

## Alterações do metabolismo energético em células mononucleares de sangue periférico tolerantes à endotoxina

Mônica Bragança Sousa, Bianca Rodrigues Lima Ferreira, Milena Karina Coló Brunialti e Reinaldo Salomão. Disciplina de Medicina Translacional - Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.

**Objetivo:** Analisar como o metabolismo está relacionado à função de células mononucleares de sangue periférico (PBMC), tolerantes à endotoxina.

**Métodos:** Células mononucleares de sangue periférico (PBMC) foram obtidas de voluntários sadios, pré-estimuladas por 48h com lipopolissacarídeo (LPS) e incubadas com uma dose desafio de LPS (100 ng/mL) por 24h. A indução de tolerância foi avaliada pela produção de TNF- $\alpha$  por citometria de fluxo. A atividade metabólica foi analisada pela quantificação de ATP utilizando um kit comercial, pela captação de glicose por citometria de fluxo e pela quantificação de lactato no sobrenadante de cultura. O efeito da inibição das vias metabólicas na função celular foi avaliado na fagocitose, produção de ATP e citocinas utilizando um inibidor específico para cada via alvo.

**Resultados:** PBMC pré-estimuladas com LPS 100 ng/mL apresentaram inibição da produção de TNF- $\alpha$  com a dose desafio, confirmando a indução de tolerância. Células que receberam o pré-estímulo e desafio com LPS apresentaram aumento na produção de ATP quando comparadas às não estimuladas. PBMC apenas estimuladas com LPS apresentaram transição metabólica para glicólise, com aumento na captação de glicose e aumento na produção de lactato. As células tolerantes reduziram a produção de lactato ao serem desafiadas sem, contudo, apresentarem redução na captação de glicose. A produção de ATP foi comprometida na presença de oligomicina (inibidor da síntese de ATP), enquanto a fagocitose e a produção de citocinas foram reduzidas com 2-DG (inibidor da glicólise) e 6-AN (inibidor da via das pentoses fosfato), sem alteração causada pela oligomicina.

**Conclusão:** Células tolerantes ao LPS apresentam produção reduzida de TNF- $\alpha$ , aumento na produção de ATP e redução na produção de lactato, sem alteração na captação de glicose, indicando que não transitam para o metabolismo glicolítico quando desafiadas com LPS. Todavia, assim como nas células não tolerizadas, a atividade celular nas células tolerantes ao LPS é afetada pela inibição da glicólise e da via das pentoses-fosfato, o que configura uma regulação metabólica da função, o que corrobora com o conceito de imunomodulação.