



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Estudo do potencial imunomodulador de Dehidroepiandrosterona
(DHEA) na inflamação intestinal experimental**

Vanessa Beatriz Freitas Alves

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Estudo do potencial imunomodulador de Dehidroepiandrosterona
(DHEA) na inflamação intestinal experimental**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Biociências Aplicadas à Farmácia

Orientada: Vanessa Beatriz Freitas Alves

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristina Ribeiro de Barros Cardoso

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicada à Farmácia em 30/03/2016. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

**Ribeirão Preto
2016**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Alves, Vanessa Beatriz Freitas.

Estudo do potencial imunomodulador de Dehidroepiandrosterona (DHEA) na inflamação intestinal experimental. Ribeirão Preto, 2016.

138p. : il. ; 30cm.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Biociências Aplicadas à Farmácia.

Orientadora: Cardoso, Cristina Ribeiro de Barros.

1. Dehidroepiandrosterona. 2. Imunomodulação. 3. Doença inflamatória intestinal.

Vanessa Beatriz Freitas Alves

Estudo do potencial imunomodulador de Dehidroepiandrosterona (DHEA) na inflamação intestinal experimental.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Biociências Aplicadas à Farmácia.

Orientadora: Cristina Ribeiro de Barros Cardoso

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Trabalho realizado no *Laboratório de Imunoendocrinologia e Regulação (LIR)* do Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas (DACTB) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FCFRP/USP), com auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; processos nº2012/17265-4 e nº2010/20162-7), da Coordenação de Aperfeiçoamentos de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Doenças Inflamatórias (NAP-DIN).

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida. Aos meus pais Hilda e Hiron, meu irmão Claudiney e meu namorado Rosan, pelo apoio incomensurável e por serem sempre o meu amparo!

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus por ser o meu rochedo, minha fortaleza, meu escudo e o meu alto refúgio. Agradeço por me abençoar com seu Espírito para superar todos os obstáculos dessa trajetória me fortalecendo para finalizar este trabalho.

À Profa. Dra. Cristina Ribeiro de Barros Cardoso que por meio dos seus conhecimentos me orientou com paciência e compreensão. Agradeço por confiar este projeto aos meus cuidados e por auxiliar no meu crescimento científico, profissional e pessoal.

Ao Prof. Dr. Auro Nomizo, por enriquecer este trabalho com suas ideias dotadas de sabedoria, pela amizade, conselhos e por acreditar no meu potencial.

Ao Prof. Dr. Javier Lazo Chica pelos ensinamentos e por colaborar neste trabalho.

Aos demais colaboradores desse projeto: Paulo, Viviani e Angélica, que dedicaram seus esforços e tempo para ajudar nos longos experimentos. Sem o apoio de vocês, a finalização deste trabalho seria muito mais difícil. O meu muito obrigada de coração!

Aos secretários da pós-graduação, Henrique e Rosana pela atenção, carinho e dedicação de sempre nos serviços burocráticos.

A todos os professores da pós-graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia, pela competência nas disciplinas e pelo compartilhamento de experiências que ajudaram no meu crescimento profissional.

Às técnicas do Laboratório de Imunoendocrinologia e Regulação (LIR), Viviani e Lelis, pela dedicação, competência profissional, carinho e disposição em ajudar. Muito obrigada!

Aos amigos do Laboratório de Imunoendocrinologia e Regulação (LIR), em especial ao Paulo, que sempre demonstrou amizade sincera, dando conselhos, me apoiando nos momentos difíceis e acreditando em minha capacidade. Ainda, agradeço aos amigos Giuliano, Patrícia, Carol e Angélica pelo companheirismo, momentos de auxílio e até descontração, é certo que a presença de vocês tornou o fardo mais leve.

A FAPESP pela concessão da bolsa de doutorado (Processo N° 2012/17265-4) pelo suporte financeiro (Processo N° 2010/20162-7) e do NAP-DIN, que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

A minha mãe Hilda, meu pai Hiron e irmão Claudiney, por serem exemplos de humildade, solidariedade e companheirismo. Obrigada por me ensinarem o verdadeiro sentido da vida, por entenderem minhas escolhas, apoiarem as minhas decisões e compreenderem a minha ausência.

*Ao meu querido e amado **Rosan**, por sempre me escutar, estando ao meu lado nos momentos mais difíceis, por compreender minha ausência com paciência e por todo carinho. Muito obrigada por fazer parte da minha vida!*

*As minhas queridas amigas, **Beatriz Coutinho e Jane Freitas** por sempre me apoiarem, pela amizade sincera e pelos inúmeros conselhos. A amizade verdadeira é aquela que nem o tempo e a distância conseguem enfraquecer. Obrigada por sempre estarem presentes na minha vida mesmo que distantes.*

*Aos amigos do **Espaço Ophelia Camassutti**. Muito obrigada a todos vocês pelos momentos de descontração e por me ensinarem a nunca desistir de um sonho.*

*A todos **familiares e amigos** que contribuíram direta ou indiretamente durante essa caminhada e que torceram para a concretização deste projeto.*

A todos vocês, meus sinceros agradecimentos!

*Onde você vê um obstáculo,
alguém vê o término da viagem
e o outro vê uma chance de crescer.*

*Onde você vê um motivo pra se irritar,
Alguém vê a tragédia total
E o outro vê uma prova para sua paciência.*

*Onde você vê a morte,
Alguém vê o fim
E o outro vê o começo de uma nova etapa...*

*Onde você vê a fortuna,
Alguém vê a riqueza material
E o outro pode encontrar por trás de tudo, a dor e a miséria total.*

*Onde você vê a teimosia,
Alguém vê a ignorância,
Um outro compreende as limitações do companheiro,
percebendo que cada qual caminha em seu próprio passo.
E que é inútil querer apressar o passo do outro,
a não ser que ele deseje isso.*

Cada qual vê o que quer, pode ou consegue enxergar.

