

REGIANE CARVALHO PAES

Efeitos dos glicocorticoides na ativação glial induzida por interleucina 17 em células primárias hipocâmpais de camundongos

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

São Paulo
2022

RESUMO

PAES, RC. **Efeitos dos glicocorticoides na ativação glial induzida por interleucina 17 em células primárias hipocampais de camundongos.** 2022. 62 f. Dissertação de mestrado em farmacologia - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

A inflamação do sistema nervoso central (SNC) está relacionada ao desenvolvimento de doenças neurológicas, desmielinizantes e a mecanismos pró e anti-inflamatórios que podem induzir uma resposta imunológica neste sistema. A liberação de importantes citocinas pelas células gliais podem promover o progresso de doenças neurodegenerativas. A microglia é considerada um macrófago residente do SNC e em um ambiente com altos níveis de substâncias pró-inflamatórias elas podem assumir seu fenótipo ativo e aumentar ainda mais a liberação de substâncias inflamatórias. Os glicocorticoides (GCs), anti-inflamatórios utilizados na prática clínica mundial, são eficazes na modulação da inflamação em doenças inflamatórias e autoimunes, entretanto, algumas evidências mostram que esses hormônios também aumentam a produção de mediadores pró-inflamatórios, especialmente em regiões do SNC, como no hipocampo. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos dos GCs na ativação das células gliais induzida pela citocina pró-inflamatória, interleucina 17 (IL-17), bem como verificar seus efeitos deletérios sobre as células neuronais. Para tanto, utilizamos cultura primária de células hipocampais de camundongos neonatos C57BL/6 estimulada com IL-17, e simultaneamente tratadas com o glicocorticoide sintético dexametasona (DEX). Os resultados mostram que na presença de DEX as células do hipocampo apresentam perfil citotóxico, aumentando a expressão de marcadores inflamatórios, como a subunidade RELA de NF κ B (p65). Além disso, quando a resposta microglial é inibida não ocorre necessariamente a redução de marcadores inflamatórios, o que indica que a DEX, pode estar atuando por outras vias que não seja necessariamente as já descritas em literatura.

Palavras-chave: neuroinflamação, neurodegeneração, dexametasona, microglia e interleucina-17.

ABSTRACT

PAES, RC. **Glucocorticoids effects on interleukin 17-induced glial activation in mice hippocampal primary cells**. 2022. 62 f. Dissertação de mestrado em farmacologia - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Inflammation of the central nervous system (CNS) is related to neurological, demyelinating disease development and to pro- and anti-inflammatory mechanisms that can induce an immune response in this system. The release of essential cytokines by glial cells can promote the progress of neurodegenerative diseases. Microglia are considered the resident macrophage of the CNS, and in an environment with high levels of pro-inflammatory substances, they can assume their active phenotype and further increase the release of inflammatory substances. Glucocorticoids (GCs), the most used anti-inflammatory drugs in clinical practice worldwide, are effective in modulating inflammation in inflammatory and autoimmune diseases. However, some evidence shows that these hormones also increase the production of pro-inflammatory mediators, especially in CNS regions, such as the hippocampus. This study aimed to evaluate the GCs' effects on glial cell activation induced by the pro-inflammatory cytokine interleukin 17 (IL-17) and verify its deleterious effects on neuronal cells. We used primary hippocampal cells culture from C57BL/6 newborn mice stimulated with IL-17 and simultaneously treated with the synthetic glucocorticoid dexamethasone (DEX). The results show that in hippocampal cells, DEX is cytotoxic and increases the expression of inflammatory markers, such as the RELA subunit of NF κ B. In addition, when the microglial response is inhibited, there is not necessarily a reduction in inflammatory markers, indicating that DEX may act through other pathways that are not necessarily those already described in the literature.

Keywords: neuroinflammation, neurodegeneration, dexamethasone, microglia and interleukin-17.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Inflamação e sistema nervoso central

O sistema nervoso central (SNC) é um ambiente complexo e composto por diferentes estruturas e vias neuronais (LUDWIG et al., 2022). A inflamação nesse ambiente pode contribuir agravando diversas doenças neurológicas e desmielinizantes, caracterizadas por morte de populações de neurônios seletivamente vulneráveis e degeneração progressiva de regiões específicas, como as frontotemporais, espinocerebelares e extrapiramidais, resultando em distúrbios da matéria branca e atrofia da substância cinzenta (MEDELIN et al., 2018; DUGGER; DICKSON, 2017).

A neuroinflamação pode ser definida como a resposta imune inata do tecido neural (SKAPER et al., 2018). Frente a condições prejudiciais, como lesão do tecido ou entrada de um patógeno invasor, o processo neuroinflamatório é protetor e benéfico, gerando uma resposta aguda, transitória e autolimitada, cujos objetivos são sanar prejuízos e reestabelecer as funções do SNC (SOSHOCKA et al., 2017). Entretanto, em condições patológicas, onde estímulos danosos se mantêm persistentes e mecanismos de respostas falham, ocorre ativação e produção anormais de fatores inflamatórios, levando ao estado neuroinflamatório crônico e conseqüentemente às alterações neurodegenerativas (SOSHOCKA et al., 2017).

Nas últimas décadas, os distúrbios neurológicos tornaram-se uma das principais causas de incapacidade e morte em todo o mundo (DEUSCHL et al., 2020). Os números relacionados a esses distúrbios aumentaram consideravelmente e acredita-se que isto se dá por consequência da expansão populacional mundial, da vigilância epidemiológica e principalmente devido ao envelhecimento (VASCONCELOS et al., 2019). De forma geral, os distúrbios neurológicos foram classificados em 2015 como o segundo grupo de causa de mortes, compreendendo 16,8% das mortes globais (GBD, 2015). Entretanto, as doenças neurodegenerativas estereis, que não ocorrem por invasão de um patógeno específico, possuem múltiplos fatores causais e estão relacionadas com outros processos celulares que contribuem com a inflamação, o que dificulta a determinação específica da epidemiologia dessas doenças (FREEMAN et al., 2017; DUGGER; DICKSON, 2017).

É consenso na literatura que diversas doenças neurológicas apresentam relação com a neuroinflamação crônica e dentre elas destacam-se a doença de Alzheimer (DA), doença de Parkinson (DP), doença de Huntington (DH) e a Esclerose Múltipla (EM) (GLASS et al., 2010). A neurodegeneração leva a déficits motores e cognitivos graves, como o comprometimento de movimentos, da aprendizagem, de memória e, algumas vezes, à depressão (GHASEMI et al., 2017; HAUSER et al., 2006).

1.2 Participação das células gliais na neuroinflamação

A resposta inflamatória no SNC depende dos efeitos e da interação entre células gliais (YANG; ZHOU, 2018). As glias são as células mais abundantes e amplamente distribuídas no SNC. Elas interagem com os neurônios, células imunes e com os vasos sanguíneos (YANG; ZHOU, 2018; RANSOHOFF et al., 2016).

O grupo de células da glia é composto por microglias, astrócitos, oligodendrócitos e as células precursoras de oligodendrócitos (OPCs) (YANG; ZHOU, 2018). As microglias e os astrócitos são considerados a primeira linha de defesa contra patógenos e contra danos causados aos neurônios e oligodendrócitos (XU et al., 2020).

As microglias são células mieloides identificadas como macrófagos residentes do parênquima do SNC, compreendendo cerca de 10-15% de todas as células da glia (NAYAK et al., 2014). Elas possuem o papel de sentinelas, detectando a presença de substâncias nocivas no SNC, como íons, peptídeos, citocinas, vírus e bactérias, além de remover debris fagocitários (KIELIAN, 2006). Elas realizam a regulação das respostas de linfócitos T, por meio da apresentação de antígenos, além de liberarem citocinas e quimiocinas, que permite a comunicação celular (BECHER et al., 2017). Em relação a homeostase, a microglia regula a morte celular e a neurogênese, engolfa ativamente o material sináptico e desempenha um papel importante na poda sináptica durante o desenvolvimento pós-natal, conectando a vigilância da microglia à maturação sináptica (SKAPER et al., 2018).

