

Universidade de São Paulo
Instituto de Ciências Biomédicas
Departamento de Imunologia

Luís Eduardo Duarte Gonçalves

Papel da Dinâmica Mitocondrial em Queratinócitos e o Seu Impacto no
Desenvolvimento da Resposta Inflamatória em Modelos de Psoríase Experimental

São Paulo 2023

Luís Eduardo Duarte Gonçalves

Papel da Dinâmica Mitocondrial em Queratinócitos e o Seu Impacto no
Desenvolvimento da Resposta Inflamatória em Modelos de Psoríase Experimental

Período coberto pela dissertação de mestrado: 28/01/2021 – 02/05/2023

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção de
Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Imunologia Orientador: Niels Olsen Saraiva Câmara
Laboratório de Imunobiologia dos Transplantes

Versão Simplificada

São Paulo
2023

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato: Luís Eduardo Duarte Gonçalves

Título: Papel da Dinâmica Mitocondrial em Queratinócitos e o Seu Impacto no Desenvolvimento da Resposta Inflamatória em Modelos de Psoríase Experimental

Orientador: Niels Olsen Saraiva Câmara

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada a/...../....., considerou

() Aprovado () Reprovado

Examinador (a): Assinatura:

Nome:

Instituição:

Examinador (a): Assinatura:

Nome:

Instituição:

Presidente: Assinatura:

Nome:

Instituição:

Agradecimentos

Levarei meu tempo nestas singelas linhas para expressar com veemência minha gratidão por todo este processo acadêmico vivido nestes dois anos seguindo meu mestrado acadêmico. Inicialmente e, sempre, a Deus, os valores que me mantêm constante nos tempos erráticos e grato nos tempos de paz. Valores estes transferidos pelos meus pais, Maria Hilda Lelis Duarte Gonçalves e José Celso Gonçalves. Meus pais a quem eu devo minha gratidão, meu sucesso e todas as conquistas que tive nesta vida. Sou eternamente grato pela estrutura, pela constância, pelo suporte por todos os momentos em que, mesmo com poucas palavras trocadas, eu sinto coragem para seguir firme em meus objetivos. Sem minha estrutura familiar isso não seria possível. Nestes tempos, agradeço a toda ajuda do meu irmão, Paulo Henrique, e pelas conversas que por mais simples podem parecer, sempre são vitais para meu progresso. Agradeço aos meus padrinhos Ana Lúcia Duarte e Marcelo Lelis Duarte, os quais são meus segundos pais que também sempre estiveram presente da forma podiam. A todos meus primos que sempre estiveram via linhas telefônicas, em qualquer período do dia, para ouvir a uma palavra que eu precisasse desabafar. Cada um de vocês, Livia, Fernanda, Tatiane, Gustavo, Marília, Juliana, Bráulio têm um espaço muito importante neste momento da minha vida

Antes de São Paulo, externo a minha família, existem aqueles que somam anos de amizade e apoio. Minhas amigas Maria Isabel e Isabela, ao final desta dissertação, são 10 anos de amizade! Amigas, de todas as nossas conversas aqui estou em um fim de ciclo sobre todos que já encerramos. Obrigado por estarem sempre comigo, principalmente, na minha parte errática, obrigado pelo suporte. Mais uma das nossas realizações prometidas no nosso local típico de conversa. Meu amigo, Paulino, agradeço a todos os momentos em que você esteve comigo aqui em São Paulo ou por todas as vezes que conversarmos em nosso descanso, o escapismo, a brisa leve do interior sempre me revigorou para retomar ao meu principal objetivo, esta conquista é nossa. Além destes, agradeço a todos meus outros colegas e companheiros que também me auxiliaram neste processo.

São Paulo me proporcionou laços que fizeram da minha estadia única em São Paulo e, por mencionar único, tenho que começar pelo meu chefe ou “*Boss*”, Niels Olsen Saraiva Câmara. *Boss* eu gostaria de agradecer do fundo do meu coração por ter acreditado em mim, por ter dado a chance de um aluno de outro estado, fora da USP, poder estar sobre sua orientação e no seu laboratório.