*Porque eu sou do tamanho do que vejo.
E não do tamanho da minha altura.*

Fernando Pessoa

Resumo

ALVES, V.B.F. **Estudo do potencial imunomodulador de Dehidroepiandrosterona (DHEA) na inflamação intestinal experimental.** 2016. 138f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

As Doenças inflamatórias intestinais (DII) são multifatoriais e sua etiologia envolve susceptibilidade genética, fatores ambientais, disbiose e ativação exacerbada do sistema imunológico no intestino. Essas doenças também tem sido relacionadas a baixos níveis de dehidroepiandrosterona (DHEA), um hormônio precursor de diversos esteroides e relacionado à modulação das respostas imunes. Porém, os mecanismos precisos que relacionam as ações deste hormônio com a proteção ou susceptibilidade à doença de Crohn ou colite ulcerativa ainda não são totalmente conhecidos. Sendo assim, este projeto buscou entender o papel imunomodulador do DHEA exógeno *in vitro* e *in vivo* durante a inflamação intestinal experimental induzida por dextran sulfato de sódio (DSS) em camundongos C57BL/6. Inicialmente, *in vitro*, DHEA inibiu a proliferação de células do baço de forma dose dependente nas concentrações de 5 μ M, 50 μ M ou 100 μ M, com diminuição da produção de IFN- γ . Este hormônio não foi tóxico para células de linhagem mieloide, embora tenha causado necrose em leucócitos nas doses mais elevada (50 μ M e 100 μ M), o que pode ter influenciado a diminuição das citocinas *in vitro*. Nos ensaios *in vivo*, os camundongos tratados com DHEA (40 mg/Kg) foram avaliados na fase de indução da doença (dia 6) e durante o reparo tecidual, quando os animais expostos ao DSS e ao DHEA por 9 dias foram mantidos na ausência destas drogas até o dia 15. Houve diminuição do escore pós-morte, melhora no peso e nos sinais clínicos da inflamação intestinal, com redução de monócitos no sangue periférico com 6 dias e aumento de neutrófilos circulantes na fase de reparo tecidual (15 dias). Ainda, a suplementação com DHEA levou à redução da celularidade da lâmina própria (LP) e ao restabelecimento do comprimento normal do intestino. O uso deste hormônio também diminuiu a expressão do RNAm de IL-6 e TGF- β , enquanto aumentou a expressão de IL-13 no colón dos animais durante a fase de indução da doença, o que provavelmente ajudou na atenuação da inflamação intestinal. Além disso, houve acúmulo de linfócitos CD4⁺ e CD8⁺ no baço e diminuição apenas de linfócitos CD4⁺ nos linfonodos mesentéricos (LNM), indicando retenção das células CD4⁺ no baço após uso do DHEA. O tratamento foi também capaz de aumentar a frequência de células CD4 produtoras de IL-4 e diminuir CD4⁺IFN- γ ⁺ no baço, além de reduzir a frequência de CD4⁺IL-17⁺ nos LNM, sugerindo efeito do DHEA no balanço das respostas Th1/Th2/Th17 relacionadas à colite. Em adição, as células de baço dos animais tratados com DHEA e expostos ao DSS se tornaram hiporresponsivas, como visto pela diminuição da proliferação após re-estímulos *in vitro*. Finalmente, DHEA foi capaz de atuar no metabolismo dos camundongos tratados, levando à diminuição de colesterol total e da fração LDL no soro durante a fase de indução da doença, sem gerar quaisquer disfunções hepáticas. Com isso, podemos concluir que o DHEA atua por meio do balanço das respostas imunes exacerbadas, minimizando os danos locais e sistêmicos causados pela inflamação intestinal induzida por DSS.

Palavras-chaves: dehidroepiandrosterona, imunomodulação, doença inflamatória intestinal, colite, hormônio.

***** *Abstract*

ALVES, V.B.F. **Study of the immunomodulatory potential of Dehydroepiandrosterone (DHEA) in experimental intestinal inflammation.** 2016. 138s. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

Inflammatory bowel diseases (IBD) are multifactorial diseases whose etiology involves genetic susceptibility, environmental factors, dysbiosis and exacerbated activation of the immune system in the gut. These diseases have also been associated to lower levels of dehydroepiandrosterone (DHEA), a precursor of various steroid hormones, related to modulation of immune responses. However, the precise mechanisms that link the actions of this hormone with protection or susceptibility to Crohn's disease or ulcerative colitis are still not fully understood. Thus, this project aimed to understand the immunomodulatory role of exogenous DHEA *in vitro* and *in vivo* in experimental intestinal inflammation induced by dextran sodium sulfate (DSS) in C57BL/6 mice. Initially, *in vitro*, DHEA inhibited the proliferation of spleen cells in a dose dependent way on the concentrations of 5 μ M, 50 μ M and 100 μ M, with decreased production of IFN- γ . This hormone was not toxic to myeloid lineage cells, although it caused necrosis of leukocytes at the highest doses (50 μ M and 100 μ M), which may have influenced the decrease of the cytokines *in vitro*. Mice treated with DHEA (40 mg / kg) were evaluated at the induction phase of the disease (day 6) and during tissue repair, when animals exposed to DSS and DHEA for 9 days were maintained in the absence these drugs until the day 15. There was decrease of postmortem score, improved weight and clinical signs of intestinal inflammation, besides reduced peripheral blood monocytes on day 6, together with an increase in circulating neutrophils in tissue repair phase (15 days). Supplementation with DHEA also led to a reduction in cellularity of the lamina propria (LP) and to the restoration of normal length of the gut. The use of this hormone also decreased the expression of IL-6 and TGF- β mRNA, while IL-13 was augmented in the colon of mice during the induction phase of the disease, a fact probably related to attenuation of intestinal inflammation. Furthermore, there was accumulation of CD4⁺ and CD8⁺ cells in the spleen along with decreased CD4⁺ leukocytes in mesenteric lymph nodes (MLN), indicating retention of CD4⁺ cells in the spleen after use of DHEA. The treatment was also able to increase the frequency of CD4⁺ cells producing IL-4 and decrease CD4⁺IFN- γ ⁺ in spleen, with reduced frequency of CD4⁺IL-17⁺ in the MLN, suggesting a role for DHEA on the balance of Th1/Th2/Th17 responses related colitis. In addition, splenocytes of mice treated with DHEA and exposed to DSS became hiporresponsives as seen by decreased proliferation after re-stimulation *in vitro*. Finally, DHEA was able to act on the metabolism of treated mice, leading to decreased total cholesterol and LDL cholesterol in serum during the induction phase of the disease, without generating any liver dysfunction. Thus, we concluded that DHEA acts by balancing the exacerbated immune responses, minimizing local and systemic damages caused by intestinal inflammation induced by DSS.

