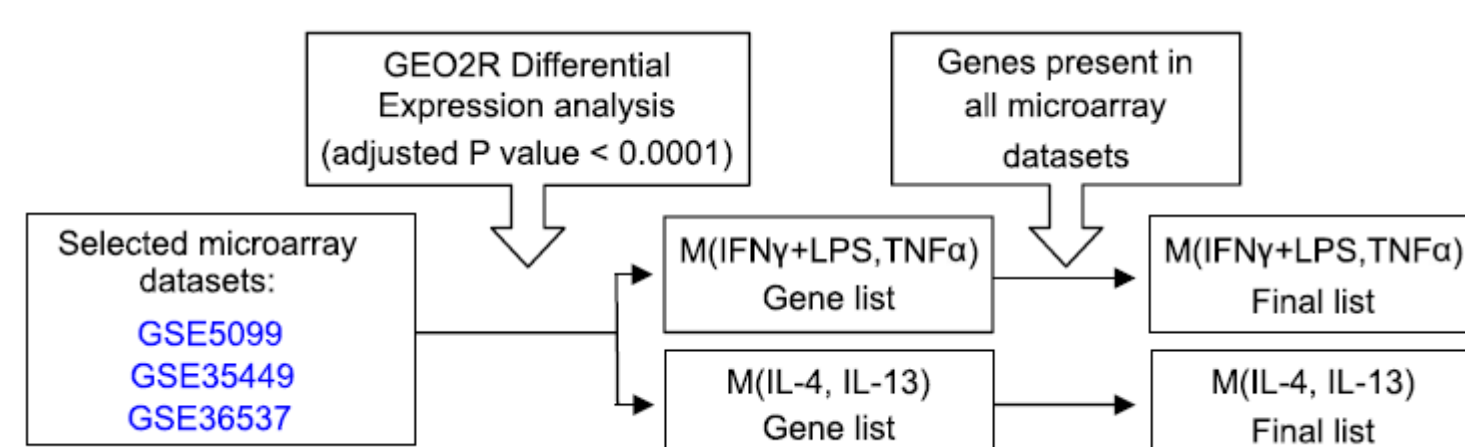


Figura 1: Representação esquemática das etapas para a obtenção das assinaturas gênicas.