Obrigado por todos caminhos acadêmicos abertos, por todas as oportunidades, por me confiar responsabilidades e por sempre me aconselhar e ter tempo de estar comigo sempre que tive meus momentos erráticos. Eu sei que daqui em diante, eu jamais acharei um orientador como você, pois este momento é único. Obrigado por me preparar para o mundo, obrigado pelo laboratório que você proporcionou. Mencionando o Laboratório de Imunobiologia dos Transplantes, é difícil explicar o prazer e felicidade que é estar no laboratório. A atmosfera é leve, é sempre convidativa e acolhedora. Gostaria de agradecer a todos os membros e ex-membros que me auxiliaram neste processo e todos os momentos felizes que tivemos juntos nestes dois anos, especialmente na pandemia. Gostaria de realizar um agradecimento em especial a Luisa, ao Dr. Jefferson, ao MSc Bruno, ao Dr. Paulo Basso, a Dra. Juliana, ao meu muito querido aluno de IC, Anthony, e a todos os outros membros que estiveram comigo. Vocês são os melhores companheiros de laboratório que eu poderia ter! obrigado pelo companheirismo, pela ajuda pessoal e científica, vocês são meus pilares e referências científicas. Agradeço também os meus amigos presentes da VI edição do Curso de férias, Ranieri, Sarah e Ísis. Vocês foram a minha segunda família em São Paulo, agradeço imensamente a todo o apoio que vocês me deram.

Agradeço imensamente à Universidade de São Paulo e ao departamento de Imunologia por me proporcionar a possibilidade de realizar um mestrado. Em conjunto agradeço a CAPES por todo o apoio financeiro neste processo. Agradeço também a AUCANI com o programa ERASMUS que me permitiu vivenciar uma cultura diferente no mestrado e passar três meses na Holanda. Tudo isto me formou como um cientista sério e capaz de atuar no campo. Agradeço a todos os técnicos presente no departamento que me auxiliaram neste processo, em especial para a Meire e o Mário. Agradeço aos professores do departamento que estavam sempre dispostos em aprimorar meus conhecimentos em Imunologia.

Por fim, creio que agradecer nunca é demais, todos presentes nesta linha muito obrigado por esta oportunidade. Levarei para sempre comigo todo o conhecimento e experiência proporcionado pelo programa.



Instituto de Ciências Biomédicas (Universidade de São Paulo)

Comissão de Ética no
Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Papel da dinâmica mitocondrial em queratinócitos e seu impacto no desenvolvimento da resposta inflamatória em modelos de psoríase experimental", protocolada sob o CEUA nº 2623131120 (ID 001819), sob a responsabilidade de **Niels Olsen Saraiva Câmara e equipe; Luís Eduardo Duarte Gonçalves; Meire Ioshie Hiyane** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Ciências Biomédicas (Universidade de São Paulo) (CEUA-ICB/USP) na reunião de 17/02/2021.

We certify that the proposal "The Role of Mitochondrial Dynamics in Keratinocytes and impact in the inflammatory response in models of experimental psoriasis", utilizing 30 Isogenics mice (30 males), protocol number CEUA 2623131120 (ID 001819), under the responsibility of **Niels Olsen Saraiva Câmara and team; Luís Eduardo Duarte Gonçalves; Meire Ioshie Hiyane** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Biomedical Sciences Institute (University of São Paulo) (CEUA-ICB/USP) in the meeting of 02/17/2021.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 02/2021 a 02/2023 (24 meses) Área: Imunologia

Origem: Biotério Central FMUSP

Espécie: Camundongos isogênicos

sexo: Machos

Peso ou idade: 8 a 10 semanas N: 30

Linhagem: C57Bl/6

São Paulo, 02 de maio de 2023

Prof. Dra. Luciane Valéria Sita
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Ciências Biomédicas (Universidade de São Paulo)