Keywords: dehydroepiandrosterone, immunomodulation, inflammatory bowel disease, colitis, hormone.

Resumen



ALVES, V.B.F. **Estudio del potencial inmunomodulador de la Dehidroepiandrosterona (DHEA) en la inflamación intestinal experimental.** 2016. 138hojas. Tesis (Doctorado). Facultad de Ciencias Farmacéuticas de Ribeirão Preto – Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

Las enfermedades inflamatorias intestinales (EII) son multifactoriales y su etiología involucra susceptibilidad genética, factores ambientales, disbiosis y activación exacerbada del sistema inmunológico en el intestino. Esas enfermedades también han sido relacionadas a bajos niveles de dehidroepiandrosterona (DHEA), una hormona precursora de diversos esteroides y relacionado a la modulación de las respuestas inmunes. Sin embargo, los mecanismos precisos que relacionan las acciones de esta hormona con la protección o susceptibilidad a la enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa aún no son totalmente conocidos. Así siendo, este proyecto buscó entender el papel inmunomodulador de la DHEA exógena *in vitro* e *in vivo* durante la inflamación intestinal experimental inducida por dextrina sulfato de sodio (DSS) en ratones C57BL/6. Inicialmente *in vitro* la DHEA inhibió la proliferación de células del bazo de forma dosis dependiente en las concentraciones de 5 μ M, 50 μ M o 100 μ M, con disminución de la producción de IFN- γ . Esta hormona no fue tóxica para células de cepas mieloide, aunque tenga causado necrosis en leucocitos en dosis más elevadas (50 μ M o 100 μ M), lo que puede haber influenciado la disminución de las citosinas *in vitro*. En los ensayos *in vivo*, los ratones tratados con DHEA (40 mg/Kg) fueron evaluados en la fase de inducción de la enfermedad (día 6) y mientras el reparo tejidual, cuando los animales expuestos a DSS y DHEA por 9 días fueron mantenidos en la ausencia de estas drogas hasta el día 15. Hubo disminución del score pos muerte, mejora en el peso y en las señales clínicas de la inflamación intestinal, con reducción de monocitos en la sangre periférica con 6 días y aumento de neutrófilos circulantes en la fase de reparo tejidual (15 días). Aún, la suplementación con DHEA llevó a la reducción de la celularidad de la lámina propia (LP) y al restablecimiento de la largura normal del intestino. El uso de esta hormona también disminuyó la expresión del ARNm de IL-6 y TGF- β , mientras aumentó la expresión de IL-13 en el colon de los animales durante la fase de inducción de la enfermedad lo que, probablemente ayudó en la atenuación de la inflamación intestinal. Además, hubo acúmulo de linfocitos CD4⁺ y CD8⁺ en el bazo y disminución solamente de linfocitos CD4⁺ en los linfonodos mesentéricos (LNM), indicando retención de las células CD4⁺ en el bazo pos el uso de la DHEA. El tratamiento fue también capaz de aumentar la frecuencia de células CD4 productoras de IL-4 y disminuir CD4⁺IFN- γ ⁺ en el

bazo, además de reducir la frecuencia de CD4⁺IL-17⁺ en los LNM, sugiriendo efecto de la DHEA en el balance de las respuestas Th1/Th2/Th17 relacionadas a colitis. Además, las células del bazo de los animales tratados con DHEA y expuestos a DSS se volvieron hipo-responsivas, como visto por la disminución de proliferación pos re-estímulos *in vitro*. Finalmente, DHEA fue capaz de actuar en el metabolismo de los ratones tratados, llevando a la disminución de colesterol total y de la fracción LDL en el suero durante la fase de inducción de la enfermedad, sin generar cualesquiera disfunciones hepáticas. Así podemos concluir que la DHEA actúa por medio del balance de las respuestas inmunes exacerbadas, minimizando los daños locales y sistémicos causados por la inflamación intestinal inducida por DSS.

Palabras llaves: dehidroepiandrosterona, inmunomodulación, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis, hormona.

1. Introdução



1.1. Doença Inflamatória Intestinal

As duas principais formas clinicamente definidas como Doença Inflamatória Intestinal (DII), que são a Doença de Crohn (DC) e a colite ulcerativa (UC) são doenças cronicamente remitentes que cursam com reações inflamatórias progressivas no trato gastrointestinal (TGI) (Bouma and Strober 2003). A DII afeta milhares de pessoas no mundo todo e nos últimos anos vêm aumentando o número de casos principalmente na faixa etária entre 30 a 40 anos de vida, além dos casos pediátricos. O risco de desenvolver complicações da DII parece estar diretamente ligado com a idade que o paciente começa desenvolver as primeiras manifestações da doença, sendo melhor o prognóstico quando o início da doença é após os 30 anos de vida (Jess, Simonsen et al. 2012).

Essas doenças têm afetado principalmente países desenvolvidos do ocidente como os países norte americanos e os países do oeste europeu (Molodecky, Soon et al. 2012, Burisch and Munkholm 2013). Considerando os países em desenvolvimento como o Brasil e o continente asiático, o número de casos da DII também está aumentando, no entanto os estudos sobre a evolução da doença permanecem escassos (Ng, Tang et al. 2013, Wong and Ng 2013). Ainda, os estudos para relatar a prevalência e incidência da DII no Brasil não refletem o perfil epidemiológico real da doença no país, sendo essas consideradas baixas. Estes estudos apresentam dificuldades em gerar dados exatos devido à heterogeneidade e tamanho do território brasileiro (Victoria, Sassak et al. 2009, Parente, Coy et al. 2015).

