



Comportamento de macrófagos murinos associados a substratos rígidos e construtos de Colágeno I: ativação celular

Thiago Torres de Aguiar, Fernando Costa e Silva Filho, Renato Augusto DaMatta

A cultura de células é feita em ambiente artificial. O substrato utilizado atualmente é o poliestireno, plástico apolar e inelástico. Estas propriedades contrastam com as condições encontradas *in vivo*, onde as células estão inseridas na matriz extracelular. Esta estrutura dá *feedback* mecânico, modula as células e possui em sua composição o colágeno (COL). Neste trabalho, comparamos o cultivo de macrófagos em poliestireno e em substrato revestido com COL. Macrófagos são células do sistema imune que possuem grande plasticidade. Ao serem cultivadas com lipopolissacarídeo e interferon- γ adotam fenótipo M1, caracterizado por capacidade de combate a patógenos e secreção de óxido nítrico (NO). COL I de cauda de rato foi utilizado neste trabalho. Macrófagos RAW 264.7 foram plaqueados em placas de 24 poços, em contato com o poliestireno ou em poços revestidos com COL. Após serem ativados por 24 h, a produção de NO foi avaliada. Macrófagos cultivados sobre COL produziram menos NO do que aqueles cultivados em contato com o poliestireno. Para avaliar se o houve modulação mecânica na produção de NO, os macrófagos foram cultivados em contato indireto com o COL com o uso de insertos *transwell* (Corning, membranas com poro de 3 μm) no qual o COL foi depositado e os macrófagos semeados no poliestireno. Mesmo sem contato físico, o COL diminuiu a produção de NO nos macrófagos. A viabilidade das células foi avaliada indiretamente por MTT. O resultado mostrou que a viabilidade das células foi equivalente nos macrófagos cultivados sem COL ou com *transwell* contendo COL. A lavagem do COL depositado no *transwell* um dia antes com meio de cultura DMEM não interferiu na diminuição da produção de NO. A expressão da enzima óxido nítrico sintase induzida, avaliada por imunofluorescência, produziu resultados inconclusivos. Devido a menor produção de NO nos macrófagos cultivados sobre COL, era esperado que a expressão da enzima fosse menor. Entretanto, macrófagos RAW 264.7 ativados expressam constitutivamente a enzima, mesmo que ela permaneça inativa. Outra linhagem celular será utilizada nesta avaliação. Futuramente, será testado o uso de bloqueadores de TGF- β , citocina imunossupressora, para avaliar se este fator está presente no COL extraído, e será feita a comparação entre fenótipos M2.

Palavras-chave: Colágeno, Macrófagos, Ativação clássica.

Instituição de fomento: CNPq, FAPERJ, UENF, CAPES.