



Evento: XI Seminário de Inovação e Tecnologia

EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS À INFLAMAÇÃO FRENTE A PERDA AUDITIVA INDUZIDA POR RUÍDO: ANÁLISE DE BANCO DE DADOS GENÉTICOS ¹

EXPRESSION OF INFLAMMATION-RELATED GENES AGAINST NOISE-INDUCED HEARING LOSS: GENETIC DATABASE ANALYSIS

Letícia Compagnon², Samara Nicole Friske³, Victória Ribeiro⁴, Ana Sprandel⁵, Marcos Soares⁶, Thiago Gomes Heck⁷

¹ Projeto de pesquisa desenvolvido no Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF UNIJUI.

² Bolsista PIBITI-CNPq, estudante do curso de Fisioterapia UNIJUI.

³ Bolsista PIBITI-UNIJUI, estudante do curso de Medicina Veterinária UNIJUI.

⁴ Bolsista PIBITI-CNPq, estudante do curso de Medicina UNIJUI.

⁵ Bolsista PIBITI-UNIJUI, estudante do curso de Biomedicina UNIJUI.

⁶ Professor do curso de Medicina UNIJUI.

⁷ Professor do PPG em Atenção Integral à Saúde UNIJUI/UNICRUZ.

RESUMO

Após a exposição ao ruído, as células sensoriais do tecido coclear são danificadas, prejudicando a função auditiva. Frente a esta condição, alterações no transcriptoma podem influenciar a resposta inflamatória. Procuramos investigar o comportamento de genes relacionados à inflamação frente a perda auditiva pelo ruído (PAIR) em roedores. Realizamos a pesquisa na plataforma *Gene Expression Omnibus* com os termos: "*noise-induced hearing loss*" OR "*acoustic damage*" OR "*noise trauma*". Com base nos dados de um estudo selecionado realizamos a comparação entre as amostras de animais expostas ao ruído e controle, considerando como resposta, quando a expressão de algum gene relacionado à inflamação estava alterada (maior ou menor, $P < 0,05$). Foram alterados no tecido coclear a expressão do gene de uma proteína membro das heat shock proteins (HSP40), além da proteína c reativa (PCR), receptor e citocina da interleucina 4 (IL-4r e IL-4). Também estavam alteradas as expressões de fator de transcrição nuclear kappa B (NF-kB) e o gene do receptor de glutamato. A identificação de alteração na expressão de genes relacionados à inflamação induzida na PAIR pode subsidiar novas estratégias terapêuticas.

Palavras-chave: Bases de Dados de Genética. Perda Auditiva. Trauma Acústico. Resposta Inflamatória.

INTRODUÇÃO

A exposição ao ruído intenso pode produzir perda auditiva temporária ou permanente, dependendo de fatores como: os parâmetros físicos do estímulo do ruído, a intensidade, duração e faixa de frequência e a sensibilidade à perda auditiva induzida por



ruído (PAIR) (GRATTON; *et al.*, 2011). No ouvido interno, está localizada a cóclea, órgão sensorial responsável pelo sistema de detecção da vibração sonora e conversão do estímulo mecânico em sinais elétricos. Devido a sua alta sensibilidade, esse sistema é extremamente frágil e vulnerável, não podendo se regenerar após lesões (FETONI; *et al.*, 2019).

O dano coclear pode ser causado tanto por estresse mecânico direto, quanto por estresses biológicos e moleculares, que incluem estresse oxidativo, inflamação e excitotoxicidade. Modelos animais, principalmente os que utilizam ratos e camundongos, são utilizados para o estudo da PAIR, pois permitem a investigação de mudanças no transcriptoma, ou seja no conjunto envolvido na transcrição celular, e na expressão de proteínas em sistemas sensoriais após o trauma auditivo (ESCABI; *et al.*, 2019). Diversos genes estão envolvidos na resposta coclear frente ao dano por ruído, e após a lesão acústica, muitos desses genes podem ser ativados ou silenciados (FRYE; RYAN; KURABI, 2019). Além disso, a resposta inflamatória e a expressão de proteínas de choque térmico têm sido estudadas na perda auditiva (SOARES *et al.*, 2020). Em vista disso, procuramos investigar o comportamento de genes relacionados à inflamação frente a PAIR em roedores.

METODOLOGIA

Realizamos a pesquisa na plataforma GEO (*Gene Expression Omnibus*) com os seguintes descritores: "*noise-induced hearing loss*" OR "*acoustic damage*" OR "*noise trauma*" (Perda auditiva induzida por ruído ou trauma acústico ou trauma de ruído). Foram encontrados 72 conjuntos de dados para esta busca. Em seguida, selecionamos apenas os estudos realizados em ratos (*Rattus norvegicus*) e camundongos (*Mus musculus*), totalizando 9 estudos. Destes, 6 estudos foram descartados pois não realizaram avaliação do tecido coclear, 1 estudo que não apresentava amostras suficientes para realizar a análise, e um estudo envolvia prevenção à perda auditiva. Ao final, um estudo foi selecionado (GRATTON, *et al.*, 2011). Em seguida, para o conjunto de dados encontrados, selecionamos a comparação entre as amostras de animais expostos ao ruído e amostras controle. Os resultados são expressos quanto ao número de cópias de mRNA obtidas a partir do método de expressão por microarranjos de DNA (*microarray*), foi considerada diferença significativa quando $P < 0,05$, pela análise estatística é realizada na plataforma GEO2R.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