De forma geral, os pacientes com DII apresentam sinais e sintomas como diarreia persistente, sangramento retal, dor abdominal, obstrução intestinal, fístulas, febre, fadiga e perda de peso (Hendrickson, Gokhale et al. 2002, Fuss, Heller et al. 2004, Martins and Peppercorn 2004, Van Assche, Dignass et al. 2010, Kalla, Ventham et al. 2014). A inflamação exacerbada leva a danos prolongados e muitas vezes irreversíveis da função e estrutura gastrintestinal (Bouma and Strober 2003). Ainda, essas doenças afetam a qualidade de vida dos pacientes, devido aos tratamentos longos e caros, além da necessidade de intervenções cirúrgicas, sendo ainda capazes de desencadear o desenvolvimento de outras doenças também consideradas

graves como câncer cólon-retal (Russel and Stockbrugger 1996, Norman, Kirchner et al. 2006).

A DC é caracterizada por ulceração descontínua que afeta camadas mais profundas no TGI causando lesões transmuralis com a presença de granulomas que podem levar a complicações como fístulas, abscessos e estenoses. Além disso, a DC pode afetar qualquer porção do TGI (da orofaringe à região perianal), mas normalmente se localiza no íleo terminal e/ou cólon proximal (Van Assche, Dignass et al. 2010, Kalla, Ventham et al. 2014).

A UC se caracteriza por inflamação restrita ao cólon causando ulceração, hemorragias e edema que acometem de forma contínua camadas mais superficiais como mucosa e submucosa (Sepulveda, Beltran et al. 2008, Dignass, Eliakim et al. 2012).

A DC e a UC apresentam gravidade variável, além de possuir períodos de remissão clínica. Ainda, a DII pode apresentar manifestações extraintestinais acometendo a mucosa oral, fígado, pâncreas, rins, pulmões, vias oculares, articulações e sistema tegumentar (Baumgart and Sandborn 2007, Rodriguez-Moranta, Soriano-Izquierdo et al. 2007, Levine and Burakoff 2011).

Embora a DC e a UC sejam clinicamente semelhantes, é possível observar padrões de resposta imune bastante distintos. Em geral, os pacientes com DC apresentam resposta de células T helper 1 (Th1), com produção de IFN- γ , IL-12 e TNF- α , e, recentemente, descobriu-se a presença de resposta Th17, com produção das citocinas IL-17 e IL-23 na mucosa inflamada. Já os pacientes portadores da colite ulcerativa apresentam inflamação intestinal caracterizada pela presença de resposta imune Th2, com presença de IL-4, IL-5 e IL-13 (Fujino, Andoh et al. 2003, Iwakura and Ishigame 2006, Iboshi, Nakamura et al. 2014). Estes padrões de resposta imunológica serão melhor discutidos posteriormente.

1.1.1. Etiologia e resposta imunológica na DII

Embora não se saiba exatamente qual o gatilho inicial que leva ao desenvolvimento da DII, sabe-se que esta doença está relacionada a uma base genética que supostamente predispõe ao aumento das respostas do sistema

imunológico a um ou vários agentes próprios ou ambientais. Sendo assim, a DII é considerada uma doença multifatorial que envolve susceptibilidade genética, fatores ambientais, microbiológicos e sistema imunológico (Schreiber 2000, Vieth and Tannapfel 2006).

Os fatores genéticos e ambientais propiciam a disfunção na barreira epitelial intestinal, que facilita a translocação de bactérias comensais e produtos microbianos do lúmen para dentro da mucosa intestinal. Estes eventos levam à ativação das células imunológicas e aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias. Dessa forma, se a inflamação aguda nas mucosas não for interrompida por mecanismos anti-inflamatórios e a supressão da respostas imune não for eficiente, a inflamação intestinal crônica é desenvolvida. Consequentemente, há complicações no funcionamento do intestino e destruição dos tecidos das mucosas, ambas causadas pela produção exacerbada das citocinas e ativação do sistema imune (Neurath 2014).

A mucosa intestinal é colonizada por mais de 400 espécies diferentes de bactérias comensais (Sepulveda, Beltran et al. 2008) e o sistema imune tem a função de diferenciar as bactérias patogênicas das comensais (Mowat 2003), gerando respostas adequadas de tolerância imunológica na maioria das vezes (Liu and Lefrancois 2004). Porém, o desequilíbrio no trato gastrintestinal que leva à alteração no número ou no tipo de micro-organismos que compõem a microbiota intestinal, pode resultar em aumento de patógenos capazes de desencadear resposta imune excessiva (Strober, Fuss et al. 2007). Ainda, as bactérias comensais são capazes de sintetizar no intestino metabólitos ativos e benéficos, como os ácidos graxos de cadeias curtas que apresentam funções anti-inflamatórias e podem aumentar a diferenciação de células para um padrão mais regulador (Walker, Sanderson et al. 2011, Furusawa, Obata et al. 2013). Entretanto, a produção exacerbada de outros metabólitos, como o ácido siálico, durante a inflamação intestinal e disbiose, pode favorecer o crescimento de bactérias patogênicas, como a enterohemorrágica *Escherichia coli*, contribuindo com o aumento da resposta imune e consequente produção exacerbada de citocinas pró-inflamatórias (Huang, Chassard et al. 2015). Sabe-se que nas DII há disbiose intestinal (Hold, Smith et al. 2014) com diminuição de bactérias dos filos Bacteroidetes e Firmicutes que ajudam na

homeostasia do intestino e aumento de bactérias do filo Proteobacteria, que contribuem para a inflamação descontrolada na DII (Ott, Musfeldt et al. 2004, Walker, Sanderson et al. 2011). Neste contexto, a importância da microbiota intestinal também foi mostrada em estudos experimentais, nos quais animais com disbiose intestinal foram tratados com microbiota fecal de animais saudáveis, tendo como resultado melhora funcional das barreiras epiteliais da mucosa normalizando a secreção de IgA e mucina, além de diminuir a secreção de citocinas pró-inflamatórias (Li, Liang et al. 2015) e pode ajudar a retorna à homeostasia intestinal (van Nood, Vrieze et al. 2013).