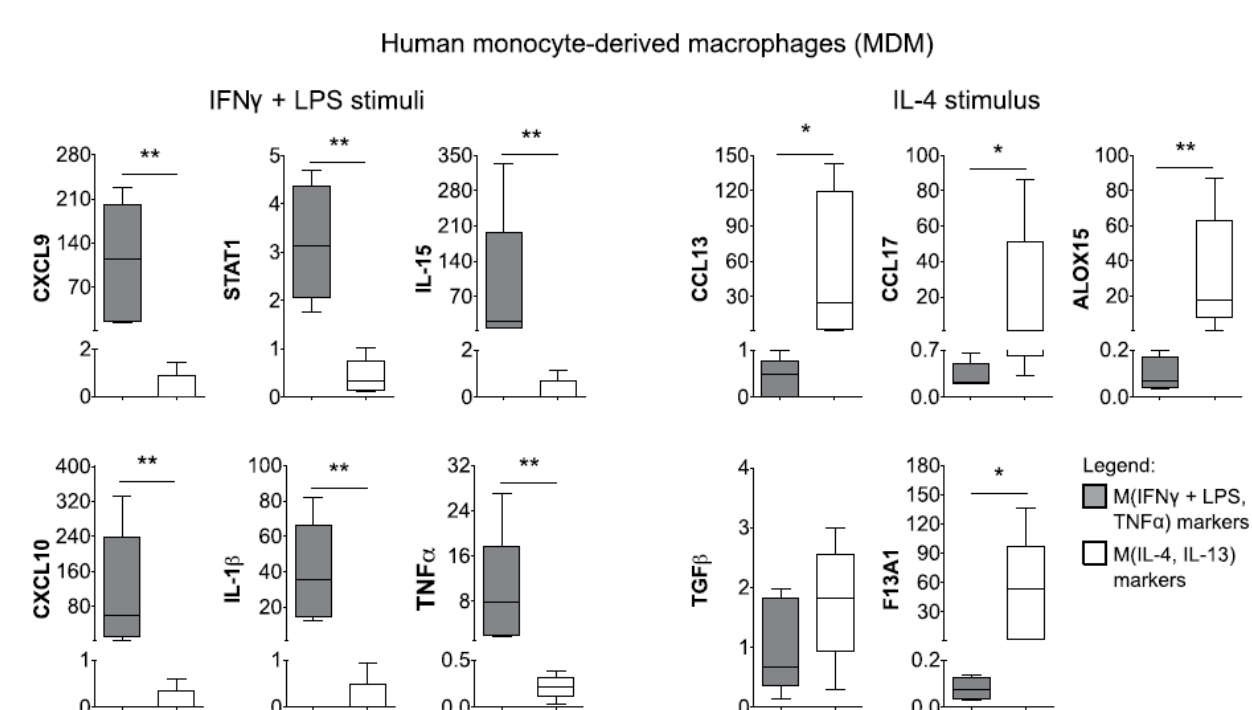


Figura 2: Validação dos genes selecionados das assinaturas M(IFN γ +LPS, TNF α) e M(IL-4, IL-13) no cultivo primário.

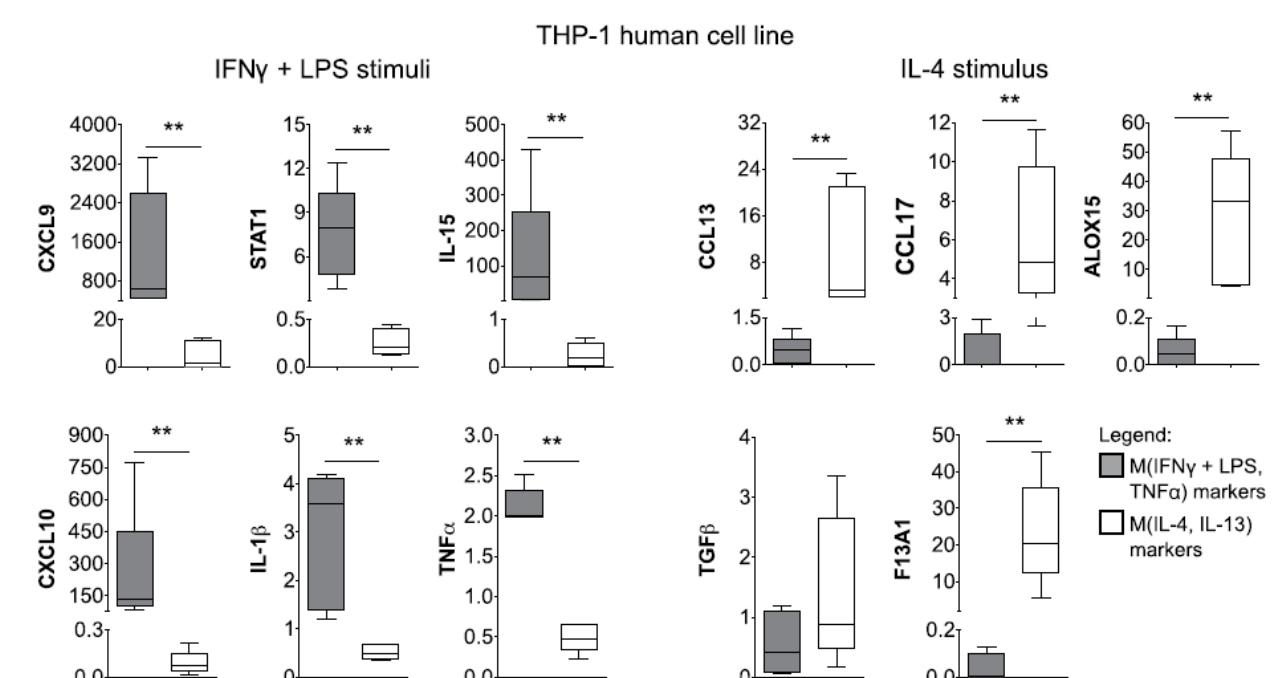


Figura 3: Validação dos genes selecionados das assinaturas M(IFN γ +LPS, TNF α) e M(IL-4, IL-13) na linhagem THP-1.