Prof. Dr. Francemilson Goulart da Silva
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Ciências Biomédicas (Universidade de São Paulo)



CERTIFICADO : EMENDA v31/01/2023

Certificamos que a EMENDA (versão de 31/01/2023) da proposta intitulada "Papel da dinâmica mitocondrial em queratinócitos e seu impacto no desenvolvimento da resposta inflamatória em modelos de psoríase experimental", CEUA nº 2623131120 (ID 052267), sob a responsabilidade de **Niels Olsen Saraiva Câmara e equipe; Meire Ioshie Hiyane; Luís Eduardo Duarte Gonçalves** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos vigentes para sua apresentação, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), sendo assim **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Ciências Biomédicas (Universidade de São Paulo) (CEUA-ICB/USP) em 04/04/2023.

Término previsto: **02/2023** : (24 meses).

Término previsto: **08/2023** : emenda de 22/03/2023 aprovada em: 04/04/2023 (+ 6 meses).

Origem: Biotério Central FMUSP

Espécie: Camundongos isogênicos

sexo: Machos

Peso ou idade: 8 a 10 semanas N: 0

Linhagem: C57Bl/6

ANIMAIS UTILIZADOS

		Quantidade Aprovada	Quantidade Utilizada
Camundongo geneticamente modificado (OGM)	Machos	60	0
Camundongos isogênicos	Machos	108	0

São Paulo, 02 de maio de 2023

Profa. Dra. Luciane Valéria Sita
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Ciências Biomédicas (Universidade de São Paulo)

Prof. Dr. Francemilson Goulart da Silva
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Ciências Biomédicas (Universidade de São Paulo)



Resumo

A psoríase é uma doença de caráter inflamatório que ocorre na pele, sendo caracterizada pelo desenvolvimento de eritemas derivados do processo inflamatório crônico e a hiperproliferação de queratinócitos na epiderme. Esta doença afeta cerca de 2-3% da população mundial e a qualidade de vida dos indivíduos que a portam, sendo mantidos em medicação constante durante o aparecimento dos sintomas. Além dos linfócitos Th17, queratinócitos participam da progressão da doença através da sua hiperproliferação e secreção de citocinas. O papel dos queratinócitos na psoríase ainda não é totalmente compreendido e, nesse contexto, alguns estudos têm sugerido o metabolismo mitocondrial desta célula como um modulador da resposta imune durante a progressão da psoríase. A mitocôndria é uma organela dinâmica que está em processo constante de fissão e fusão, o qual foi recentemente atrelado ao desenvolvimento de respostas inflamatórias. Neste contexto, nosso grupo explorou o metabolismo mitocondrial durante a progressão da doença e hipotetizou que a dinâmica mitocondrial está de queratinócitos impacta negativamente a progressão da doença. Neste contexto, objetivamos estudar em modelos humanos *in silico* e de forma experimental em modelos *in vitro* e *in vivo* esta hipótese. Para a condução de análises em humanos nós reanalisamos *datasets* de transcriptômica públicos. Em seguida, buscamos verificar os mecanismos em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*, nos quais utilizamos tratamentos com Mdivi-1 para verificar o perfil inflamatório e mitocondrial, visando estabelecer uma conexão entre estes dois parâmetros. Nossos resultados demonstram que, durante a progressão da doença, as mitocôndrias apresentam um perfil disfuncional e tendem a se fundirem em queratinócitos em modelos murinos. Além disso, estas células parecem aumentar sua biogênese mitocondrial nos grupos psoriáticos tanto em humanos quanto em modelos murinos de forma que este processo está relacionado com o perfil inflamatório destas células. Nossos dados contribuem para a caracterização metabólica do perfil mitocondrial de queratinócitos e demonstram sua associação com a inflamação presente na psoríase.

Palavras-Chave: psoríase, epiderme, fissão e fusão mitocondrial, inflamação, metabolismo