No SNC, as células da glia expressam receptores de reconhecimento de padrões – PRRs (do inglês, *pattern recognition receptors*) capazes de reconhecer diversos PAMPS (do inglês, *pathogen-associated molecular pattern*), ou padrões

moleculares associados ao dano – DAMPs (do inglês, *danger-associated molecular pattern*) e iniciar a resposta inflamatória (KIGERL, et al., 2014).

A resposta inflamatória e o desequilíbrio causado no SNC proveniente da presença de PAMPs ou DAMPs, como fragmentos celulares, organelas, células e macromoléculas danificadas derivados do hospedeiro (GLASS et al., 2010; SOSHOCKA et al., 2017), ativam receptores específicos como TLRs (do inglês, *Toll like receptor*) e NLRs (do inglês *Nod-like receptors*) que dependem da resposta e de sua ampliação pelas células gliais (TANG et al., 2012; SOSHOCKA et al., 2017). Esse processo pode ser ampliado por meio da liberação de citocinas, quimiocinas, espécies reativas de oxigênio – ROS (do inglês, *reactive oxygen species*) e mediadores pró-inflamatórios pelas células gliais reativas, acelerando a neurodegeneração (TAKATA et al., 2021; SOSHOCKA et al., 2017).

As microglias expressam diversos tipos de TLRs, do TLR1 ao TLR9, que reconhecem diversos PAMPs e agonistas endógenos específicos (KIELIAN, 2006; FIEBICH et al., 2018). Diferentes estímulos podem levar ao aumento da expressão de TLRs na microglia, tais como hipóxia, endotoxina bacteriana como o lipopolissacarídeo – LPS, ácido cálcico, proteína α -sinucleína e peptídeo β -amiloide (FIEBICH et al., 2018; KIELIAN, 2006).

A plasticidade da microglia é complexa e seus estados de ativação são dependentes de estímulos, não possuindo uma classificação estática, e sim espectral, quanto ao seu fenótipo. Comumente, os estados de ativação são determinados em dois subtipos, o M1 (clássico e pró-inflamatório) e o M2 (polarizado e neuroprotetor) (SKAPER et al., 2018). Estudos de Peferoen et al. (2014) demonstram que a microglia expressa um estado de ativação intermediário em todas as lesões pré-ativas e remielinizantes da EM e apresentam distintos perfis em lesões ativamente desmielinizantes, reforçando a hipótese de que a ativação da microglia é um processo dinâmico (PEFEROEN et al, 2014; SKAPER et al, 2018).

No estado M1, a microglia promove a inflamação por meio da produção e liberação de vários fatores e citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α (do inglês, *tumor necrosis fator-alpha*), IL-1 β (do inglês, *Interleukin 1 beta*), e IL-6 (do inglês, *Interleukin 6*) e ativação de receptores de quimiocinas, como exemplo, o CX3CR1, (do inglês, *C-X3-C Motif Chemokine Receptor 1*) (PAWLUK et al., 2020, ORIHUELA et al., 2016), atraindo outras células, como os astrócitos, levando a ativação de caspases e,

consequentemente, à apoptose (SOSHOCKA et al., 2017; CHUN LUO et al., 2017; ARAS et al., 2012). Quanto ao fenótipo regulatório ou supressor, M2, a microglia produz uma gama de mediadores, como as citocinas anti-inflamatórias, facilitando a resolução da inflamação e reestabelecendo a homeostase (ORIHUELA et al., 2016).

A liberação de citocinas pela microglia, como o TNF- α e IL-1 β , é de fundamental relevância para função sináptica e excitabilidade neuronal, pois essas substâncias podem modular a expressão e / ou as propriedades dos canais sinápticos, que por sua vez regulam a expressão de moléculas importantes para a plasticidade sináptica, como o fator de transcrição CREB (proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc), influenciando assim as funções de memória e cognição (PRADA et al., 2018). Alguns estudos mostram que o aumento de citocinas pró-inflamatórias no hipocampo, região responsável pela formação e consolidação de memória, gera prejuízos em sua função (BARRIENTOS, 2011) e, que a sinalização via TLR nas células gliais nesta região modula a degeneração axonal. Um estudo com camundongos MyD88-KO (fator de diferenciação mieloide 88/ KO (do inglês, *knockout*) e TLR2-KO mostrou uma redução no número de microglias e células T, que geralmente apresentam-se aumentados após a lesão, na região do hipocampo desses animais, sugerindo um papel importante dos TLR2 na condução da resposta inflamatória microglial após lesão no SNC (ESEN; KIELIAN, 2006).

A ligação de PAMPs ou DAMPs aos PRRs levam à ativação de quinases e de fatores de transcrição, como a ativação da via das proteínas quinases ativadas por mitógeno - MAPK (do inglês *mitogen activated protein kinases*), que controlam as atividades de fatores de transcrição, por exemplo, o fator nuclear *kappa* B (NFKB, do inglês *factor nuclear kappa B*) e da proteína ativadora 1 (AP-1, do inglês *activator protein 1*), que podem proporcionar o aumento na transcrição de citocinas pró-inflamatórias e expandir a resposta imune inata (DE BOSSCHER et al., 2003).

Os DAMPs, em particular, são reconhecidos pelos NLRs. Os representantes da família dos NLRs, NOD1 e NOD2, também são responsáveis por induzir respostas imunológicas dependentes de NFKB (KIM et al., 2016). A maioria dos NLRs encontram-se no citoplasma e sua ativação resulta na liberação das interleucinas IL-1 β e IL-18, que contribuem para o processo da neuroinflamação, podendo, posteriormente, funcionar como um DAMP e induzir a formação de complexos proteicos de oligômeros, o inflamassoma (DAVIS et al., 2011).

1.3 Interleucina-17 e as doenças neuroinflamatórias

Desequilíbrios na produção de citocinas pró e anti-inflamatórias são verificados no SNC de pacientes com doenças neurodegenerativas e estão correlacionados com a gravidade e desenvolvimento dessas patologias (MORRIS et al., 2018; BRANDÃO et al., 2005).

As interleucinas IL-6, IL-21, IL-23, o fator de transformação de crescimento beta - TGF- β (do inglês, *transforming growth factor beta*) e os fatores de transcrição - STAT3 (do inglês, *signal transducers and activators of transcription 3*); ROR γ t e ROR α (do inglês, *ROR -related orphan receptor C- related orphan receptor gamma and alpha*) estão envolvidos especificamente na diferenciação dos linfócitos Th17 (KORN et al., 2009). As células Th17 produzem muitas citocinas pró-inflamatórias, como as interleucinas IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22 e IL-26 (GHASEMI et al., 2017), que estão envolvidas em diversas patologias.

