



AValiação DO PERFIL DE CITOCINAS SÉRICAS EM PACIENTES COM A DOENÇA DE CHAGAS CRÔNICA E SUAS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS

Larissa Pires Mueller (PIBIC/CNPq/Uem), Talita Aparecida Tódora, Pâmela Guimarães Reis, Amarilis Giaretta de Moraes, Jeane Eliete Laguila Visentainer, Márcia Machado de Oliveira Dalalio (Orientadora), e-mail: mmodalio@hotmail.com.

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Ciências Básicas da Saúde/Maringá, PR.

Ciências Biológicas – Imunologia - Imunogenética.

Palavras-chave: doença de Chagas, citocinas séricas, formas clínicas

Resumo:

A doença de Chagas, causada pelo protozoário uniflagelado *Trypanosoma cruzi*, é transmitida ao homem por um inseto vetor hematófago pertencente à subfamília *Triatominae*. Estima-se que a prevalência da infecção permeie 9 milhões de indivíduos. Destes, 20-35 % dos casos irão manifestar as formas clínicas: cardíaca, digestiva ou mista. A infecção com o *T. cruzi* ativa diversas vias do sistema imune inato e adaptativo do hospedeiro, levando a produção de várias citocinas e pode levar a um desvio da resposta imunológica a um perfil pró-inflamatório com produção de citocinas Th1 e diminuição de citocinas Th2. O objetivo deste estudo foi avaliar as concentrações séricas das citocinas GM-CSF, IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ e TNF- α em pacientes com a doença de Chagas crônica e suas diferentes formas clínicas em uma população da região sul do Brasil, na perspectiva de explicar a fisiopatologia da doença. A determinação dos níveis séricos de citocinas foi realizada utilizando Kits de Imunoensaio Human Cytokine 10-Plex Panel (Invitrogen Corp, CA, USA). Os resultados obtidos até o momento mostram que as citocinas com maior concentração foram: IL-8 e GM-CSF pró-inflamatórias e IL-4 e IL-10 anti-inflamatórias. Sendo que, a IL-8 apresentou maior concentração (39,50pg/mL) e maior variação (\pm 61,63). Ainda não foi possível estratificar os pacientes de acordo com suas formas clínicas, devido ao pequeno tamanho amostral, no entanto, essa questão será resolvida, visto que este trabalho está em andamento.

Introdução





A doença de chagas é resultante da infecção pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, descrito por Carlos Chagas em 1909 (MONCAYO, 2003). A doença humana apresenta as fases aguda e crônica. A fase aguda, geralmente é assintomática e a infecção pode não ser diagnosticada e então evoluir para a fase crônica que persiste ao longo da vida dos pacientes. Após anos do início da fase crônica, 20-35% dos pacientes apresentam manifestações clínicas com alterações cardíacas e/ou digestivas. O *T. cruzi* ativa múltiplas vias do sistema imune inato e adaptativo do hospedeiro, levando a produção de várias citocinas. As citocinas são proteínas produzidas majoritariamente por linfócitos e macrófagos ativados e são admiráveis intercessores que adequam a duração e a intensidade das respostas por meio de associações a receptores característicos (MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2010). As citocinas produzidas por linfócitos Th1 são classificadas como pró-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α e IFN- γ) e as liberadas pelos linfócitos Th2, anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β). Reconhecer a função das diferentes citocinas na resposta imune protetora e na susceptibilidade do hospedeiro permite entender a ação das mesmas nos mecanismos regulatórios da resposta imune e como influenciam na evolução clínica da doença de Chagas (ABRAHANSON, 2016). O objetivo deste estudo foi avaliar as concentrações séricas das citocinas GM-CSF, IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ e TNF- α em pacientes com a doença de Chagas crônica e suas diferentes formas clínicas em uma população da região sul do Brasil, na perspectiva de explicar a fisiopatologia da doença.

Materiais e métodos

Pacientes com a doença de Chagas crônica, adultos de ambos os sexos, residentes em diferentes municípios do norte/noroeste do Estado do Paraná, foram triados por bancos de sangue ou pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e encaminhados ao Laboratório de Doença de Chagas da Universidade Estadual de Maringá e Hospital das Clínicas de Londrina. Foram coletadas amostras de 10 mL de sangue em 1 tubo sem anticoagulante, após explicações sobre o projeto e assinatura do termo de consentimento. Os tubos contendo o sangue foram centrifugados para obtenção do soro e congelados a -80C até o momento da dosagem das citocinas. A determinação dos níveis séricos das citocinas GM-CSF, IL-1 β , IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ e TNF- α foi realizada em alíquotas de soro, utilizando Kits de Imunoensaio Human Cytokine 10-Plex Panel (Life Technologies, Carlsbad, CA) de acordo com as recomendações do fabricante. O sinal de fluorescência foi verificado no equipamento Luminex® 200 e os dados analisados no software Xponent 3.1™. A análise estatística descritiva foi realizada utilizando o software BioEstat 5.0.





Resultados e Discussão

Neste estudo avaliamos 13 pacientes em que 69,23% eram do sexo masculino, com idade média de 69,15 (\pm 9,47). Os resultados da quantificação das citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, GMC-SF, TNF- α e IFN- γ) e anti-inflamatórias (IL-10, IL-5, IL-4) são mostrados nas Figuras de 1-10.

