



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PRPPG
Coordenadoria Geral de Pesquisa – CGP**

*Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bloco 06 – Bairro Ininga
Cep: 64049-550 – Teresina-PI – Brasil – Fone (86) 215-5564 – Fone/Fax (86) 215-5560
E-mail: pesquisa@ufpi.br; pesquisa@ufpi.edu.br*

“APOPTOSE NA IMUNOPATOGENIA DA GLOMERULONEFRITE NA LEISHMANIOSE VISCERAL EM CAMUNDONGO”

Aline Pereira Martins (bolsista do PIBIC/UFPI), Maria das Graças Prianti (bolsista DCR) e Elaine Gonçalves de Oliveira (Graduanda Veterinária-UFPI), Francisco Assis Lima Costa (Orientador, DCCV-UFPI)

Introdução

A Leishmaniose Visceral (LV) é causada pelo protozoário *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Vários órgãos são afetados pela doença, especialmente linfonodo, baço, fígado e a medula óssea, porém os rins frequentemente sofrem alterações (DUARTE, 2000). As alterações renais se caracterizam por nefrite intersticial e glomerulonefrites, com predomínio de padrões proliferativos, devido o aumento do número de células intrínsecas do glomérulo e a infiltração glomerular de células inflamatórias extrínsecas (TISHER, 1994). A patogenia da lesão renal ainda não está bem definida e apoptose parece ter participação (COSTA et al., 2010). Desse modo, este trabalho teve como objetivo estudar a participação da apoptose na imunopatogenia da glomerulonefrite na leishmaniose visceral em camundongos.

Material e métodos

Foram usados camundongos isogênicos da linhagem BALB/c e hamsteres (*Mesocricetus auratus*) não isogênicos, machos, com 45 a 60 dias de vida, fornecidos pelo Biotério do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Dezesesseis camundongos foram inoculados intraperitonealmente com 2×10^7 amastigotas de *L. (L.) chagasi* purificadas em 100uL de meio RPMI 1640. Foram mantidos cinco hamster infectados com 2×10^7 amastigotas de *L. (L.) chagasi*, em 1000µl de meio RPMI 1640 para manutenção da cepa. Animais controles foram inoculados apenas com meio RPMI 1640 concomitantemente.

Decorrido um período de 7 e 15 dias pós-infecção, os grupos de camundongos foram anestesiados com Cloridrato de Ketamina na dosagem de 40mg/Kg de peso vivo e Xilazina na dosagem de 10mg/Kg de peso vivo, por via intraperitoneal; em seguida foi feito deslocamento cervical por ação mecânica manual, para coleta do rim. O rim direito foi removido assepticamente e preservado para realização de técnica de biologia molecular e o rim esquerdo para Imunohistoquímica. Foi realizada a técnica de PCR em tempo real para TGF e Imunohistoquímica por técnica de Imunoperoxidase para detecção de caspase-3 clivada e TNF.

Resultados e discussões

O fator de crescimento transformador-b (TGF-b), produzido por várias células incluindo linfócitos B e T além de células NK e macrófagos ativadas, suprime a capacidade microbicida de macrófagos, inibindo sua capacidade de controle intracelular de crescimento do parasito (BARRAL et al., 1993).

A PCR para TGF-b revelou aumento significativo aos 15 dias pós-infecção (dpi) em relação ao grupo com 7 dpi e grupo controle não infectado (Fig. 1). Portanto essa citocina restringe os danos por respostas inflamatórias intensas e a magnitude das respostas efetoras contra patógenos, conseqüentemente resulta em falha no controle da infecção. Este fator de crescimento modula a persistência de vários patógenos e de doenças autoimunes (BELKAID et al., 2005; O'GARRA et al., 2004.)

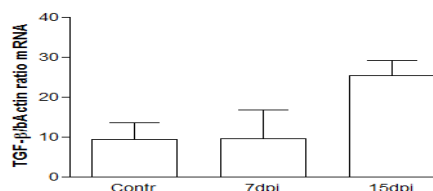


Figura 1. Análise de TGF-β/βActina em camundongos infectados com *Leishmania (L) chagasi*.