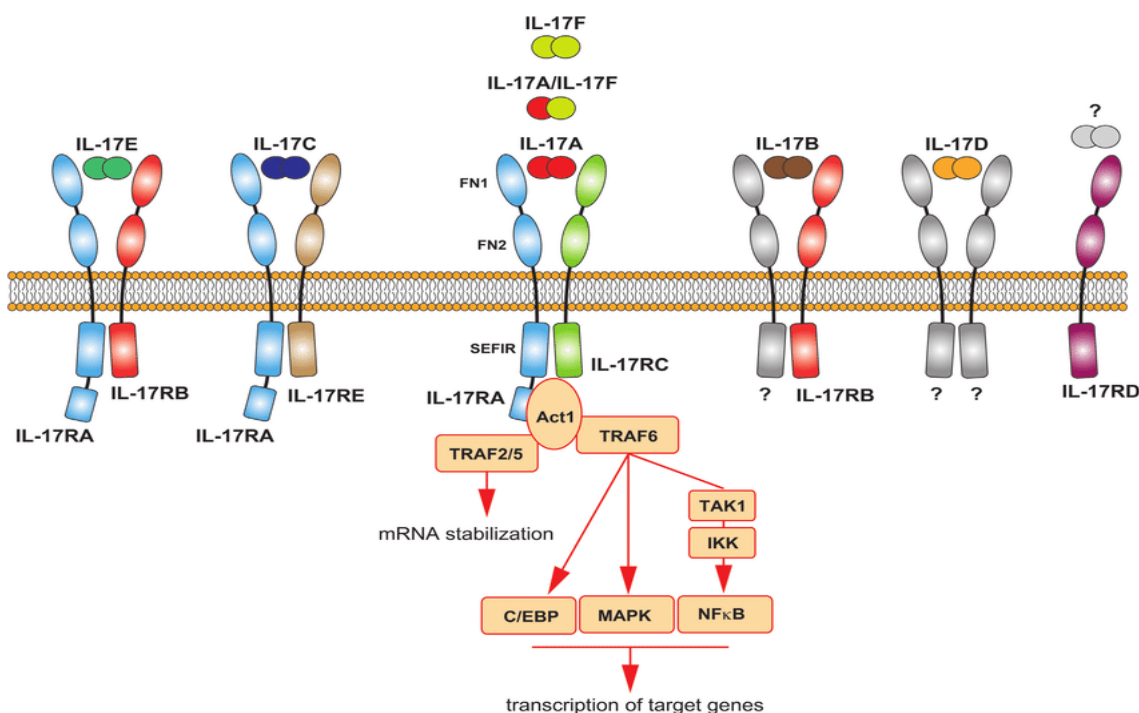
A interleucina 17 (IL-17) está envolvida na patogênese de doenças autoimunes humanas e animais, como na psoríase e na artrite reumatoide, bem como nas respostas imunes específicas de alérgenos, como na asma (WANG & WILLS-KARP, 2011). As concentrações de IL-17 são elevadas em doenças do SNC, como em doenças do neurônio motor e EM (MILOVANOVIC et al., 2020). Além disso, a IL-17 foi implicada em outros processos neuroinflamatórios não imunes, incluindo acidente vascular cerebral, isquemia, lesão de nervo periférico e infecções cerebrais virais e bacterianas (MILOVANOVIC et al., 2020). Em resumo, a IL-17 é expressa em processos imunes inatos e adaptativos do SNC e parece constituir uma citocina neuroinflamatória intrínseca (KANG et al., 2012; MILOVANOVIC et al., 2020).

Além das células Th17, a IL-17 também é produzida por células T CD4⁺ e secretada por células *natural killers* (NK), células T CD8⁺ e células T $\gamma\delta$ (IWAKURA, et al., 2008). A IL-17A é a principal citocina da família IL-17, que inclui IL-17A a IL-17F (GAFFEN et al., 2006).

Os receptores para a família IL-17 são de 5 subtipos: IL-17RA, RB, RC, RD e RE. Basicamente, a sinalização a jusante de IL-17R medeia a ativação de NF κ B e da MAPK, levando à produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias e subsequente recrutamento de células mieloides para o tecido inflamado (GU et al., 2013). Acredita-se que a IL-17 sinalize por meio de um complexo receptor

heterodimérico composto por IL-17RA e IL-17RC (**Figura 1**) (TOY et al., 2006; GU et al., 2013). Na porção C-terminal dos receptores para IL-17 existe uma região conhecida como o domínio SEFIR, que está relacionada ao domínio TIR (receptor Toll/Interleucina-1) em TLRs e IL-1Rs e está presente na proteína citosólica Act1 (ativador de NFκB). Esta proteína ativa o complexo enzimático IKK quinase (do inglês, *I kappa B kinase*), que fosforila a proteína IκB e, portanto, permite a ativação do NFκB (GU et al., 2013). Dessa forma, a deficiência de Act1 resulta na perda da ativação de NFκB dependente de IL-17 e da produção de citocinas pró-inflamatórias (GU et al., 2013). Ainda, após a estimulação de IL-17, Act1 é recrutado para IL-17R através do domínio SEFIR, seguido pelo recrutamento da quinase TAK1 e E3 ubiquitina ligase TRAF6 que medeia a ativação do NFκB (GU et al., 2013).

Figura 1. Família de citocinas IL-17 e seus receptores.



A região extracelular contém dois domínios do tipo fibronectina III (FN) que medeiam as interações proteína-proteína e a ligação do ligante. A região citoplasmática (C-terminal) contém o domínio SEFIR, relacionado ao domínio TIR (receptor toll/interleukin-1). A proteína citoplasmática, Act1, também contém um domínio SEFIR, na ativação do ligante, Act-1 ativa vias de sinalização independentes, funcionando como estação de ancoragem para proteínas TRAF. Uma cascata de interações moleculares é ativada após o recrutamento de TRAF6 e sua ubiquitinação, levando à fosforilação e degradação proteossomal de IκB, permitindo a translocação nuclear de NFκB e a ativação de genes NFκB direcionados. TRAF6 também está associado à ativação de vias MAPK, incluindo ERK, p38 e JNK, e moléculas C/EBP. Ao recrutar TRAF2/5, o Act-1 favorece estabilização do mRNA alvo. **Fonte: Brembilla et. al. The IL-17 Family of Cytokines in Psoriasis: IL-17A and Beyond (2018).**

Em relação à neuroinflamação, foi mostrado que a deficiência de Act1 resulta em redução da gravidade da EAE (KOMIYAMA et al., 2006) e camundongos Act1, IL-17A e IL-17RC-KO acometidos com EAE exibiram diminuição da desmielinização, acúmulo microglial e infiltração de leucócitos em comparação com os camundongos de tipo selvagem (KOMIYAMA et al., 2006). Ainda, as células Th17, assim como Th2, também expressam o TLR4. A diferenciação das células Th17 é iniciada pelas citocinas IL-1 β e IL-6 via ativação do TLR4 (QU et al., 2019). O grupo de Qu e colaboradores observou que a subunidade RELA-NFKB ativada por TLR4, pode se ligar diretamente aos locais de ligação da transcrição e regular negativamente a expressão do miR-30a, um regulador negativo da diferenciação Th17 (QU et al., 2019). Especificamente, a subunidade RELA promove a diferenciação de Th17 ativando diretamente a expressão de Ror γ t. Além disso, o silenciamento do fator de diferenciação MyD88, um importante fator de ativação de NFKB, via sinalização do TLR4, leva à diminuição do número de células Th17, à diminuição da inflamação do SNC e à melhora da EAE (QU et al., 2019).

O grupo de Lalor et al. (2011) observou que a citocina IL-18 (situada a jusante do NLRP3) induz a produção de IL-17 pelas células T $\gamma\delta$, que expressaram altos níveis de receptor de IL-18 (IL-18R), promovendo inflamação e desmielinização no SNC de camundongos EAE (LALOR, et al., 2011). O grupo de Kang et al., 2012, observou que o tratamento com cuprizona, direta ou indiretamente, ativou o inflamassoma NLRP3, resultando na liberação de IL-18 e IL-1 β , que induziram a produção de IL-17 por células T infiltrantes do SNC. A IL-17 por sua vez atuou nas células residentes do SNC, amplificando a cascata inflamatória e contribuindo para a morte celular de oligodendrócitos e com a desmielinização (KANG et al., 2012).

