

Resumo de Tese / Thesis

Sinais de proliferação via regulação de histona H3 em modelo *in vitro* de linfoproliferação

Regulation of histone H3 in lymphoproliferation assay

Karla B.C. Menditi

Orientador

Hye Chung Kang

Resumo

A ativação da célula T é crucial para o desenvolvimento da resposta imune específica. Após os sinais antígeno-específico e não específico, a co-estimulação e a atuação das citocinas, ocorre ativação, expansão, resposta imunológica e, finalmente, a supressão destes linfócitos através da apoptose. A desregulação deste processo está associada com muitos distúrbios imunológicos como as neoplasias, e pode resultar de alterações nucleares. O DNA genômico encontra-se enrolado em um octâmero central de proteínas histonas formando o nucleossomo, a unidade básica da cromatina. Estas proteínas histonas possuem importante papel na manutenção do equilíbrio dinâmico da cromatina pelo qual a regulação da expressão gênica é atingida. As histonas possuem resíduos amino-terminais que são suscetíveis a uma variedade de modificações pós-traducionais como metilação, acetilação, fosforilação, e outras. Cada modificação individualmente é "lida" por proteínas que modulam a estrutura da cromatina e, conseqüentemente, a transcrição. E o conjunto destas modificações representa um complexo de informações epigenéticas conhecido como Hipótese do Código de histona. O objetivo principal do presente estudo foi comparar alterações nucleares envolvendo a histona H3 em linfócitos de doadores normais e células T de linhagem leucêmica (Jurkat) mantidos em cultura sob o estímulo da fitohemaglutinina, nos tempos de 72 hs, 96 hs e 120 hs. Foram estudadas, através da técnica de imunofluorescência com anticorpos específicos, as seguintes modificações na histona H3: fosforilação da serina 10 (H3PS10), acetilação da lisina 9 (H3AcK9) e metilação da lisina 9 (H3MeK9). Os linfócitos dos doadores normais foram purificados através do gradiente de densidade. Os resultados demonstraram que a curva de crescimento dos linfócitos normais exibiu momentos bem definidos de proliferação (72 - 96 hs) e apoptose (96 - 120 hs). Nestas células, o perfil da acetilação e da fosforilação da histona H3 foi parecido com o da curva de crescimento, porém,

a metilação demonstrou um aumento contínuo em todos os momentos. A curva de crescimento das células Jurkat exibiu um aumento do número de células em cada momento, entretanto, não houve diferença entre as três modificações na proteína histona. Estes achados sugerem que os mecanismos epigenéticos estão envolvidos na transformação neoplásica e resultam na diminuição da metilação da histona H3 em linfócitos leucêmicos.

Palavras-chave: Linfócitos; linfoproliferação; cromatina; histonas; epigenética; apoptose.

Abstract

T-cell activation is crucial for the development of specific immune reactions. After antigen-specific and nonspecific signals, costimulation and cytokine performance, activation, expansion, immunologic response and, finally, suppression of lymphocytes occurs by apoptosis. Dysregulation of this process is associated with many immune disorders like neoplasia which may result from nuclear alterations. The genomic DNA is wrapped around an octamer of core histone proteins constituting the nucleosome, the basic unit of chromatin. These basic proteins are recognized for their important role in maintaining the dynamic equilibrium of chromatin through which the regulation of gene expression is attained. The amino termini of histones are susceptible to a variety of post-translational modifications, such as methylation, acetylation, phosphorylation, among others. Individual types of histone modifications are "read" by proteins that modulate the chromatin structure and, thus, transcription. These integrated modifications represent complex epigenetic information called the "Histone Code" Hypothesis. The aim of the present study was to compare nuclear alterations involving histone H3 in normal donor lymphocytes and T leukemic cells (Jurkat) after stimulation with phytohemagglutinin, at 72 hours, 96 hours and 120 hours. Using the immunofluorescence technique with specific antibodies, the following histone H3 modifications were studied: phosphorylation of serine 10 (H3PS10), acetylation of lysine 9 (H3AcK9) and methylation of lysine 9 (H3MeK9). The normal donor lymphocytes were purified by density gradient. Our data show the growth curve of normal donor lymphocytes

Tese de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense para obtenção do grau de Mestre em Patologia na área de Patologia Investigativa. Niterói, 2007, 170 p.

Correspondência: Karla Baptista da Cunha Menditi
Praia de Icaraí - nº 237, aptº 701, Bloco B - Icaraí
24230-003 - Niterói-RJ - Brasil
E-mail: karlamenditi@yahoo.com.br

presented at well-defined points in time for proliferation and apoptosis of from 72 to 96 hours and 96 to 120 hours, respectively. In these cells, the profiles of acetylation and phosphorylation of histone H3 slightly resemble the growth curve, but methylation increased at each time point. The growth curve of Jurkat cells showed an increase in the number of cells at all time points, however, we observed no changes in Histone H3 modifications. These findings suggest that epigenetic mechanisms are involved in neoplastic transformation and result in a decrease in the histone H3 methylation profile of leukemic lymphocytes.

Key words: Lymphocytes; dysregulated lymphocyte proliferation; chromatin; histones; epigenetic; apoptosis.

Avaliação: A Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia publica os resumos e abstracts de teses da área apresentados em entidades que tenham programas de pós-graduação reconhecidos pelo MEC/Capes e considera a obtenção do título suficiente para sua publicação na forma como se propõe a seção.

Recebido: 09/05/2007

Aceito: 09/05/2007