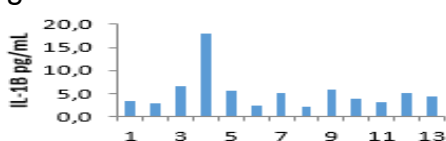


Figura 1. Níveis séricos de IL-1 β em pacientes com a doença de Chagas crônica

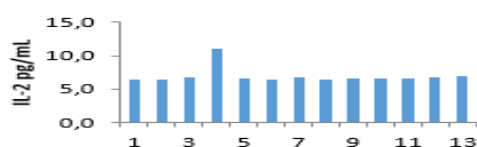


Figura 2. Níveis séricos de IL-2 em pacientes com a doença de Chagas crônica

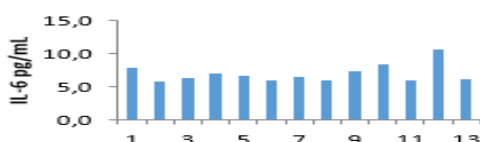


Figura 3. Níveis séricos de IL-6 em pacientes com a doença de Chagas crônica



Figura 4. Níveis séricos de IL-8 em pacientes com a doença de Chagas crônica

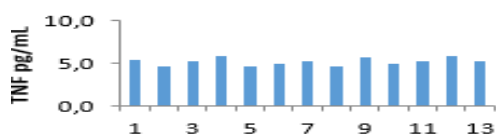


Figura 5. Níveis séricos de TNF- α em pacientes com a doença de Chagas crônica

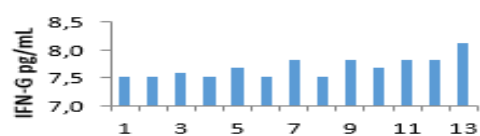


Figura 6. Níveis séricos de INF- γ em pacientes com a doença de Chagas crônica

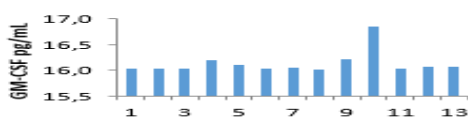


Figura 7. Níveis séricos de GMC-SF em pacientes com a doença de Chagas crônica

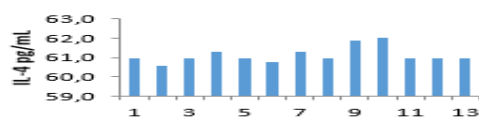


Figura 8. Níveis séricos de IL-4 em pacientes com a doença de Chagas crônica

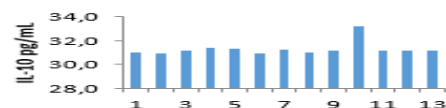


Figura 9. Níveis séricos de IL-10 em pacientes com a doença de Chagas crônica

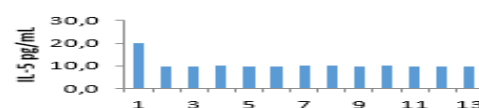


Figura 10. Níveis séricos de IL-5 em pacientes com a doença de Chagas crônica

De acordo com os resultados obtidos até o momento, observamos que as citocinas com maior concentração foram: IL-8 e GM-CSF que são pró-inflamatórias e IL-4 e IL-10 que são anti-inflamatórias. Sendo que, a citocina com maior concentração (39,50 pg/mL) e maior variação (\pm 61,63) foi a IL-8. Esta citocina pode ser produzida por diversas células em resposta à microrganismos. Uma de suas principais funções é induzir a migração de





células, incluindo neutrófilos, monócitos, e células T, desenvolvendo um papel admirável no acúmulo de leucócitos no local da inflamação (GREGHI, 2011).

Conclusões

Foi observado que as concentrações séricas das citocinas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias foram diferentes entre os pacientes, no entanto, este trabalho está em andamento e não podemos chegar a uma conclusão, já que, ainda não foi possível estratificar os pacientes segundo suas formas clínicas, devido ao pequeno tamanho amostral.

Agradecimentos

Ao CNPq, à CAPES, à Fundação Araucária e ao Laboratório de imunogenética da UEM. Pelo incentivo científico e financeiro cedido a nossa pesquisa.

Referências

ABRAHANSON, IA. **Citocinas na doença de Chagas: uma perspectiva pessoal sobre três décadas de pesquisa.** Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=184>>. Acesso em 18 Jul 2016.

GREGHI, S.L.A. **Avaliação Quantitativa das citocinas IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, e do TGF-B, presentes na saliva de pacientes com periodontite, antes e após a submissão à psicoterapia- análise comparativa com pacientes controles.** 2011. 214f. Tese (Doutorado)- Universidade de São Paulo, Faculdade de odontologia, Bauru 2011.

MONCAYO, A. **Chagas disease: current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the southern cone countries.** Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762003000500001&script=sci_arttext&lng=pt>. Acesso em 26 Ago 2016.

MURPHY, K; TRAVERS, P; WALPORT, M. **Imunobiologia de Janeway.** 7 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