1.4 Glicocorticoides e neuroinflamação

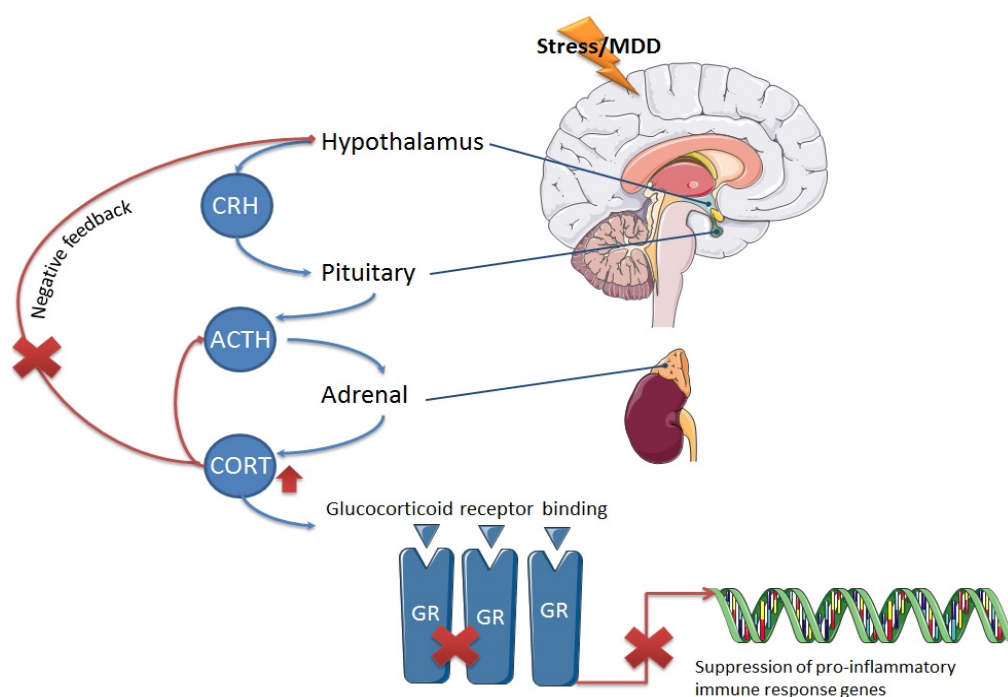
Os glicocorticoides (GCs) são hormônios esteroides secretados pelas glândulas suprarrenais com funções fisiológicas importantes na manutenção da homeostase basal, sendo essenciais para a regulação das respostas metabólicas e imunes (CRUZ-TOPETE et al., 2015; OAKLEY et al., 2013; SEVILLA & PERÉZ, 2019).

Os GCs são liberados na circulação sanguínea na sua forma ativa, cortisol em humanos e corticosterona em roedores, em resposta a um estímulo estressor (CRUZ-

TOPETE et al., 2015; OAKLEY et al., 2013; MATURANA et al., 2016). A liberação de GCs endógenos acompanha o ciclo circadiano, onde sua regulação padrão tem pico no período de atividade do organismo e está sob o controle do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). Após um estímulo estressor, incluindo um patógeno por exemplo, o hipotálamo libera o hormônio liberador de corticotrofina - CRH (do inglês, *corticotropic releasing hormone*) que atua sobre a glândula adeno-hipófise estimulando a liberação de ACTH (adrenocorticotrofina) para circulação sistêmica. Por conseguinte, o ACTH age sob a glândula suprarrenal que, por fim, libera cortisol (**Figura 2**) (DICKMEIS et al., 2009).

Os GCs ligam-se preferencialmente aos seus receptores mineralocorticoides (MR) de alta afinidade, que são ocupados quando há baixas concentrações de GCs (FERGUSON & SAPOLSKY, 2007) e aos receptores de glicocorticoides (GRs) de baixa afinidade, ocupados por GC em níveis elevados (MATURANA et al., 2016).

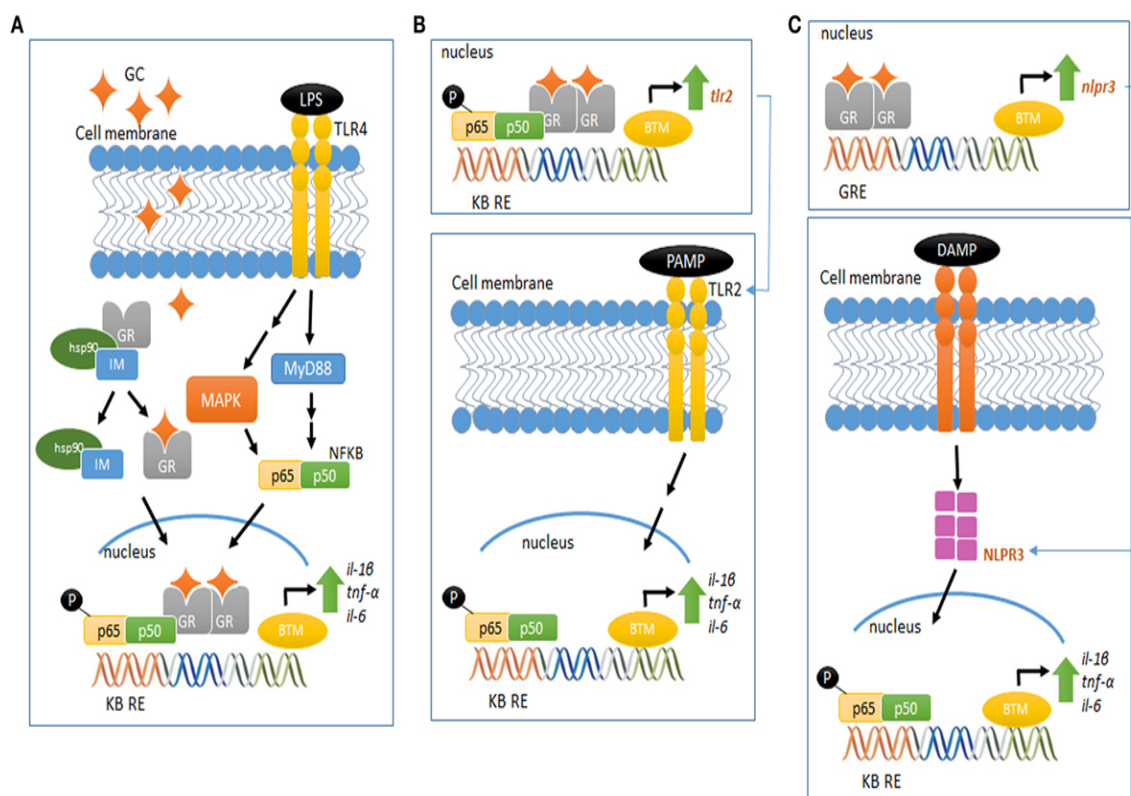
Figura 2. Representação esquemática do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA).



Neurônios hipofisiotrópicos sintetizam o hormônio liberador de corticotrofina (CRF) em resposta ao estímulo estressor. O CRF atinge a glândula hipofisária anterior, onde se liga a receptores específicos induzindo a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na circulação sistêmica. O ACTH circulante se liga ao receptor específico no córtex adrenal, onde estimula a síntese e a secreção de glicocorticoides na circulação sistêmica. Os glicocorticoides regulam eventos fisiológicos e inibem a ativação adicional do eixo HPA (linhas vermelhas) por meio de receptores intracelulares amplamente distribuídos por todo o cérebro e tecidos periféricos. **Fonte: Dollin et. al. Diurnal Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Measures and Inflammatory Marker Correlates in Major Depressive Disorder (2017).**

Em repouso, os receptores nucleares, MR ou GR, permanecem associados às chaperonas HSP90, HSP70 e p23. Quando o ligante está presente no receptor, ocorre o desligamento das chaperonas e a formação de dímeros, que migram para o núcleo celular, onde se ligam às sequências consenso específicas do DNA, os elementos responsivos aos glicocorticoides (GRE), e agem como fatores de transcrição, gerando seus efeitos transcrpcionais clássicos. Os sítios GRE podem ser positivos, aumentando a transcrição de genes alvo, ou negativos (nGRE), inibindo a transcrição de genes pró-inflamatórios, como a β -arrestina 2 e osteocalcina. Uma outra via é por composição, chamada de *thetering*, onde os GCs ligam-se diretamente a outros fatores de transcrição, tais como NF κ B e AP-1, para modulação da transcrição de genes pró e anti-inflamatórios de maneira GRE-independente (**Figura 3**) (CRUZ-TOPETE et al., 2015; OAKLEY et al., 2013; SORRELS et al., 2009). Entre esses genes estão aqueles que codificam citocinas, quimiocinas, ciclooxigenase-2 e óxido nítrico sintase induzível (DE BOSSCHER et al., 2003). Os GCs também podem agir por via não genômica, por meio de ligações cruzadas com outras vias de sinalização e fatores de transcrição, como as MAPK e STAT3, respectivamente (DE BOSSCHER et al., 2003).