No estudo de GRATTON, *et al.*, (2011), foram utilizados camundongos B6 (Fêmeas) expostos ao ruído durante 1 hora à 105 dB SPL. Após a análise pelo banco de dados, encontramos diversos genes expressos diferencialmente no tecido coclear. Conforme mostra a Figura 1A, ocorreu maior expressão do gene da proteína membro da família das HSP40 nas amostras que foram expostas ao ruído. As HSP40, também chamadas de DnaJ, funcionam como chaperonas moleculares ligando-se às HSP70 (*heat shock proteins 70 kD*) e desempenham papéis críticos no crescimento, desenvolvimento e resposta ao estresse (WANG; *et al.*, 2019). HSPs têm sua expressão induzida por estresses fisiológicos, drogas ototóxicas, altas temperaturas e pelo ruído (LEI; *et al.*, 2017). O dano coclear é acompanhado pelo aumento nos níveis cocleares de iHSP70 e eHSP72 (HSP70 intracelular e extracelular) devido à exposição ao ruído (SOARES; *et al.*, 2020).

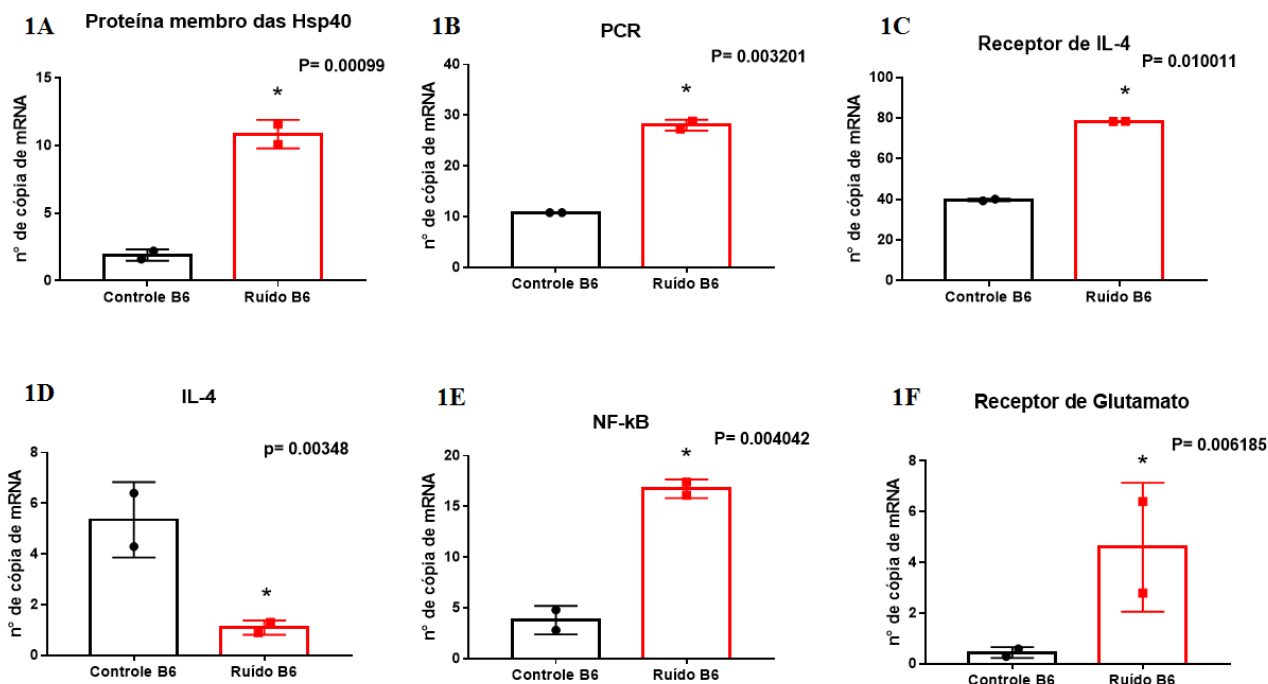


Figura 1: Expressão de genes frente a exposição ao ruído. **1A:** Maior expressão de proteína membro das HSP40 no grupo exposto ao ruído (*P=0,0009). **1B:** Maior expressão do gene de PCR no grupo ruído (P=0,0032). **1C:** Maior expressão do gene do receptor de IL-4 nas amostras expostas ao ruído(P=0,0100). **1D:** Menor expressão do gene da IL-4 no grupo ruído (P= 0,0034). **1E:** Maior expressão de NF-kB no grupo ruído (P= 0,0040). **1F:** Maior da expressão do gene do receptor de glutamato nas amostras expostas ao ruído (P=0,0061).



