

Expressão de citocinas em biópsias de lesão de pele emblocadas em parafina de pacientes com leishmaniose tegumentar americana

Daise D. C. Hippólito¹; Cristina S. Meira¹; Marta M. Maia¹; Cristina T. Kanamura²; Aparecida H. S. Gomes³; José A. L. Lindoso^{4,5}; Vera L. Pereira-Chiocola¹

¹Laboratório de Biologia Molecular de Parasitas e Fungos, Centro de Parasitologia e Micologia; e

²Centro de Patologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo. 01246-000 São Paulo, SP, Brasil.

³Laboratório Regional de Sorocaba; Instituto Adolfo Lutz, Sorocaba, SP, Brasil. ⁴Instituto de Infectologia Emilio Ribas, SP, ⁵Instituto de Medicina Tropical SP, Brasil.

Email: daise.hippolito@usp.br

A resposta celular de pacientes com leishmaniose tegumentar americana (LTA) determina a evolução da doença. Este estudo investigou se pacientes com LTA expressam genes codificadores para IFN- γ , IL-10 e TNF- α . Foram analisadas 31 amostras em formalina e incluídas em parafina de biópsias de pacientes com LTA (imunohistoquímica e PCR positivos) divididas em 2 grupos: I, 24 pacientes com LTA e II, 7 pacientes com leishmaniose mucosa. As moléculas de RNA foram extraídas com kit, tratadas com DNase, quantificadas por fluorimetria e realizada a síntese de cDNA. A expressão relativa de IFN- γ , IL-10 e TNF- α foi determinada (em duplicata) por PCR em tempo real. O gene GAPDH foi utilizado como controle endógeno nas reações. Os padrões de expressão de cada gene alvo e endógeno foram determinados pelo “C_T comparativo” ($2^{-\Delta\Delta C_T}$) utilizando um grupo de 5 indivíduos normais (biópsias de pele de cirurgia plástica). Os resultados foram expressos em mediana e a análise estatística realizada pelo teste “Mann Whitney” (GraphPad Prism). Em comparação com os indivíduos normais observaram-se níveis de expressão para INF- γ de 28 e 72.85 vezes maior para os grupos I e II, respectivamente. Os níveis de expressão de IL-10 foram 7.44 e 3.12 vezes maior do que os normais nos grupos I e II, respectivamente. Os níveis de TNF- α foram de 5.11 e 4.39 vezes maior do que os normais nos grupos I e II, respectivamente. Não foram observadas diferenças entre os grupos I e II. Houve predominância de genes codificadores para INF- γ e TNF- α (Th1) e baixa produção de IL-10 durante a fase ativa da LTA (cutânea e mucosa) sugerindo que a predominância desta resposta está associada ao desenvolvimento da lesão em ambos os grupos. Estas citocinas são relacionadas à imunopatogênese da LTA. A resposta Th1 com produção de IFN- γ , TNF- α e IL-12 na LTA associa-se ao controle da infecção, porém aumentos descontrolados podem levar a exacerbação da resposta imune e destruição dos tecidos, como observado no grupo II (forma mucosa).

Palavras-chave: LTA, expressão gênica, citocinas.

Apoio: FAPESP (2015/04803-6)