Figura 3. Modulação de vias pró-inflamatórias mediada por GCs.



(A) PAMPs (como LPS) se liga a receptores do tipo toll (TLR4) e ativa a via da MAPK, NFKB e aumentando a expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , TNF- α e IL-6). A exposição elevada e prolongada ao GC aumenta e potencializa a resposta pró-inflamatória relacionada à via MAPK-NFKB. (B) A ativação de GR regula a expressão gênica e proteica de TLR2, que reconhece PAMPs. Esse evento recruta proteínas intracelulares, levando à ativação da sinalização downstream de NFKB, aumentando a expressão de citocinas inflamatórias, incluindo IL-6, TNF- α e IL-1 β . (C) A ativação de GR regula a expressão gênica e proteica de NLRP3, que reconhece DAMPs e regula a resposta do sistema imune em um mecanismo semelhante ao proposto em (B).
Fonte: Duque & Munhoz. *The Pro-inflammatory Effects of Glucocorticoids in the Brain* (2016).

O tratamento terapêutico com GCs tem sido realizado desde a década de 50, quando os médicos Edward Calvin Kendall, Tadeus Reichstein e Philip Showalter Hench foram laureados com o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina pelo isolamento e primeiro uso terapêutico desses hormônios (NOBEL LECTURE, 1950). Desde então, os GCs são mundialmente prescritos e altamente eficazes na modulação da inflamação e da resposta imunológica em pacientes com doenças inflamatórias, autoimunes e alérgicas (CRUZ-TOPETE et al., 2015; BOSSCHER et al., 2003; KADMIEL et al., 2013; CHANTONG et al., 2012).

Dentre os principais GCs utilizados na clínica estão a prednisolona, metilprednisolona e dexametasona (DEX) (GENSLER et al., 2012), que apresentam pouco ou nenhum efeito nos MR (WHITE et al., 2018). Apesar de serem eficazes,

muitos efeitos adversos de gravidade variável estão relacionados com o uso dos GCs, como síndrome metabólica, osteoporose e comprometimento do crescimento infantil (SEVILLA & PERÉZ, 2019). O surgimento de efeitos adversos pode estar associado com a desregulação do eixo HPA, ocasionada por um longo período de tratamento e altas doses (BRUNER et al., 2005; DI FILLIPO et al., 2016).

Evidências crescentes, incluindo do nosso grupo de pesquisa, indicam que concentrações elevadas de GCs endógenos, provenientes do estresse e do envelhecimento por exemplo, podem estimular a inflamação, aumentando a produção de mediadores pró-inflamatórios e promovendo o estresse oxidativo (CHANTONG et al., 2012; MUNHOZ et al., 2006; MUNHOZ et al., 2010). Em culturas primárias de hipocampo de ratos, foi possível observar que a alta concentração de corticosterona aumentou a ativação de NFkB e a liberação de IL-1 β , que por conseguinte, promoveram a diminuição da neurogênese, simulando um estado neuroinflamatório (KOO et al., 2010).

Acredita-se que assim como altas concentrações de GCs endógenos, ocasionados por longos períodos de estresse, o uso de GCs sintéticos em altas doses e por longos períodos afetam funções celulares e contribuem com a neuroinflamação. A administração pré-natal de DEX por exemplo, afeta a maturação neuronal e glial, além da síntese de mielina, podendo culminar na morte de neurônios (MATURANA et al., 2016). A exposição a altas concentrações de GCs no início da vida também contribui para um estado neuroinflamatório, pois, induzem uma rápida desgranulação de mastócitos, que liberam moléculas pró-inflamatórias e promovem a ativação da microglia e astrócito no SNC (MATURANA et al., 2016).

Os GCs estão envolvidos na modulação da ação celular, como das microglias e astrócitos, durante a inflamação no SNC. Nas microglias, MR e GR são co-expressos na presença de 11 β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 1 (11 β -HSD1), que converte 11-desidrocorticosterona e cortisona inativas em corticosterona/cortisol ativos (CHANTONG et al., 2012). Frank et al. (2014) mostraram que apesar do seu papel imunossupressor, a corticosterona pode estimular a microglia na região do hipocampo, potencializando a resposta neuroinflamatória (FRANK et al., 2007; FRANK et al., 2014).

Dados do nosso laboratório vem mostrando que concentrações elevadas de corticosterona ou a exposição ao estresse crônico imprevisível também exacerbam

parâmetros pró-inflamatórios induzidos por LPS, tais como a ativação de NF κ B e a produção de IL-1 β e TNF- α , no córtex frontal e hipocampo de ratos (MUNHOZ et al., 2006; MUNHOZ et al., 2010) e em modelos de morte neuronal induzidos por ácido caínico ou por isquemia cerebral (SORRELS et al., 2009). Nesse último trabalho ficou evidenciada a importância da microglia na mediação dos efeitos pró-inflamatórios dos GCs (SORRELS et al., 2009).

O desenvolvimento de transtornos de humor também tem sido apontado por alguns estudos como consequência dos efeitos deletérios da neuroinflamação, associados às doenças neurodegenerativas e autoimunes. Colasanti et al. (2016) hipotetizou que as respostas imunes inatas são responsáveis pelo desenvolvimento de sintomas depressivos associados à EM. O grupo concluiu que a ativação microglial no hipocampo prejudica as conectividades funcionais do cérebro em regiões que contribuem para a manutenção de um estado afetivo normal (COLASANTI et al., 2016).

Um estudo do nosso laboratório explorou a influência da DEX na progressão de déficits cognitivos induzidos pela EAE. Embora a DEX tenha reduzido os escores clínicos motores, ela não evitou os déficits de consolidação da memória (DOS SANTOS et al., 2019). O aumento na atividade do GR e a diminuição da expressão da proteína de resposta ao crescimento inicial 1 - EGR-1 (do inglês, *Early growth response protein 1*) no hipocampo, sugerem que a DEX pode diminuir a capacidade cognitiva e de memória, devido a diminuição da atividade neuronal (DOS SANTOS et al., 2019).

A busca pelo desenvolvimento de terapias mais seguras baseadas nos GC tem direcionado estudos para um maior esclarecimento de efetores anti-inflamatórios a jusante da sinalização desses hormônios (SEVILLA & PERÉZ, 2019). Por exemplo, o GR induz genes que codificam mediadores anti-inflamatórios como a proteína GILZ (do inglês *Glucocorticoid-induced leucine zipper*), que suprime as respostas Th17 e antagoniza vias de sinalização pró-inflamatória, como as vias que envolvem AP-1, NF κ B, STAT3 e ROR- γ t, relacionadas a psoríase e EM (SEVILLA & PERÉZ, 2019). Em células Th17, a GILZ limita a diferenciação ao se ligar nas regiões promotoras e inibir a expressão de citocinas, além de outros fatores de transcrição ligados a Th17, como STAT3, e o principal indutor de diferenciação dessa linhagem celular, ROR- γ t (SEVILLA & PERÉZ, 2019). Outras ações anti-inflamatórias de GILZ são mediadas

por meio de interações proteína-proteína com os fatores de transcrição NFκB e AP-1, impedindo a translocação nuclear, a ligação ao DNA e a regulação da expressão gênica. Além disso, o GILZ pode se ligar a proteínas quinases, inibindo a fosforilação de quinases reguladas por sinal extracelular - ERK1 / 2 e suprimindo a via MAPK (SEVILLA & PERÉZ, 2019).