De forma semelhante, houve maior expressão do gene de PCR em animais expostos ao ruído, como representado pela Figura 1B. A proteína C reativa é uma proteína encontrada principalmente no plasma, e exibe expressão elevada durante condições inflamatórias (SPROSTON; ASHWORTH, 2018). Já se observou que a relação PCR/albumina é maior em pacientes com perda auditiva neurossensorial (ÖÇAL; *et al.*, 2020).

A IL-4 regula funções celulares e ativa a maquinaria transcricional através de receptores de superfície celular, para a IL-4, a ligação da citocina a uma única cadeia de receptor de superfície celular (IL-4R α) gera um complexo ligante/receptor que requer o recrutamento de uma terceira cadeia de receptor para formar um complexo de receptor funcional, em concentrações muito baixas de IL-4 ela pode ocupar ao máximo as cadeias receptoras em uma determinada superfície celular (JUNTTILA, 2018), o que pode explicar a maior expressão do gene do receptor de IL-4, e a menor expressão do gene de IL-4 nas amostras expostas ao ruído conforme mostram as Figuras 1C e 1D respectivamente.

Frente à exposição ao ruído, houve maior expressão do gene de NF- κ B, como representado na Figura 1E. O NF- κ B é um fator de transcrição que interage com vários sinais decorrentes da ativação de receptores celulares ou mediadores intracelulares, geralmente na detecção ou resposta a estresses inflamatórios. Já se observou que ocorre ativação de NF- κ B em fibrócitos tipo I no ouvido interno de animais expostos ao ruído, mostrando que a ativação do NF- κ B ocorre devido a efeitos locais dentro do ouvido exposto ao ruído e não devido ao estresse sistêmico (ADAMS; *et al.*, 2009).

Já se sabe que o glutamato é um neurotransmissor aferente entre as células ciliadas internas da cóclea e as fibras do nervo auditivo, e a ativação excessiva de receptores de glutamato é suficiente para iniciar o processo neurodegenerativo, já foi concluído que a excitotoxicidade coclear induzida por ruído requer a liberação sináptica de glutamato nas células ciliadas internas da cóclea (KIM; *et al.*, 2019), corroborando com o aumento da expressão do receptor de glutamato nas amostras expostas ao ruído, como observado na Figura 1F.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A identificação de alteração na expressão de genes relacionados à inflamação induzida na PAIR pode subsidiar novas estratégias terapêuticas.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, J.C.; et al., Selective activation of nuclear factor kappa B in the cochlea by sensory and inflammatory stress. **Neuroscience**, v. 160, n. 2, p. 530-539, maio 2009.
- ESCABI, C. D.; *et al.*, The rat animal model for noise-induced hearing loss. **J. Acoust. Soc. Am.**, v. 146, n. 5, p. 3692-3709, nov. 2019.
- FETONI, A. R; *et al.* Targeting dysregulation of redox homeostasis in noise-induced hearing loss: oxidative stress and ros signaling. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 135, p. 46-59, maio 2019.
- FRYE, M. et al., Inflammation associated with noise-induced hearing loss., **J. Acoust. Soc. Am.**, v. 146, n. 5, p. 4020-4032, nov. 2019.
- Gene Expression Omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>.
- GRATTON, M. A., *et al.*, Noise-induced changes in gene expression in the cochleae of mice differing in their susceptibility to noise damage. **Hearing Research**, v. 277, n. 1-2, p. 211-226, jul. 2011.
- JUNTTILA, Ilkka S.. Tuning the Cytokine Responses: an update on interleukin (il)-4 and il-13 receptor complexes. **Frontiers In Immunology**, v. 9, p. 1-6, 7 jun. 2018.
- KIM, K. X.; et al., Vesicular Glutamatergic Transmission in Noise-Induced Loss and Repair of Cochlear Ribbon Synapses. **J. Neurosci**, v. 39, n. 23, p. 4434-4447, 29 mar. 2019.
- LEI, S., et al., Association between polymorphisms of heat-shock protein 70 genes and noise-induced hearing loss: a meta-analysis. **Plos One**, v. 12, n. 11, p. 0188539, 27 nov. 2017.
- ÖÇAL, et al., Is the C-reactive protein/albumin ratio a prognostic and predictive factor in sudden hearing loss? **Braz J Otorhinolaryngol.**, v. 86, n. 2, p. 180-184, mar. 2020.
- SOARES, M.; et al., Heat shock response in noise-induced hearing loss: effects of alanyl-glutamine dipeptide supplementation on heat shock proteins status. **Braz J Otorhinolaryngol.**, v. 86, n. 6, p. 703-710, nov. 2020.
- SPROSTON, Nicola R.; ASHWORTH, Jason J. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. **Frontiers In Immunology**, v. 9, p. 1-11, 13 abr. 2018.
- WANG, Q. et al., HSP40 gene family in pearl oyster *Pinctada fucata martensii*: genome-wide identification and function analysis. **Fish Shellfish Immunol**, v. 93, p. 904-910, out. 2019.