

EFEITOS DE AGONISTAS E ANTAGONISTAS DO RECEPTOR P2X7 NA PROLIFERAÇÃO CELULAR DE LINHAGEM DE QUERATINÓCITOS HUMANOS NORMAIS

Thaís Cristina Erig^{1,2}, Gabriela Lucas da Silva^{2,4}, Maria Martha Campos^{2,3}, Marina Petersen Gehring^{2,4}, Fernanda Bueno Morrone^{1,2,4} (orientador).

¹Faculdade de Farmácia, ²Laboratório de Farmacologia Aplicada, ³Instituto de Toxicologia, ⁴Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, PUCRS, Porto Alegre, RS.

Introdução: O ATP atua no meio extracelular como uma importante molécula de sinalização, ativando uma família de receptores denominados receptores purinérgicos (Burnstock, 2007). Nos últimos anos, tem aumentado o interesse no potencial terapêutico de componentes purinérgicos, incluindo agonistas e antagonistas de receptores (Burnstock, 2006). Atualmente, um grande número de observações experimentais tem indicado que o ATP atua como um importante mediador das respostas inflamatórias da pele (Inoue et al., 2006; Pastore et al., 2007) e quando se encontra em altas concentrações no espaço extracelular, está relacionado com a ativação do receptor purinérgico P2X7. Em face ao exposto, este estudo tem como objetivo avaliar o efeito de agonistas e do antagonista do receptor P2X7, A438079, na viabilidade celular da linhagem de queratinócitos humanos normais, HaCat.

Metodologia: Células de queratinócitos humanos normais da linhagem HaCat foram obtidas a partir do *German Cancer Research Center* (DKFZ, Heidelberg, Alemanha). As células foram cultivadas com meio *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) em incubadora umidificada a 37°C e 5% de CO₂. Quando atingiram confluência, as células foram semeadas numa placa de 96 poços na densidade de 1 x 10⁶ células/poço. Após atingirem semi-confluência, as células foram tratadas com ATP (0,1 µM, 0,5 µM, 3 mM e 5 mM) e com o antagonista do receptor purinérgico P2X7 A438079 (10 µM). Para avaliar a viabilidade celular foi realizado o ensaio de MTT em 24 horas. O experimento foi realizado em triplicata e os dados foram analisados por análise de variância ANOVA, seguido pelo *pos hoc test* de Bonferroni.

Resultados e Discussão: O efeito do ATP sobre a viabilidade celular foi concentração dependente. O tratamento com a concentração de 5 mM reduziu significativamente a viabilidade celular em relação ao controle e aos outros tratamentos. Este efeito foi revertido pelo tratamento com o antagonista do receptor P2X7, A438079. Estes resultados sugerem que o ATP pode regular a proliferação de queratinócitos humanos e demonstram que o antagonista do receptor P2X7, A438079, pode prevenir a morte celular provocada pelo ATP.

Conclusão: O antagonista do receptor P2X7 utilizado neste estudo pode ser uma importante estratégia para o tratamento de doenças inflamatórias da pele, onde o ATP esteja envolvido como molécula sinalizadora. Mais estudos são necessários para a confirmação destes dados.

Referências:

Burnstock, G. Pathophysiology and therapeutic potential of purinergic signaling. **Pharmacological Reviews**, v. 58, n. 1, p. 58-86, 2006.

Burnstock, G. Purine and pyrimidine receptors. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 64, p. 1471-1483, 2007.

Inoue, K.; Hosoi, J.; Denda, M. Extracellular ATP has stimulatory effects on the expression and release of IL-6 via purinergic receptors in normal human keratinocytes. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, p. 362-371, 2007.

Pastore, S. et. al. stimulation of purinergic receptors modulates chemokine expression in human keratinocytes. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 127, p. 660-667, 2007.