A resposta inflamatória excessiva na mucosa com DII é caracterizada por infiltrado composto por linfócitos, monócitos/macrófagos, plasmócitos, neutrófilos, eosinófilos e mastócitos (Geboes 1994, Yang, Choi et al. 2002, Rijniere, Koster et al. 2006, Yan, Kolachala et al. 2009). O epitélio intestinal representa uma enorme parte do corpo humano revestida por uma única camada de células epiteliais intestinais (IEC) formando uma barreira física robusta. As IEC ajudam nos processos de absorção de nutrientes e impedem que agentes agressores e bactérias do lúmen intestinal invadam a mucosa. Além disso, as IEC apresentam várias outras funções que são cruciais para a homeostase intestinal como a secreção de mucina, peptídeos antimicrobianos (AMP- lisozimas, defensinas, lectinas entre outros), compostos que influenciam a colonização microbiana, modulação das respostas imunes e detecção de microrganismos comensais e patogênicos (Artis 2008). Entretanto, os pacientes com DII podem apresentar disfunção de células de Paneth (célula IEC especializada) e assim contribuir com o aumento da inflamação intestinal pela diminuição da secreção de defensinas (Koslowski, Beisner et al. 2010). Ainda, os portadores da DII apresentam a camada de IEC mais frágil com descamação durante o processo inflamatório, podendo haver apoptose destas células e aumento da permeabilidade intestinal (Soderholm, Olaison et al. 2002, Gerova, Stoynov et al. 2011, Kiesslich, Duckworth et al. 2012).

Na imunidade inata, os macrófagos do intestino normal são condicionados a manter fenótipo não inflamatório (Smith, Ochsenbauer-Jambor et al. 2005). Em contraste, na DII essas células apresentam fenótipo ativado (Selby, Poulter et al. 1983) para a produção de várias citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 α , IL-1 β e TNF- α (Rugtveit, Brandtzaeg et al. 1994,

Rugtveit, Nilsen et al. 1997). Na DC os monócitos CD14⁺ estão aumentados em número e produzem mais IL-23 e TNF- α que aqueles na mucosa normal enquanto que na UC contribuem para a produção de IFN- γ pelas células T locais (Kamada, Hisamatsu et al. 2008). De forma similar, as células dendríticas intestinais são células apresentadoras de antígenos crucialmente envolvidas na iniciação e regulação de fenômenos na imunidade inata e adaptativa da DII (Rescigno and Di Sabatino 2009). Como os macrófagos, sua função é modulada pelo microambiente das mucosas funcionando para proteger e defender, induzir tolerância ou mediar inflamação (Bilsborough and Viney 2004). O número de células dendríticas é relativamente pequeno, mas extremamente diversificado quando ao fenótipo e função, sendo que na DII, as células dendríticas são ativadas, sua expressão de receptores microbianos é aumentada e há produção elevada de citocinas pró-inflamatórias como IL-12 e IL-6 (Hart, Al-Hassi et al. 2005).

Atualmente, outra linhagem celular, como as células linfoides inatas (ILC), vêm sendo descritas como importantes e fundamentais para a manutenção e homeostasia das mucosas (Spits and Di Santo 2011). As ILC são uma população de células de linhagem imune inata que respondem rapidamente a sinais de citocinas derivadas do epitélio intestinal. Elas têm um padrão de expressão de citocinas que se assemelha ao dos subconjuntos de células T auxiliares Th1, Th2, Th22 e Th17 (Spits and Cupedo 2012). Na DII, as ILC podem apresentar disfunção que levam à síntese exacerbada de citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ (ILC1) e conseqüentemente aumento da inflamação intestinal (BERNINK et al., 2013).

Além disso, os estudos voltados para o entendimento da imunopatogênese da DII relatam que a doença resulta de uma disfunção na regulação do sistema imunológico, o que leva à polarização das células intestinais para as respostas adaptativas (Neuman 2007). Na DC há predominantemente um padrão de resposta Th1 com produção elevada de IFN- γ , IL-12 e TNF- α pelas células mononucleares da lâmina própria (Monteleone, Biancone et al. 1997, Parronchi, Romagnani et al. 1997, Fujino, Andoh et al. 2003, Iboshi, Nakamura et al. 2014). Ainda, também ocorre produção considerável de IL-17 e IL-23 por células Th17 e produção dupla de IFN- γ e IL-17 pela mesma célula T na mucosa (Fujino, Andoh et al. 2003,

Annunziato, Cosmi et al. 2007, Globig, Hennecke et al. 2014) embora também tenha sido encontrada a presença de IL-21 modulando a resposta Th17 (Kolls and Linden 2004, Monteleone, Monteleone et al. 2005, Cho 2008) que, em geral, induz inflamação (Nakae, Komiyama et al. 2002, Nakae, Nambu et al. 2003, Koenders, Lubberts et al. 2005). Em contraste, a UC é considerada como padrão de resposta Th2, com aumento de IL-5 e IL-4 pelas células T e IL-13 por células NKT da mucosa inflamada (Fuss, Heller et al. 2004). A IL-13 induz citotoxicidade e apoptose prejudicando a função da barreira epitelial, eventos que explicam algumas características importantes da patogênese da UC (Heller, Florian et al. 2005). As células Th17 também estão presentes na mucosa com UC embora em número mais baixo do que na DC (Fujino, Andoh et al. 2003, Iboshi, Nakamura et al. 2014).

Outra subpopulação importante nas respostas imunes de mucosa são as células T reguladoras (Treg), que apresentam papel crítico no controle de reações autoimunes e inflamatórias crônicas. Sua função é controlar e impedir a ativação excessiva, potencialmente prejudicial ao organismo em doenças inflamatórias descontroladas (Jiang and Chess 2004, Feuerer, Hill et al. 2009). A expressão do fator de transcrição Foxp3 é característica das células Tregs (CD4⁺CD25⁺), sendo indispensável para seu desenvolvimento (Chen, Jin et al. 2003, Hori, Nomura et al. 2003). Um dos principais mecanismos pelos quais as células Tregs exercem a função supressora é a liberação de citocinas inibitórias como IL-10 e TGF- β . Esta última pode modular a expressão de FoxP3 pelas Tregs, transformando células T periféricas CD4⁺CD25⁻ em CD4⁺CD25⁺. Uma outra forma que as células Tregs podem usar para controlar a resposta imunológica é competindo pelos fatores de crescimento (principalmente IL-2) com as células efectoras, levando à apoptose das células efectoras por privação de citocinas. Também as células Tregs podem interagir com células efectoras através da molécula de superfície CTLA-4, que libera sinais inibidores após a ligação com o receptor de membrana B7-1 (CD80) expresso em células dendríticas e células T ativadas (Sakaguchi, Yamaguchi et al. 2008).