Por outro lado, a resistência aos GCs representa um problema importante no tratamento de quadros de inflamação crônica, como asma, artrite reumatoide, doença de Crohn, fibrose cística, entre outras (CHANTONG et al., 2012) e o tratamento com altas doses de GCs pode alterar a estrutura do receptor GR e induzir um fenótipo resistente (MCWEN et al., 2001; MANGARINOS et al., 2000; SORRELS et al., 2009). No trabalho de Paugh et al. (2016) foi observado que a resistência aos GCs resultava no aumento da transcrição de NLRP3 (NACHT, LRR e proteína contendo 3 domínios PYD) e consequente ativação do inflamassoma e clivagem mediada pela caspase-1. Esse estudo é importante, porque mostra a probabilidade do desenvolvimento de compostos farmacológicos inibidores de caspase-1 que sejam capazes de diminuir a resistência aos GCs (PAUGH et al., 2016).

Diante das evidências cada vez mais contundentes sobre a influência dos GCs no processo neuroinflamatório, torna-se importante o estudo da atuação deste hormônio em populações celulares residentes do SNC e as vias de sinalização moduladas pelo GCs que levam a formação e secreção de substâncias pró-inflamatórias, como as citocinas por parte da microglia, e como a resposta glial está envolvida na resposta pró-inflamatória envolvendo os GCs. Neste trabalho hipotetizamos que a DEX, quando utilizada em altas concentrações e concomitante ao desafio com IL-17, exacerba a resposta pró-inflamatória em células gliais ocasionando efeitos deletérios em neurônios e demais células hipocampais.

regulador negativo da neurogênese no giro denteado do hipocampo de camundongos adultos. Em seus estudos, estes autores verificaram que na deleção da IL-17 ocorre o aumento de neurônios no giro denteado. Além disso, descobriram que a ausência da IL-17 reduz a expressão de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IFN- γ . A deleção também facilitou a transmissão sináptica excitatória basal, aumentou a excitabilidade neuronal intrínseca e aumentou a expressão de genes pró-neuronais, em células progenitoras neuronais. Sugerindo um importante papel da IL-17 na regulação negativa da neurogênese do hipocampo adulto em condições fisiológicas (LIU et al., 2014).

No trabalho de Yang et al. (2018) foi analisado a via de sinalização de NF κ B a jusante de IL-17A. Nesse trabalho foi verificado que os níveis de expressão de IL-17A, RELA-NF κ B, iNOS e COX-2 aumentaram significativamente no hipocampo de ratos idosos induzidos pelo anestésico sevoflurano. Da mesma forma, esse aumento foi revertido com anti-IL-17A, sugerindo a importância desta citocina na ativação de NF κ B no hipocampo. A hipótese levantada pelos autores foi que a IL-17 promoveria a ligação de Act1 (um ativador de NF κ B) e IL-17R por meio da interação dos domínios SEFIR-SEFIR, para induzir a ativação do sinal a jusante de NF κ B. Na lesão de tecido do SNC, a IKK fosforilaria a proteína I κ B, e então os dímeros de NF κ B migrariam para o núcleo, se ligariam aos promotores de IL-6 e TNF- α e promoveriam a transcrição desses fatores inflamatórios. Além disso, as ROS produzidas durante o estresse oxidativo poderiam inibir a liberação de I κ B e ativar o NF κ B, induzindo a transcrição das citocinas iNOS e COX-2. Por sua vez, a iNOS ativada poderia aumentar a síntese de NO, que seria deletéria para as células neurais e causaria a morte celular (YANG et al., 2018).

7 CONCLUSÕES

A neuroinflamação é observada em diversas patologias, grande quantidade de indutores inflamatórios são conhecidos e muitos estão presentes no SNC.

Os glicocorticoides sintéticos são amplamente utilizados na prática clínica, porém alguns estudos apontam para seus efeitos antagônicos ao aumentar a expressão de alguns indutores inflamatórios.

Os resultados obtidos no nosso estudo mostraram que as células de culturas mistas hipocampais são suscetíveis aos efeitos deletérios dos GCs sob estímulo

inflamatório da IL-17, pois a viabilidade dessas células se apresentou consideravelmente diminuída quando essas células foram expostas ao tratamento de DEX e IL-17. Assim como ocorreu um aumento na expressão de p65 por parte dessas células.

De grande importância em nossos achados, são os efeitos de DEX causados nas células enriquecidas de neurônios, que parecem ser independentes da resposta microglial, mesmo essa resposta se mostrando essencial frente a um estímulo inflamatório.

Diante dos dados obtidos faz-se necessário pesquisas mais detalhadas a respeito dos marcadores de proteção neuronal, quando sobre efeito do tratamento com DEX.

Como observamos nos últimos anos de pandemia, a DEX é um GC sintético versátil e seu uso é indispensável para estabilidade de diversas doenças, nosso grupo vem estudando constantemente o efeito dos glicocorticoides e seus efeitos moduladores em seus receptores, com o objetivo de ampliar nosso conhecimento e obter respostas a nível molecular que possam nos trazer respostas positivas e efetivas nos tratamentos de doenças neuroinflamatórias e tantas outras.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

AHLEMEYER, B.; BAUMGART-VOGT, E. Optimized protocols for the simultaneous preparation of primary neuronal cultures of the neocortex, hippocampus and cerebellum from individual newborn (P0.5) C57Bl/6J mice. **J Neurosci Methods.**, v. 149, n. 2, p. 110-20, 2005.

ANAND, K. S.; DHIKAV, V. Hippocampus in health and disease: An overview. **Ann Indian Acad Neurol.**, v. 15, p. 239-46, 2012.

ARAS, R.; BARRON, AM; PIKE CJ. Caspase activation contributes to astrogliosis. **Brain Res.**, v. 1450, p.102-15, 2012.

BARRIENTOS, R. M. et al. Aging-related changes in neuroimmune-endocrine function: implications for hippocampal-dependent cognition. **Horm Behav.**, v. 62, n. 3, p. 219-27, 2012.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023).

BECHER, B.; SPATH, S.; GOVERMAN, J. Cytokine networks in neuroinflammation. **Nat Rev Immunol.**, v. 17, n. 1, p. 49-59.

BEHL, C. et al. Glucocorticoids Enhance Oxidative Stress-Induced Cell Death in Hippocampal Neurons *in Vitro*. **Endocrinology.**, v. 138, n. 1, p. 101-106, 1997.

BRADFORD MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem.**, v. 7, n. 72, p. 248-54, 1976.

BRANDÃO, C. O. et al. Cytokines and intrathecal igg synthesis in multiple sclerosis patients during clinical remission. **Arq Neuropsiquiatr.**, v. 63, n. 4, p. 914-19, 2005.

BREMBILLA, N. C.; SENRA, L.; BOEHNCKE W. H. The IL-17 Family of Cytokines in Psoriasis: IL-17A and Beyond. **Front Immunol.** v. 2, n. 9, 2018.

BRUNNER, R. et al. Effect of corticosteroids on short-term and long-term memory. **Neurology**, v. 64, n. 2, p. 335-7, 2005.

BUSILLO, J. M.; AZZAM, K. M.; CIDLOWSKI, J. A. Glucocorticoids sensitize the innate immune system through regulation of the NLRP3 inflammasome. **J Biol Chem.**, v. 286, n. 44, p. 38703-13, 2011.

CHANTONG, B. et al. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors differentially regulate NF-kappaB activity and pro-inflammatory cytokine production in murine BV-2 microglial cells. **J Neuroinflammation.** v. 28, p.9-260. 2012.

COLASANTI, A. et al. Hippocampal Neuroinflammation, Functional Connectivity, and Depressive Symptoms in Multiple Sclerosis. **Biological Psychiatry.**, v. 80, p. 62-72, 2016.

CORREALE, J.; FAREZ, M. F. The role of astrocytes in multiple sclerosis progression. **Front. Neurol.**, v. 6, p. 1-12, 2015.

CRUZ-TOPETE, D.; CIDLOWSKI, J. A. One Hormone, Two Actions: Anti- and Pro-Inflammatory Effects of Glucocorticoids. **Neuroimmunomodulation**, v. 22, n. 1, p. 20-32, 2015.

DAS SARMA, J. et al. Functional interleukin-17 receptor A is expressed in central nervous system glia and upregulated in experimental autoimmune encephalomyelitis. **J Neuroinflammation.** v. 6, n. 14, p. 1-12, 2009.

