

Tamires Alves, Cynthia Bartholomeo, Robertha Lemes, Nathalia Montouro Pinheiro, Wothan Tavares-de-Lima, Iolanda de Fátima Lopes Calvo Tibério, Ayman K. Hamouda, Kil Sun Lee, Rodrigo Portes Ureshino, Roberta Sessa Stilhano, Carla Maximo Prado.

Modulação dos receptores nicotínicos em diferentes tipos celulares superexpressando ACE2: possível relevância na COVID-19

Introdução: O novo coronavírus SARS-CoV-2, agente causador da pandemia de COVID-19, utiliza o receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) da célula hospedeira para infectar humanos. Os níveis altos de ACE2 detectados em pacientes com doenças crônicas como síndrome metabólica, obesidade, hipertensão, e dislipidemia parece correlacionar com o aumento do risco de infecção por SARS-CoV-2 e da gravidade da doença. Além disso, evidências sugerem que alterações dos receptores nicotínicos podem estar envolvidos em desordens metabólicas e na modulação da resposta inflamatória por meio da via colinérgica antiinflamatória e do nervo vago. Assim, nossa hipótese é que a superexpressão de ACE2 possa modular os receptores nicotínicos no pulmão e em células renais e isso poderia ser relevante na fisiopatologia da COVID-19. **Objetivo:** O presente estudo tem como objetivo avaliar se a superexpressão da ACE2 modula a expressão do receptor nicotínico alfa-7 ($\alpha 7$ nAChR) e alfa-3 ($\alpha 3$ nAChR) em três diferentes linhagens celulares humanas BEAS-2B, A549, e HEK293T derivadas do epitélio brônquico, epitélio pulmonar e de tecido embrionário de rim, respectivamente. **Métodos:** Este projeto está aprovado pelo CEP (Comitê de Ética em Pesquisa) Unifesp sob número 6864310320. A superexpressão de ACE2 foi realizada pela transfeccção com pCEP-ACE2-myc e seleção com higromicina (125ng/ul) em células BEAS-2B, A549, e HEK293T por 15 dias. A expressão gênica de $\alpha 7$ nAChR e $\alpha 3$ nAChR foi quantificada por RT-qPCR. Os resultados foram normalizados por log e posteriormente foi realizado o Teste de ANOVA de uma via, seguido pelo pós-teste de Tukey. **Resultados:** A superexpressão de ACE2 nestas células foi confirmada por RT-qPCR. Nas células BEAS-2B, a superexpressão de ACE2 reduziu a expressão de $\alpha 3$ nAChR ($p < 0,01$), mas não alterou a expressão de $\alpha 7$ nAChR comparado a células controle. Na linhagem A549, a superexpressão de ACE2 aumentou significativamente a expressão de $\alpha 7$ nAChR ($p < 0,001$) e de $\alpha 3$ nAChR ($p < 0,05$) comparado ao controle. Na linhagem HEK293T, a superexpressão de ACE2 diminuiu os níveis de $\alpha 7$ nAChR ($p < 0,05$) e aumentou de $\alpha 3$ nAChR ($p < 0,01$) comparado ao controle. **Conclusão:** Nós demonstramos pela primeira vez que a superexpressão de ACE2 modula de forma distinta os níveis dos receptores nAChRs em células pulmonares e de rim. Estes dados, embora preliminares, podem ter grande relevância para futuros estudos com potencial efeito do Sistema colinérgico anti-inflamatório e de nAChRs para conter a tempestade de citocinas e a inflamação observadas na COVID-19.