Alguns trabalhos demonstraram que as células Th17 e Treg dividem vias de diferenciação comum, sugerindo ligação entre ambas no seu desenvolvimento e funcionalidade (Weaver, Harrington et al. 2006, Mucida,

Park et al. 2007, Weaver and Hatton 2009). Neste contexto, na DII ocorre um desequilíbrio entre os linfócitos T efetores inflamatórios e reguladores (Tregs) que iriam suprimir a resposta, provavelmente por um defeito no repertório e/ou função das células Tregs (Gonzalez, Gonzalez-Rey et al. 2009).

Alguns estudos destacam também a importância dos fatores ambientais na patogênese da DII (Thia, Loftus et al. 2008) mostrando que a doença pode ser desenvolvida em viajantes que migram para países com alta prevalência da mesma (Tsironi, Feakins et al. 2004). Além disso, em gêmeos monozigóticos, uma das crianças pode apresentar manifestações da doença dependendo do ambiente que habita (Halme, Paavola-Sakki et al. 2006).

1.1.2. Tratamento

A terapêutica utilizada atualmente para as DII é focada principalmente na redução da inflamação, tentando bloquear diferentes pontos da cascata imunológica (Lim and Hanauer 2004). Sendo assim, os tratamentos clássicos para as DII incluem amino-salicilatos, antibióticos, corticosteroides, tiopurinas, antagonistas do ácido fólico (metotrexato) e agentes biológicos como anti-TNF- α . Todos estes medicamentos têm diferentes alvos que contribuem para a regulação das respostas imunológicas exacerbadas tanto na DC como na UC (Sales-Campos, Basso et al. 2015).

O tratamento na DII também pode compreender duas abordagens terapêuticas diferentes conhecidos como estratégia *step-up* ou *top-down*. A primeira refere-se ao método clássico em que a intensidade do tratamento aumenta, juntamente com a gravidade da doença. Por outro lado, a estratégia *top-down* inclui o início precoce de tratamento intensivo, tais como terapias biológicas, a fim de evitar a ocorrência de complicações futuras (Lee 2012). No entanto, a escolha de uma destas diferentes abordagens pelo médico depende da capacidade de resposta do paciente a terapias anteriores, condição clínica e o diagnóstico. As opções de tratamento para UC ou DC diferem porque são entidades únicas com diferentes aspectos fisiopatológicos (Sales-Campos,

Basso et al. 2015). Além disso, as cirurgias são indicadas para casos mais graves ou com complicações e alguns pacientes requerem repetidas intervenções para combater as complicações da doença (Kozuch and Hanauer 2008). Ainda, as terapias atuais não são totalmente curativas, e os indivíduos podem ser refratários ou não responder aos tratamentos convencionais. Nestes casos, fica evidente a necessidade de novos estudos que visam melhor esclarecer os mecanismos da DII e assim buscar tratamentos mais eficazes ou novos alvos terapêuticos para tratamento da mesma.

1.1.3. Modelo experimental

Grande variedade de modelos experimentais é utilizada para o estudo da DII em camundongos, sendo que fatores genéticos podem diferenciar a gravidade da doença apresentada pelo modelo (Borm. and Bouma 2004). Camundongos C57BL/6 são bons modelos de DII induzida por dextran sulfato de sódio (DSS), desenvolvendo características patológicas semelhantes à doença em humanos (Yan, Kolachala et al. 2009). Sabe-se que o DSS se associa a ácidos graxos, tais como dodecanoato do lúmen intestinal para indução da colite (Laroui, Ingersoll et al. 2012) e que sua atividade inflamatória é conferida principalmente pelo dextran. Esta ideia é apoiada pelo fato de que quando o dextran entra no citoplasma, citocinas são sintetizadas, sinalizando para aumentar a inflamação intestinal e, assim, os efeitos deletérios do DSS são direcionados principalmente para o cólon distal (Laroui, Ingersoll et al. 2012). Porém, os mecanismos exatos que correlacionam a inflamação intestinal experimentalmente induzida por DSS, a desregulação do sistema imunológico e inflamação exacerbada que ocorre na DII humana ainda não são totalmente conhecidos.

Diferentes trabalhos mostram que durante a fase de indução da DII usando DSS, os animais apresentam índice grave da doença, com infiltração massiva de leucócitos polimorfonucleares no cólon (neutrófilos, eosinófilos e macrófagos) e níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias principalmente do perfil Th1 e Th17 (TNF- α , IL-6, IL-12, IFN- γ , IL-1 β e IL-17) (Yan, Kolachala et al. 2009). Já nos períodos de recuperação, há aumento acentuado dos mediadores anti-inflamatórios IL-10, IL-4 e TGF- β , que são essenciais para a

resolução de intestinal inflamação (Pelissier, Muller et al. 2006, Bento, Leite et al. 2012, Kim, Shajib et al. 2012, Mielke, Jones et al. 2013). Estes achados mostram que o padrão de resposta imunológica na inflamação intestinal induzida por DSS é muito semelhante com o que ocorre no humano, quando há o desenvolvimento principalmente a DC (Monteleone, Biancone et al. 1997, Parronchi, Romagnani et al. 1997, Fujino, Andoh et al. 2003, Yan, Kolachala et al. 2009).

1.2. Dehidroepiandrosterona (DHEA)

O dehidroepiandrosterona (DHEA) e seu conjugado de sulfato (DHEA-S) são os hormônios esteróides mais abundantes na circulação. São sintetizados pelas células da zona reticular das glândulas adrenais e pelas gônadas, a partir de moléculas de colesterol e precursores como 17-hidroxipregnenolona e a 17-hidroxiprogesterona (Endoh, Kristiansen et al. 1996). As formas livres do DHEA e DHEA-S são os principais andrógenos produzidos pela adrenal, sendo que pequenas quantidades de androstenediona e ainda menores quantidades de testosterona são também formadas (Endoh, Kristiansen et al. 1996).