DAVIS, B.K.; WEN, H.; TING, J.P. The inflammasome NLRs in immunity, inflammation, and associated diseases. **Annu Rev Immunol.** v. 29, p. 707-735, 2011.

DE BOSSCHER, K.; VANDEN BERGHE, W.; HAEGEMAN, G. The interplay between the glucocorticoid receptor and nuclear factor-kappaB or activator protein-1: molecular mechanisms for gene repression. **Endocr Rev**, v. 24, n. 4, p. 488-522, 2003.

DEUSCHL, G. et al. The burden of neurological diseases in Europe: an analysis for the Global Burden of Disease Study. **Lancet Public Health.**, v5: e551–672017, 2020.

DICKMEIS, T. Glucocorticoids and the circadian clock. **J Endocrinol.**, v. 200, p. 3-22, 2009.

DI FILIPPO, M. et al. Persistent activation of microglia and NADPH oxidase[corrected] drive hippocampal dysfunction in experimental multiple sclerosis. **Sci Rep**, v. 6, p. 209-26, 2016.

DONG, Y.; BENVENISTE, E. N. Immune function of astrocytes. **Glia**, v. 36, n. 2, p. 180-90, 2001.

DOS SANTOS, N. B. et al. High dose of dexamethasone protects against EAE-induced motor deficits but impairs learning/memory in C57BL/6 mice. **Scientific Reports.**, 9:6673, 2019.

DUGGER, B.N.; DICKSON, D.W. Pathology of Neurodegenerative Diseases. **Cold Spring Harb Perspect Biol.** v. 5, n. 7, 2017.

DUQUE, E. DeA.; MUNHOZ, C. D. The Pro-inflammatory Effects of Glucocorticoids in the Brain. **Front Endocrinol (Lausanne)**. n. 28, p. 7-38. 2016.

ESEN, N.; KIELIAN, T. Central role for MyD88 in the responses of microglia to pathogen-associated molecular patterns. **J Immunol.** v.1, n.176, p. 6802-11, 2006.

FAN, Y. et al. Inhibiting the NLRP3 Inflammasome With MCC950 Ameliorates Isoflurane-Induced Pyroptosis and Cognitive Impairment in Aged Mice. **Front. Cell. Neurosci.**, v. 12, n. 426, p. 1-9, 2018.

FERGUSON, D.; SAPOLSKY, R. Mineralocorticoid receptor overexpression differentially modulates specific phases of spatial and nonspatial memory. **J Neurosci.** v. 27, n. 30, p. 8046-52, 2007.

FIEBICH, B., L. et al. Role of Microglia TLRs in Neurodegeneration. **Front Cell Neurosci.** v. 12, p. 1-10, 2018.

FRANK, M. G. et al. Microglia serve as a neuroimmune substrate for stress-induced potentiation of CNS pro-inflammatory cytokine responses. **Brain Behav Immun**, v. 21, n. 1, p. 47-59, 2007.

FRANK, M. G. et al. Chronic exposure to exogenous glucocorticoids primes microglia to pro-inflammatory stimuli and induces NLRP3 mRNA in the hippocampus. **Psychoneuroendocrinology**, v. 40, p. 191-200, 2014.

GAFFEN, S.L. et al. The IL-17 cytokine family. **Vitam Horm.** n. 74, p. 255-82, 2006.

GENSLER LS. Glucocorticoids: Complications to Anticipate and Prevent. **The Neurohospitalist.**, v. 3, n. 2, p. 92-7, 2012.

GHASEMI, N.; RAZAVI, S. H.; NIKZAD, E. Multiple sclerosis: pathogenesis, symptoms, diagnoses and cell-based therapy. **Cell J.**, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2017.

GLASS, C. K. et al. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 918-34, 2010.

GLOBAL Burden of Disease Study 2013 Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **Lancet**, v. 386, p. 743–800, 2015.

GU, C.; WU, L.; LI, X. IL-17 family: cytokines, receptors and signaling. **Cytokine**, v. 64, n. 2, 2013.

HAUSER, S. L.; OKSENBERG, J. R. The neurobiology of Multiple Sclerosis: genes, inflammation and neurodegeneration. **Neuron.**, v. 52, p. 61-76, 2006.

HENAO-MEJIA, J. et al. Inflammasomes: far beyond inflammation. **Nat Immunol.**, v. 13, n. 4, p. 321-4, 2012.

INOUE, M. et al. NLRP3 inflammasome induces chemotactic immune cell migration to the CNS in experimental autoimmune encephalomyelitis. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 109, n. 26, p. 10480-5, 2012.

IWAKURA, Y.; NAKAE, S.; SAIJO, S.; ISHIGAME, H. The roles of IL-17A in inflammatory immune responses and host defense against pathogens. **Immunol Rev.** v. 226, p. 57-79, 2008.

JUNG, D. Y. et al. TLR4, but not TLR2, signals autoregulatory apoptosis of cultured microglia: a critical role of IFN-beta as a decision maker. **J Immunol.**, v. 174, n. 10, p. 6467-76, 2005.

KADMIEL, M.; CIDLOWSKI, J. A. Glucocorticoid receptor signaling in health and disease. **Trends Pharmacol Sci.**, v. 34, n. 9, p. 518-30, 2013.

KANG, Z. et al. IL-17-induced Act1-mediated signaling is critical for cuprizone-induced demyelination. **J Neurosci.** v. 13, n. 32, p. 24, 2012.

KAWASAKI, T.; KAWAI, T. Toll-like receptor signaling pathways. **Front Immunol.**, v. 5, p. 1-8, 2014.

KIELIAN T. Toll-like receptors in central nervous system glial inflammation and homeostasis. **J Neurosci Res.**, v. 83, n. 5, p. 711-30, 2006.

KIGERL, K.A., et al. Pattern recognition receptors and central nervous system repair. **Exp Neurol.**, v. 258, p. 5-16, 2014.

KIM, Y.K.; SHIN, J.S.; NAHM, M.H. NOD-Like Receptors in Infection, Immunity, and Diseases. **Yonsei Med J.**, v. 57, n. 1, p. 5-14, 2016.

KIM, W. G. et al. Regional difference in susceptibility to lipopolysaccharide-induced neurotoxicity in the rat brain: role of microglia. **J. Neurosci.**, v. 20, n. 16, p. 6309-16, 2000.

KOMIYAMA, Y. et al. IL-17 Plays an Important Role in the Development of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. **J Immunol.**, v. 177, p. 566-73, 2006.

KOO, J. W. et al. Nuclear factor-kappaB is a critical mediator of stress-impaired neurogenesis and depressive behavior. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 107, n. 6, p.2669-74, 2010.

KORN, T. et al. IL-17 and Th17 Cells. **Annu Rev Immunol**, v. 27, p. 485-517, 2009.

KYEONG JO, E. et al. Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation. **Cell Mol Immunol.**, v. 13, p. 148-59, 2016.

LIU, J. J. et al. Corticosterone Preexposure Increases NFkB Translocation and Sensitizes IL-1 β Responses in BV2 Microglia-Like Cells. **Front. Immunol**, v. 9, n. 3, p. 1-12, 2018.

LIU, Q. et al. Interleukin-17 inhibits Adult Hippocampal Neurogenesis. **Scientific Reports**. 4:7554, 2014.

LIU, T. et al. NF- κ B signaling in inflammation. **Signal Transduct Target Ther.**, 2, e17023; doi:10.1038/sigtrans.2017.23. 2017.

MACPHERSON, A.; DINKEL, K.; SAPOLSKY, R. Glucocorticoids worsen excitotoxin-induced expression of pro-inflammatory cytokines in hippocampal cultures. **Experimental Neurology**., v. 194, p. 376-83, 2005.

MAGARINOS, A. M.; McEWEN, B. S. Experimental diabetes in rats causes hippocampal dendritic and synaptic reorganization and increased glucocorticoid reactivity to stress. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 97, n. 20, p. 11056-61, 2000.