Nos resultados de Imunoistoquímica de caspase-3 clivada e TNF não foram observadas diferenças significantes entre grupos infectados e não infectados. Porém observou-se uma tendência de aumento de caspase-3 clivada aos quinze dias pós infecção (figura 2) e uma tendência de diminuição de TNF aos quinze dias pós infecção (figura 3). Estes resultados estão de acordo com trabalho realizado anteriormente por nosso grupo com cães naturalmente infectados que demonstraram que cães com LV apresentavam apoptose e, também, baixa expressão de TNF nas glomerulonefrites proliferativas quando comparado ao grupo controle. Assim, foi observada correlação entre TNF e apoptose, indicando papel importante na imunopatogenia da glomerulonefrites na LV canina (COSTA et al., 2010). Por outro lado, sabe-se que TNF esta envolvido na patogenia de glomerulonefrites proliferativas humana (NORONHA, KRUGER et al., 1993) e em modelo animal (ARDAILLOU e BAUD, NIKOLIC-PATERSON, LAN et al., 1996)

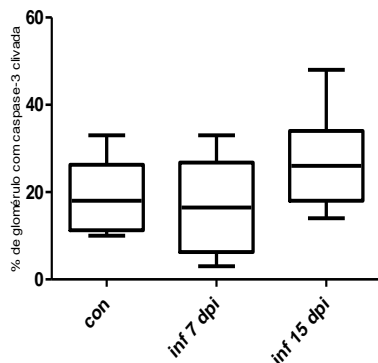


Figura 3. Análise quantitativa de percentagem de glomérulo com caspase-3 clivada em camundongos infectados com *Leishmania(L) chagasi*. (p< 0,05, testes de Kruskal e Dunn).

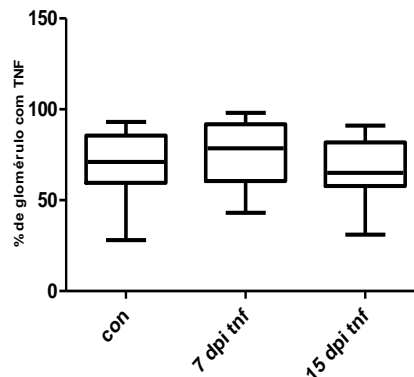


Figura 4. Análise quantitativa de percentagem de glomérulo com TNF em camundongos infectados com *Leishmania(L) chagasi*. (p< 0,05, testes de Kruskal e Dunn).

Conclusão

Os resultados revelaram que TGF β e TNF participam da patogenia da lesão glomerular no modelo experimental de camundongos BALB/c em fases diferentes da infecção, contribuindo para a modulação da lesão glomerular.

Apoio: PIBIC/UFPI, FAPEPI/CNPq

Bibliografia

ARDAILLOU, R. E L. BAUD. Tumor necrosis factor in glomerular injury. *Contrib Nephrol*, .118, p.59-67. 1996.

BELKAID, Y.; ROUSE, B.T. Natural regulatory T cells in infectious disease. *Nat Rev immunol*, v.6, n.4, p.353-60, 2005..

COSTA FA, PRIANTI MG, SILVA TC, SILVA SM, GUERRA JL, GOTO H. T cells, adhesion molecules and modulation of apoptosis in the pathogenesis of glomerulonephritis in visceral leishmaniasis. *BMC Infect Dis*. 2010 May 11;10:112.

DUARTE, M. Patologia das principais doenças tropicais no Brasil. Leishmaniose visceral (Calazar). . In: Brasileiro Filho G (Editor) (Ed.). *Bogliolo Patologia*. . Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan;, 2000. Patologia das principais doenças tropicais no Brasil. Leishmaniose visceral (Calazar). , p.p 1215-1227.

NIKOLIC-PATERSON, D. J., H. Y. LAN, et al. Interleukin-1 receptor antagonism. *Semin Nephrol*, v.16, n.6, Nov, p.583-90. 1996.

NORONHA, I. L., C. KRUGER, et al. In situ production of TNF-alpha, IL-1 beta and IL-2R in ANCA-positive glomerulonephritis. *Kidney Int*, v.43, n.3, Mar, p.682-92. 1993.

O'GARRA, A.; VIEIRA, P. Regulatory T Cells and mechanisms of immune system control. *Nat Medicine*, v.10, n.8, p.801-805, 2004

TISHER, C. C. B., BRENNER. *Renal Pathology with clinical and funcional correlations*. . In: (Ed.): Philadelphia, Lippincott. , 1994. *Renal Pathology with clinical and funcional correlations*.

Palavras-chave: Apoptose. Glomerulonefrites. *Leishmania L. chagasi*.