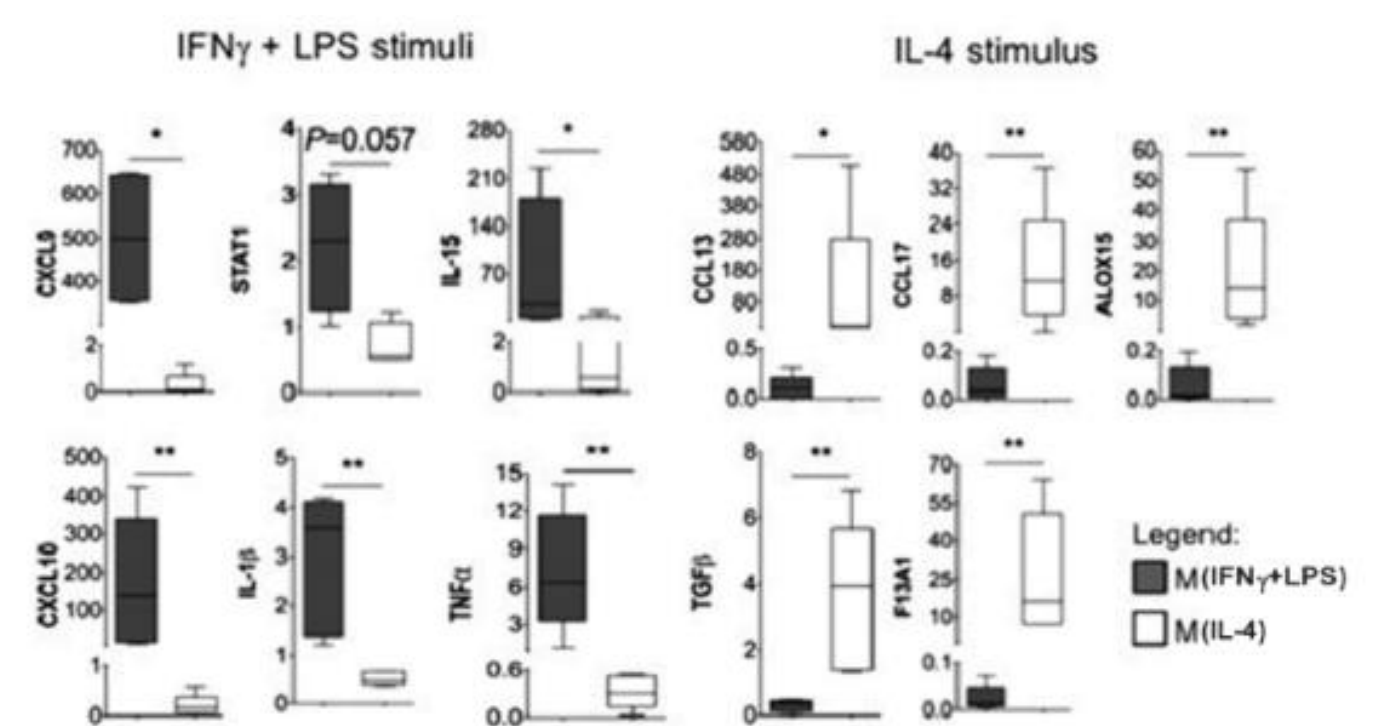


Figura 4: Validação dos genes selecionados das assinaturas M(IFN γ +LPS, TNF α) e M(IL-4, IL-13) na linhagem U-937.

DISCUSSÃO

Apresentaram-se, nesse trabalho, fortes genes candidatos à caracterização de fenótipos dos macrófagos. Isso é de fundamental importância, visto que tais células participam ativamente nos mais variados processos patológicos, incluindo o câncer. Dessa forma, o conhecimento do fenótipo dos macrófagos nas patologias pode servir como base para o desenvolvimento de terapias baseadas nessas células.