MATURANA, C., et al. High glucocorticoid levels during gestation activate the inflammasome in hippocampal oligodendrocytes of the offspring: The Inflammasome of Oligodendrocytes. **Developmental Neurobiology**., v. 77, 2016.

McEWEN, B. S.; MAGARINOS, A. M. Stress and hippocampal plasticity: implications for the pathophysiology of affective disorders. **Hum Psychopharmacol**, v. 16, n. S1, p. S7-S19, 2001.

MEDELIN, M. et al. Bridging pro-inflammatory signals, synaptic transmission and protection in spinal explants in vitro. **Molecular Brain**, v. 11, n. 3, p. 1-14, 2018.

MILOVANOVIC, J., et al. Interleukin-17 in Chronic Inflammatory Neurological Diseases. **Front Immunol.**, v. 3, p. 11-947, 2020.

MORRIS, G. et al. Multiple Immune-Inflammatory and Oxidative and Nitrosative Stress Pathways Explain the Frequent Presence of Depression in Multiple Sclerosis. **Mol Neurobiol.**, v. 55, p. 1-25, 2018.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

MUNHOZ, C. D. et al. Chronic unpredictable stress exacerbates lipopolysaccharide-induced activation of nuclear factor-kappaB in the frontal cortex and hippocampus via glucocorticoid secretion. **J Neurosci**, v. 26, n. 14, p. 3813-20, 2006.

MUNHOZ, C. D. et al. Glucocorticoids exacerbate lipopolysaccharide-induced signaling in the frontal cortex and hippocampus in a dose-dependent manner. **J Neurosci**, v. 30, n. 41, p. 13690-8, 2010.

NAYAK, D.; ROTH, T. L.; MCGAVERN, D. B. Microglia Development and function. **Annu Rev Immunol.**, v. 32, p. 367-402, 2014.

OAKLEY, R. H.; CIDLOWSKI, J. A. The Biology of the Glucocorticoid Receptor: New Signaling Mechanisms in Health and Disease. **J Allergy Clin Immunol.**, v. 132, n. 5, p. 1033-44, 2013.

ORIHUELA, R.; MCPHERSON, C. A.; HARRY, G. J. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states., **Br J Pharmacol.**, v. 173, n. 4, p. 649-65, 2016.

PAUGH, S.W.; BONTEN, E.J.; EVANS, W.E. Inflammasome-mediated glucocorticoid resistance: The receptor rheostat. **Mol Cell Oncol.**, v. 11, n. 1, 2015.

PAWLUK, H., et al. The Role of Selected Pro-Inflammatory Cytokines in Pathogenesis of Ischemic Stroke. **Clin Interv Aging.**, v. 23, n. 15, p. 469-484, 2020.

PEFEROEN, L., et al. Oligodendrocyte-microglia cross-talk in the central nervous system. **Immunology.**, v. 141, n. 3, p. 302-13, 2014.

PEREZ-NIEVAS, B. G. et al. Chronic immobilisation stress ameliorates clinical score and neuroinflammation in a MOG-induced EAE in Dark Agouti rats: mechanisms implicated. **J Neuroinflammation**, v. 7, p. 60, 2010.

PICCIOLI, P. et al. Inhibition of nuclear factor-kappaB activation induces apoptosis in cerebellar granule cells. **J Neurosci Res.**, v. 66, n. 6, p. 1064-73, 2001.

PRADA, I., et al. Transferência de miRNAs de glia para neurônio via vesículas extracelulares: um novo mecanismo subjacente a alterações sinápticas induzidas por inflamação. **Acta Neuropathol.**, v. 135, p. 529-550, 2018.

QU, X., et al. RelA-miR-30a signal pathway regulates Th17 differentiation during experimental autoimmune encephalomyelitis development. **J Neuroinflammation**. v. 27, n. 16, 2019.

RANSOHOFF, R. M.; KHOURY, J.E. Microglia in Health and Disease. **Cold Spring Harb Perspect Biol.**, v. 8, n. 1, 2016.

SAIJO, K.; GLASS, C. K. Microglial cell origin and phenotypes in health and disease. **Nat Rev Immunol**, v. 11, n. 11, p. 775-87, 2011.

SCHMITZ, T. et al. Minocycline protects the immature white matter against hyperoxia. **Exp Neurol.**, v. 254, p. 153-65, 2014.

SEVILLA, L.M.; PÉREZ, P. Glucocorticoids and Glucocorticoid-Induced-Leucine-Zipper (GILZ) in Psoriasis. **Front Immunol.**, v. 13, p. 10-2220, 2019. .

SKAPER, S. D.; FACCI, L.; ZUSSO, M.; GIUSTI, P. An inflammation-centric view of neurological disease: beyond the neuron. *Front. Cell. Neurosci.*, v.12, n. 72, p. 1-26, 2018.

SOCHOCKA, M.; DINIZ, B.S.; LESZEK, J. Inflammatory Response in the CNS: Friend or Foe?. *Mol Neurobiol.*, v. 54, p. 8071–8089, 2017.

SORRELLS, S. F. et al. The stressed CNS: when glucocorticoids aggravate inflammation. *Neuron*, v. 64, n. 1, p. 33-9, 2009.

SUNDAHL, N. et al. Selective glucocorticoid receptor modulation: New directions with non-steroidal scaffolds. *Pharmacology & Therapeutics.*, v. 152, n. 28-41, 2015.

TAKATA, F. et al. Blood-Brain Barrier Dysfunction Amplifies the Development of Neuroinflammation: Understanding of Cellular Events in Brain Microvascular Endothelial Cells for Prevention and Treatment of BBB Dysfunction, *Front Cell Neurosci.*, v. 15, 2021.

TANG, D. et al. PAMPs and DAMPs: signal 0s that spur autophagy and immunity. *Immunol Rev.* v. 249, n. 1, p. 158-75, 2012.

TATA, D.A.; ANDERSON, B.J. The effects of chronic glucocorticoid exposure on dendritic length, synapse numbers and glial volume in animal models: implications for hippocampal volume reductions in depression. *Physiol Behav.*, v. 9, n. 2, p. 186-93, 2010.

TIKKA, T., et al. Minocycline, a tetracycline derivative, is neuroprotective against excitotoxicity by inhibiting activation and proliferation of microglia. *J Neurosci.* v. 15, n. 8, p. 2580-8, 2001.

TOY, D. et al. Cutting Edge: Interleukin 17 Signals through a Heteromeric Receptor Complex. *J Immunol.*, v. 177, p. 36-9, 2006.

VASCONCELOS, A.R.; DOS SANTOS, N.B.; SCAVONE, C.; MUNHOZ, C.D. Nrf2/ARE Pathway Modulation by Dietary Energy Regulation in Neurological Disorders. *Front Pharmacol.* v. 4, p. 10-33, 2019.

VELASCO, I. et al. Influence of serum-free medium on the expression of glutamate transporters and the susceptibility to glutamate toxicity in cultured cortical neurons. *J Neurosci.*, v.,15, n. 6, p. 811-8.

WANG, Y.H.; WILLS-KARP, M. The potential role of interleukin-17 in severe asthma. *Curr Allergy Asthma.* v. 11, n. 5, p. 388-94, 2011.

WHITE, M. P. J, et al. Innate IFN- γ ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis and promotes myeloid expansion and PDL-1 expression. *Scientific reports.*, v. 8, p. 1-11, 2018.

XU, S. et al. Glial Cells: Role of the Immune Response in Ischemic Stroke. *Front Immunol.* v. 26, p.11-294, 2020.

YANG, Q.Q.; ZHOU, J.W. Neuroinflammation in the central nervous system: Symphony of glial cells. **Glia**. V.67, n.6, p. 1017-1035, 2019.

YANG, Z. Y.; YUAN, C. X. IL-17A promotes the neuroinflammation and cognitive function in sevoflurane anesthetized aged rats via activation of NF- κ B signaling pathway. **BMC Anesthesiology**., v. 18, n. 147, p. 1-9, 2018.