



ESTUDO DOS IMPACTOS DA ESTABILIZAÇÃO DE HIF-1 α , MEDIADA PELA DELEÇÃO DE VHL, NO METABOLISMO E NA POLARIZAÇÃO DE MACRÓFAGOS

O estudo das funções das células imunes, como macrófagos, e sua relação com o metabolismo vem ganhando espaço na comunidade acadêmica. Uma das moléculas alvo relacionadas ao metabolismo de macrófagos é o fator de transcrição induzido por hipóxia-1 α (HIF-1 α). Os níveis proteicos de HIF-1 α são controlados pelo fator von Hippel-Lindau (VHL), o qual marca HIF-1 α para degradação proteossomal em condições de normóxia (Figura 1A). Em baixas concentrações de oxigênio, a enzima prolil hidroxilase (PHD) tem sua atividade reduzida, dada sua dependência de O₂ para realizar sua função adequadamente. Nesse contexto, HIF-1 α não tem seus resíduos de prolina hidroxilados e não pode ser reconhecido por VHL, tendo como consequência sua estabilização (Figura 1B). Estímulos pró-inflamatórios, como lipopolissacarídeo (LPS) da parede celular de bactérias gram-negativas e IFN- γ , ativam o macrófago para um perfil M1, levando à estabilização de HIF-1 α por mecanismos transcricionais, aquisição de um perfil pró-inflamatório (IL-6, TNF e IL-1 β), além de um metabolismo altamente glicolítico. O presente trabalho visa analisar como a estabilização de HIF-1 α induzida pela deleção de VHL em células da linhagem mieloide (VHL^{fl/fl}LysM^{Cre} ou VHL KO) modula o metabolismo e a polarização de macrófagos.

Macrófagos derivados da medula óssea (BMDMs) de animais VHL^{fl/fl}LysM^{Cre} e VHL^{fl/fl} foram mantidos em cultura e estimulados com LPS ou LPS+IFN- γ no sexto dia. Inicialmente, verificamos o perfil de macrófagos de animais C57BL/6. A ativação dessas células com LPS+IFN- γ levou a um pico de expressão de Hif-1 α e suas enzimas alvo da via glicolítica após 6 horas (Glut-1, Pfkfb3, Pkm2 e Ldh). Esse pico também é verificado na expressão das citocinas pró-inflamatórias Il-6, Tnf e Il-1 β . A estabilização farmacológica de HIF-1 α com BAY 85-3934 (inibidor de PHD) não afeta o perfil glicolítico de macrófagos ativados para o perfil M1, mas resulta em maior secreção de TNF- α . Quando macrófagos com deleção de VHL são ativados com LPS, a expressão de citocinas pró-inflamatórias é

aumentada, com pico em 6 horas, mas não há diferença para enzimas da via glicolítica. Além disso, tratamento desses macrófagos com LPS+IFN- γ revela secreção aumentada de IL-6 e TNF- α . Portanto, nossos resultados até o momento mostram que a deleção de VHL afeta o perfil inflamatório, mas não o perfil glicolítico em macrófagos.

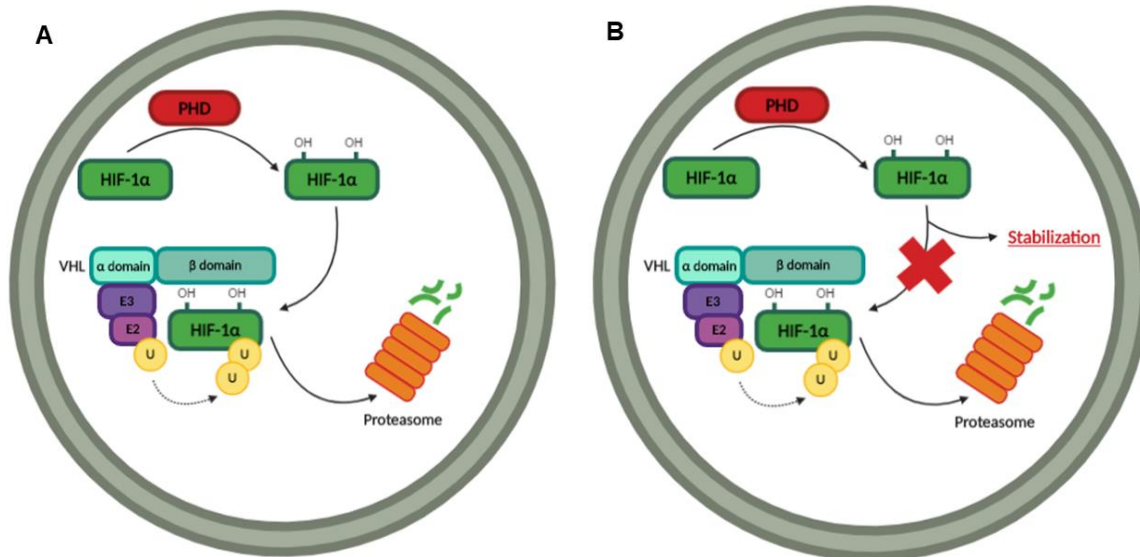


Figura 1. Via de VHL-HIF. (A) Prolil hidroxilase (PHD) interage com HIF-1 α no citoplasma, hidroxilando seus resíduos de prolina. Hidroxilado, HIF-1 α pode ser reconhecido pelo domínio β de VHL e então receber as ubiquitinas do complexo E2-E3 associado ao domínio α de VHL. A ubiquitina permite o reconhecimento de HIF-1 α pelo proteassoma, complexo proteico que degrada a molécula ubiquitinada. **(B)** A deleção condicional ou inibição da via VHL-HIF inibe a degradação de HIF-1 α no citoplasma, uma vez que este fator não é ubiquitinado e, portanto, não reconhecido pelo proteassoma.