

Piridovericina: inibidor da degranulação e secreção de IL-4 de células RBL-2H3 isolado do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*

Marcela S. Santos^{1,2*} (PG), William J. Andrioli¹ (PG), Maria Perpétua F. M. Del Lama^{1,2} (PQ), Jairo K. Bastos¹ (PQ), Rose Mary Z. G. Naal^{1,2} (PQ)

¹Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-Universidade de São Paulo *marcela.santos@usp.br

²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Bioanálítica

Palavras Chave: piridovericina, *Beauveria bassiana*, mastócitos, alergia, β -hexosaminidase, interleucina-4.

Introdução

Fungos entomopatogênicos se destacam como fontes promissoras de compostos biologicamente ativos com potencial imunossupressor, visto que estes, presumidamente, levam à morte de seu hospedeiro através da inibição de determinadas enzimas, bem como produção de metabólitos tóxicos e enzimas patogênicas. Culturas do deutoromiceto *Beauveria bassiana* geralmente desenvolvem uma coloração amarelada devido à formação de uma mistura de pigmentos relacionados. Dentre estes pigmentos reporta-se a presença de piridovericina, caracterizada em 1998 e descrita como um inibidor de proteinoquinases.¹

Quando um antígeno multivalente liga receptores Fc ϵ RI sensibilizados por IgE e localizados na superfície de mastócitos, cascatas divergentes de sinalização intracelular são ativadas e causam a liberação de mediadores químicos pré-formados, como a histamina, além da síntese e secreção de mediadores tais como interleucinas (IL), os quais levam ao desenvolvimento de reações alérgicas, incluindo rinite e asma.

Através do uso de células RBL-2H3 como modelo de estudo de vias de sinalização em mastócitos,² avaliou-se o potencial inibitório da piridovericina sobre a atividade secretória de mastócitos estimulados.

Resultados e Discussão

O pré-tratamento de células RBL com diferentes concentrações de piridovericina (0-100 μ M) resultou em uma forte inibição da secreção de β -hexosaminidase (β -hex, marcador para a degranulação mastocitária), como resultado da agregação dos receptores Fc ϵ RI pelo antígeno DNP-BSA. O valor de CI_{50} para a inibição da degranulação foi de $5,9 \pm 2,2 \mu$ M. A atividade da enzima β -hex não foi alterada na presença de piridovericina, o que reforçou os efeitos inibitórios deste composto sobre a secreção dos mastócitos. O estímulo celular com tapsigargina, após pré-incubação com piridovericina, também levou à redução da degranulação mastocitária ($CI_{50} = 7,6 \mu$ M). A tapsigargina é um inibidor da bomba de

prótons SERCA e causa ativação celular de forma independente da ativação dos receptores Fc ϵ RI. Visto que a piridovericina inibiu a degranulação com potência semelhante frente a ambos os estímulos celulares (antígeno e tapsigargina), sugeriu-se que seu(s) alvo(s) de inibição estaria localizado em etapas finais da cascata de sinalização, comuns às duas vias de estímulo. Tal possibilidade foi reforçada quando células RBL foram estimuladas com uma combinação de tapsigargina e forbol 12-miristato 13-acetato (PMA), este último, um ativador da proteína quinase C (PKC). A PKC é responsável por estimular a fusão entre grânulos secretórios, contendo mediadores alérgicos, e a membrana plasmática, levando à secreção de tais mediadores. Nestas condições, a piridovericina foi inativa. Estes resultados apontaram a PKC como potencial alvo de inibição da piridovericina. Estudos que confirmem estes resultados estão em andamento. A PKC também foi descrita como mediadora da cascata de sinalização celular que leva à produção e secreção de citocinas. Desta forma, avaliou-se o efeito da piridovericina sobre a secreção de IL-4. Os resultados mostraram forte redução da secreção de IL-4 na presença de piridovericina, de forma dose-dependente. A viabilidade das células RBL sofreu pouca ou nenhuma redução quando incubadas com piridovericina por 1 e 4h.

Conclusões

A piridovericina mostrou ser um potente inibidor da resposta secretória de mastócitos da linhagem RBL-2H3 à diferentes vias de ativação celular. Seu provável alvo molecular é a enzima PKC.

Agradecimentos

FCFRP-USP, INCT-Bioanálítica, FAPESP, CAPES-PDEE

¹Takahashi, S.; Kakinuma, N.; Uchida, K.; Hashimoto, R.; Yanagisawa, T.; Nakagawa, A., *J. Antibiot.* **1998**, *51*, 596.

²Naal, R.M.Z.G.; Tabb, J.; Holowka, D.; Baird, B., *Biosens. Bioelectron.* **2004**, *20*, 791.