DHEA-S é o esteróide mais abundante nos seres humanos com concentrações séricas de 250-500 vezes maior que o DHEA e serve principalmente como uma molécula precursora. DHEA-S é dessulfatado enzimaticamente para produzir DHEA, que por sua vez é convertido em vários compostos estrogênicos e androgênicos, sendo ainda que uma porção de DHEA produzido pode também ser convertido de volta à forma sulfatada (Kroboth, Salek et al. 1999, Tchernof and Labrie 2004). Logo, DHEA pode atuar como precursor de testosterona, estradiol, estrona e estriol, além de exercer importantes funções fisiológicas. O primeiro passo no metabolismo do DHEA é a conversão em DHEA-S, que é sua forma mais estável. Esta conversão é feita pela enzima sulfotransferase-DHEA que é codificada pelo gene SULT2A1. O gene SULT2A1 é altamente expresso na zona reticular do córtex adrenal, no intestino e no fígado. Além disso, pequenas doses de DHEA administradas oralmente são primeiramente metabolizados no fígado. O DHEA-S é transportado pela albumina e tem taxa de depuração metabólica mais lenta

com meia-vida mais longa do que o DHEA (Otterness and Weinshilboum 1994, Strott 2002). O DHEA pode ser encontrado no cérebro do humano e também pode ser convertido em DHEA-S neste órgão (Plassart-Schiess and Baulieu 2001, Warner and Gustafsson 2015). O DHEA-S, além de ser precursor para síntese de andrógenos e de estrógenos, também possui papel na esteroidogênese. Pesquisadores observaram que a incubação de células da suprarrenal de humanos (NCI-H295R) com DHEA-S aumentou significativamente a expressão do RNAm da proteína Star (proteína reguladora da esteroidogênese aguda). Sabe-se que a Star é responsável pela translocação de colesterol do citoplasma para dentro das mitocôndrias (Asif, Ljubojevic et al. 2006).

O hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) sintetizado na hipófise, estimula a síntese de DHEA e cortisol. Wolf e Kirschbaum (1999), descrevem evidências de que DHEA também pode ser sintetizada no cérebro, onde acredita-se que este hormônio aja sobre os receptores de neurotransmissores (Wolf and Kirschbaum 1999). Em particular, DHEA pode atuar como um antagonista do receptor de ácido gama-aminobutírico (GABA) (Majewska 1995, Espallergues, Mamiya et al. 2012), ativando o sistema nervoso central. Em mulheres, DHEA contribui para a obesidade abdominal e resistência à insulina. DHEA pode ter seus efeitos contrabalanceados na pré-menopausa, quando o estrógeno encontra-se com concentrações elevadas; porém no metabolismo pós-menopausa ocorre diminuição de DHEA e estrógeno (Ebeling and Koivisto 1994). Em adição aos efeitos imunomoduladores, muitas citocinas produzidas durante as respostas imunológicas também podem influenciar vários mecanismos neuroendócrinos, como a ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) como parte de uma reação inflamatória ou de defesa (Chrousos 1995, Besedovsky and del Rey 1996, Turnbull and Rivier 1999). Além de poder influenciar diretamente a atividade das glândulas adrenais (Ehrhart-Bornstein, Hinson et al. 1998, Bornstein and Ehrhart-Bornstein 2000) as citocinas inflamatórias podem estimular a síntese de corticotropina - hormônio liberador no hipotálamo, levando à liberação de ACTH pela hipófise e subsequente produção dos esteróides adrenais glicocorticóides (GC) e DHEA (Chrousos 1995, Besedovsky and del Rey 1996, Turnbull and Rivier 1999). Em concentrações fisiológicas, os GC são capazes de alterar a resposta

imunológica de um padrão de citocinas pró-inflamatórias para anti-inflamatórias, além de facilitar as respostas imunológicas humorais (Chrousos 1995, Besedovsky and del Rey 1996, Turnbull and Rivier 1999). Por outro lado, DHEA parece estimular as funções das células T auxiliares aumentando a capacidade e ativação destas células para produzir IL-2. Sendo assim, DHEA supostamente compensa os efeitos inibidores do GC na síntese de IL-2. Neste contexto, diversos trabalhos indicam que DHEA pode modificar a função de células imunológicas através da regulação da produção de citocinas tais como IL-2, IL-1, IL-6 e TNF (Boussiotis, Tsai et al. 2000, van Crevel, Karyadi et al. 2000). Ao mesmo tempo, DHEA parece exercer efeitos sinérgicos aos GC como anti-inflamatório (Dillon 2005, D'Attilio, Bozza et al. 2012). Este hormônio possui a capacidade de reduzir a ativação de leucócitos por meio da inibição de NF- κ B e ativação de receptores PPAR- α (Poynter and Daynes 1998). Além disso, é capaz de induzir a produção de IL-10 (Cheng and Tseng 2000), mediador essencial no controle das respostas exacerbadas como na DII.

A administração de DHEA também melhora as respostas imunes contra uma grande variedade de agentes patogênicos virais letais, infecções bacterianas e parasitárias, nas quais o efeito benéfico deste hormônio tem sido atribuído às suas propriedades imunomoduladoras (Bongiovanni, Mata-Espinosa et al. 2015, Gentilini, Velasquez et al. 2015). Por exemplo, a terapia com DHEA mostrou ser eficaz contra a infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi*, promovendo aumento das concentrações de NO, IL-12, IL-2 e IFN- γ (Santos, Toldo et al. 2008, Caetano, Santello et al. 2009, Zeckey, Hildebrand et al. 2010). Assim sendo, os efeitos potentes do DHEA têm sido demonstrados *in vitro* e *in vivo*. Sua administração melhorou as funções das células imunológicas durante a sepse experimental e após choque hemorrágico (Oberbeck, Nickel et al. 2002, Oberbeck, Deckert et al. 2007, Schmitz, Kobbe et al. 2010). No entanto, ainda não se sabe se o papel protetor de DHEA durante a inflamação sistêmica bacteriana é devido exclusivamente à sua atividade imunomoduladora ou se existem efeitos alternativos que explicariam o benefício clínico da administração de DHEA. Por outro lado, a administração subcutânea de DHEA levou à sobrevida aumentada dos animais com sepse e melhorou a função das células imunológicas (Schmitz, Kobbe et al. 2010). Zeckey e colaboradores (2010) demonstraram que a melhora da sepse após

administração de DHEA estava relacionada com a presença de células NK e produção de IL-6 (Zeckey, Hildebrand et al. 2010).

