

Resumo de Tese / Thesis

## Expressão de SIRP-alfa e SHP-1 na anemia hemolítica autoimune

### *SIRP-alpha and SHP-1 expression in autoimmune hemolytic anemia*

Ana Carolina de Almeida

Orientadora: Antonio Condino-Neto

#### Resumo

SIRPalfa (Signal Regulatory Protein alfa) é um receptor que medeia funções inibidoras em fagócitos. Sua ativação e consequente fosforilação dos ITIMs ocorre pela ligação ao CD47 presente na membrana dos eritrócitos, e permite o recrutamento e a ativação de SHP-1, que desfosforila substratos específicos envolvidos na mediação de diversos efeitos fisiológicos. Objetivamos avaliar o papel da dexametasona e de IFNgama/TNFalfa sobre a expressão de SIRPalfa e SHP-1 e sobre a eritrofagocitose; e a expressão desses genes em monócitos de pacientes com anemia hemolítica autoimune (AHAI) pré e pós-corticoterapia. Monócitos de doadores sadios foram cultivados com dexametasona, IFNgama e TNFalfa, ou Hemin<sup>®</sup>. A expressão gênica de SIRPalfa e SHP-1 foi determinada por Real Time-PCR, a expressão proteica de SIRPalfa e SHP-1 foi determinada por Western Blotting, e a eritrofagocitose foi determinada por microscopia. IFNgama/TNFalfa promoveram o aumento da expressão gênica e proteica de SIRPalfa e a expressão gênica de SHP-1, em paralelo com a redução da capacidade de eritrofagocitose por monócitos normais in vitro. Embora também tenha aumentado a expressão gênica de SIRPalfa e SHP-1, dexametasona in vitro não alterou a expressão destas proteínas ou a capacidade de eritrofagocitose de monócitos normais. A expressão gênica de SIRPalfa e SHP-1 foi maior em monócitos de pacientes com AHAI comparado a doadores sadios e a pacientes pós-corticoterapia. Somente a expressão gênica de SIRPalfa em monócitos aumentou após cultura com hemina. Nossos resultados confirmam o papel fundamental da SIRPalfa na regulação da eritrofagocitose e sugerem que a expressão gênica de SIRPalfa em monócitos de pacientes com AHAI pré-corticoterapia é aumentada pela liberação de heme, e que a redução da expressão gênica de SIRPalfa pós-corticoterapia se deve a um efeito indireto desta droga pela redução da eritrofagocitose e diminuição da disponibilidade de heme.

**Palavras-chave:** SIRP-alfa; SHP-1; receptores de inibição; eritrofagocitose; anemia hemolítica autoimune; citocinas inflamatórias.

#### Abstract

SIRP-alpha (Signal Regulatory Protein alpha) is an inhibitory receptor on phagocytes. Its activation and consequent ITIM phosphorylation occur by binding to CD47 present in the erythrocyte membrane, thus allowing SHP-1 recruitment which dephosphorylates specific substrates involved in the mediation of varying physiologic effects. The aim of this work was to determine the role of dexamethasone and IFN-gamma/TNF-alpha on the expressions of SIRP-alpha and SHP-1 and erythrophagocytosis, as well as to evaluate the regulation of SIRP-alpha and SHP-1 in peripheral blood monocytes (PBM) of patients presenting with autoimmune hemolytic anemia (AIHA) before and after glucocorticoid therapy. PBM cells from healthy donors were cultured in dexamethasone, IFN-gamma/TNF-alpha, or Hemin. The SIRP-alpha/SHP-1 gene expressions were determined by real-time PCR, SIRP-alpha/SHP-1 protein levels were determined by western blotting, and erythrophagocytosis was determined by microscopy. In vitro, IFN-gamma/TNF-alpha increased SIRP-alpha gene and protein expressions, as well as the SHP-1 gene expression, in parallel to a decrease in erythrophagocytosis in PBM. Conversely, although the SIRP-alpha/SHP-1 gene expressions were significantly increased, dexamethasone did not alter the SIRP-alpha/SHP-1 protein expressions or erythrophagocytosis by monocytes. The SIRP-alpha/SHP-1 expressions were significantly higher in the PBM of AIHA patients compared with normal or AIHA patients after glucocorticoid therapy. Only the SIRP-alpha gene expression was increased using the hemin culture. Our results confirm the key role of SIRP-alpha in the regulation of erythrophagocytosis and suggest that the SIRP-alpha gene expression in AIHA patients before glucocorticoid therapy is increased due to heme release, and the decrease in the SIRP-alpha gene expression after glucocorticoid therapy is due to the indirect effect of this drug in reducing erythrophagocytosis and heme availability.

**Key words:** SIRP-alpha; SHP-1; inhibitory receptor; erythrophagocytosis; autoimmune hemolytic anemia; inflammatory cytokines.

Dissertação apresentada ao Depto. de Farmacologia/Centro de Investigação em Pediatria, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.

**Correspondência:** Antonio Condino Neto  
Depto. de Imunologia – Instituto de Ciências Biomédicas – USP  
Avenida Lineu Prestes, 1730  
05508-900 – São Paulo-SP – Brasil  
Tel.: (55 11) 3091-7387 / Fax: (55 11) 3091-7224  
E-mail: condino@icb.usp.br

Avaliação: A Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia (RBHH) 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.

Suporte Financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Recebido: 28/10/2009

Aceito: 30/10/2009