Níveis baixos de DHEA no soro estão associados a doenças inflamatórias, incluindo lúpus, artrite reumatóide e DII. Embora não se saiba especificamente se os níveis de DHEA são reduzidos antes ou depois do início da doença autoimune, estas observações sugerem que este hormônio está envolvido em vias de regulação que auxiliam na homeostasia do sistema (Sawalha and Kovats 2008). Neste contexto, DHEA-S também vem ganhando interesse nos últimos anos devido a seus efeitos benéficos sobre doenças como lúpus e colite ulcerativa, assim como a obesidade, câncer, doenças cardiovasculares e diabetes (Hanley and Arlt 2006). Em pacientes com lúpus eritematoso, o tratamento com DHEA (50-200 mg/dia) foi eficaz e induziu melhora dos sintomas da doença, além de redução modesta na excreção de proteína. Além disso, a necessidade de tratamento com corticosteróides foi diminuída e os efeitos colaterais do tratamento com DHEA foram supostamente leves (van Vollenhoven, Engleman et al. 1994, van Vollenhoven, Engleman et al. 1995, van Vollenhoven, Morabito et al. 1998, van Vollenhoven, Park et al. 1999, Chang, Lan et al. 2002, Petri, Mease et al. 2004). Ainda, a administração cutânea e oral de DHEA melhorou a dermatite atópica experimental, como visto pela redução da inflamação na pele (causada por infiltração de eosinófilos, mastócitos) e diminuição da produção de citocinas e quimiocinas associadas ao padrão de resposta Th2 (Chan, Liou et al. 2013).

O estresse oxidativo desempenha um papel importante na patogênese da DII (Grisham 1994) em humanos (Vendemiale, Grattagliano et al. 1999). A administração de DHEA em ratos exerceu efeito antioxidante significativo na colite induzida por DSS, através da redução do dano oxidativo em proteínas e lipídios. Isto resultou em aumento na quantidade de muco do cólon e melhora da função hepática, indicando que DHEA pode ser útil na prevenção ou no tratamento da colite (Pelissier, Trap et al. 2004, Pelissier, Muller et al. 2006). Ainda, sabe-se que a concentração de DHEA-S está diminuída em pacientes com DII (de la Torre, Hedman et al. 1998, Straub, Vogl et al. 1998, Andus, Klebl et al. 2003) e DHEA-S inibe a produção de IL-6 por monócitos do sangue periférico em humanos (Straub, Vogl et al. 1998).

Andus e colaboradores (2003) desenvolveram um estudo pré-clínico em pacientes com doença de Crohn refratária ativa ou colite ulcerativa e mostraram que o tratamento com DHEA foi seguro e eficaz. Os pacientes apresentaram diminuição no Índice de Atividade da DC e no Índice de Atividade Clínica da UC. Seis pacientes com DC e seis pacientes com colite ulcerativa entraram em remissão. Porém, neste primeiro estudo utilizando DHEA para o tratamento de pacientes com DII não foi incluído um grupo placebo, tampouco foram realizados exames endoscópicos ou avaliação do sistema imunológico. Logo, o efeito exato de DHEA não pode ser determinado, especialmente sua participação na modulação da resposta imune associada à doença intestinal (Andus, Klebl et al. 2003).

Neste contexto e embora existam relatos importantes sobre a participação do DHEA na modulação da resposta imunológica, ainda não se sabe exatamente o papel deste hormônio na resposta inflamatória exacerbada da DII. Dessa forma, com o intuito de entender o papel de DHEA na inflamação intestinal, realizamos experimentos *in vitro* e *in vivo* para inicialmente avaliar se este hormônio poderia de fato exercer influência sobre a regulação do sistema imune após quebra da barreira intestinal.

2. Justificativa

A inflamação grave causada pela DII pode levar a danos prolongados e irreversíveis na função e estrutura gastrintestinal, além de desencadear o desenvolvimento de outras doenças como câncer cólon-retal. Respostas imunológicas inflamatórias podem ser moduladas pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) por meio de interações neuroimunoendócrinas e secreção de cortisol. Este hormônio, assim como dehidroepiandrosterona podem ser produzidos pelas glândulas adrenais, sob estímulo do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), sintetizado pela hipófise. DHEA foi descrito como um importante modulador da resposta imunológica; porém os mecanismos precisos que podem relacionar as ações deste hormônio com a susceptibilidade ou proteção ao desenvolvimento da DII ainda não são conhecidos. Sendo assim, este projeto visa entender o papel imunomodulador do DHEA na inflamação intestinal induzida experimentalmente e na etiologia das DII, com o intuito de proporcionar bases científicas para o desenvolvimento futuro de novas terapias para a colite ulcerativa e/ou doença de Crohn.

3. *Objetivos*



3.1. Objetivo principal

Avaliar os efeitos do DHEA na modulação da resposta imune na inflamação intestinal induzida experimentalmente.

3.2. Objetivos específicos

3.2.1. Avaliar o papel imunomodulador do DHEA *in vitro*.

3.2.2. Avaliar o papel do DHEA na DII experimental por meio de análise clínica e histopatológica do desenvolvimento da inflamação intestinal.

3.2.3. Estudar os efeitos de DHEA no acúmulo de células e infiltrado inflamatório na colite experimental.

3.2.4. Avaliar o papel do DHEA na modulação da resposta imunológica relacionada ao desenvolvimento da colite por meio da avaliação da produção de citocinas em animais com colite tratados ou não com DHEA, com ênfase nas subpopulações de células Th1, Th2, Tregs e Th17.

7. *Conclusões*

- DHEA leva à inibição da proliferação das células imunológicas *in vitro* e *in vivo*.
- DHEA controla as respostas imunológicas sistêmica e local, melhorando os sinais clínicos e histológicos da inflamação intestinal e não apresentando efeitos tóxicos *in vivo*.
- DHEA regula a inflamação intestinal por meio da redução do acúmulo de células infiltrantes no intestino.
- DHEA contribui para a melhora da colite experimental por meio do balanço entre as respostas Th1/Th2/Th17 *in vivo*.