

- Imunologia da Relação Hospedeiro-Parasita

32.001

TOLERÂNCIA A LPS E PERFIL CELULAR NA LAVADO PERITONEAL EM MORTALIDADE PÓS-LIGADURA CECAL E PUNÇÃO. Soriano, F. G.; Goloubkova T.<sup>\*\*</sup>; Velasco, I. T. Clínica Médica USP

**Objetivo:**

Estudar se a indução de tolerância em camundongos é efetiva em alterar a mortalidade perante a infecção polimicrobiana e a resposta neutrofílica e de produção de óxido nítrico.

**Métodos e Resultados:**

Camundongos de 6 a 8 semanas, machos, com peso oscilando entre 22 a 25 gramas. Foi injetado LPS 1,0 mg/Kg por 5 dias com 2 dias de repouso grupo tolerante (T), e salina grupo controle (C). Os dois grupos (controle e tolerante) foram submetidos a ligadura e punção cecal (CLP). Realizado lavado peritoneal e contagem do total de células e percentual de neutrófilos após 4 horas de sepse, n = 6 em cada grupo. Coletado sangue para dosagem de nitrito e nitrato no soro pelo método de Griess. A mortalidade foi analisada em outro grupo de animais com 30 camundongos por grupo. A contagem de neutrófilos mostrou (número total de células/animal): 5000 ± 600 vs. 9000 ± 1000 controle vs. tolerante sem CLP e 7500 ± 800 vs. 13.000 ± 1200 controle vs. tolerante com CLP (p < 0,05). Os metabólitos do óxido nítrico mostraram 2,1 ± 0,2 vs. 2,0 ± 0,1 microg/ml Controle vs Tolerante sem CLP; e 2,5 ± 0,3 vs. 3,2 ± 0,4 microg/ml Controle vs Tolerante com CLP (p < 0,05). A curva de mortalidade em 7 dias mostrou uma redução de mortalidade no grupo tolerante 43% vs 11% no grupo controle.

**Conclusões:**

O estudo de NO e células do lavado peritoneal mostra que há uma melhor resposta do animais tolerantes perante a severidade da sepse. Confirmado pelo dado de mortalidade onde a tolerância elevou a sobrevivência de 11% para 43%. A indução de tolerância mostra-se efetiva em proteger os animais de uma infecção bacteriana.

32.002

NEUTROPHILS PARTICIPATE IN THE EVOLUTION OF *LEISHMANIA (L.) CHAGASI* INFECTION IN MICE. <sup>1</sup>Yokoo, M; <sup>2</sup>Ribeiro, O. G.; <sup>2</sup>Ibanez, O.; <sup>4</sup>Goto, H. <sup>1</sup>Soroepidemiologia e Imunobiologia Celular e Molecular USP <sup>2</sup>Imunogenética Instituto Butantan; <sup>4</sup> Soroepidemiologia e Imunobiologia Celular e Molecular USP

**Objetivo:**

Non-specific immune response is crucial for the establishment of leishmaniasis. The role of polymorphonuclear neutrophil (PMN) in the evolution of leishmaniasis is not totally known. In this work we analyzed the influence of PMN in non-isogenic strains of mice selected for maximal (AIRmax) and minimal (AIRmin) acute inflammatory reactivity on the outcome of visceral leishmaniasis (VL).

**Métodos e Resultados:**

In AIRmax, AIRmin and isogenic BALB/c and DBA/2 mouse strains (5 samples of each), upon intraperitoneal inoculation of 2x10<sup>5</sup> purified *Leishmania (L.) chagasi* amastigotes, during the infection from 2 hours through 28 days, total and differential cell counts were analyzed in the peritoneum as well as the parasite burden in the peritoneum, lymph node, liver and spleen using limiting dilution assay. BALB/c mice were susceptible and DBA/2 resistant to *Leishmania (L.) chagasi*. After 2 and 6 h post infection (PI), we observed in the peritoneal liquid of AIRmax greater mononuclear cells migration in AIRmin, but also PMN. In AIRmax we verified lower parasite burden in the peritoneal liquid and mesenteric lymph node in the initial phase. The parasite burden was also lower both in the liver (12 h PI) and spleen (2 and 6 h PI) in the initial and in the latest phase in the liver (14 days PI). Parallel to the difference in the inflammatory cell migration, we observed a difference in parasite burden in site where the parasite was inoculated in the initial phase, and in liver in a latest phase. In the draining lymph nodes, differences were observed in both phases. Parasite burden in the latest phase shows similarity between AIRmax and resistant DBA/2 and AIRmin to BALB/c, the former being even more susceptible.

**Conclusões:**

Our data suggest a role of PMN in the control of the parasitism in the initial phase and a modulatory effect on the immune response in the latest phase.

32.003

EFEITO DE TEOFILINA SOBRE A INFECÇÃO POR *STRONGYLOIDES VENEZUELENSIS*: DINÂMICA DA INFECÇÃO, NÚMERO E TAMANHO DOS VERMES E CONTEÚDO TOTAL DE HISTAMINA NO INTESTINO DELGADO DE CAMUNDONGOS. <sup>1</sup>Mazzolin, L. P.; <sup>1</sup>Richini, V. B.<sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup>Sequeira, T. C. G. O.; <sup>1</sup>Gomes, J. C. <sup>1</sup>Farmacologia UNESP-Botucatu; <sup>2</sup>Parasitologia, UNESP - Botucatu

**Objetivo:**

Estudos demonstram que a infecção parasitária é agravada quando há diminuição de número de mastócitos, sugerindo seu envolvimento na defesa e cura do hospedeiro. Assim, objetivamos verificar o efeito do inibidor da secreção de mastócitos, a teofilina, sobre vários aspectos relacionados à infecção.

**Métodos e Resultados:**

A infecção de camundongos com 2000 L<sub>3</sub> de *Strongyloides venezuelensis* foi monitorada pela contagem de ovos nas fezes, pela contagem de vermes no intestino delgado e pela medição de amostras destes vermes. Foram feitas dosagens do conteúdo total de histamina no intestino delgado. O tratamento com teofilina (25 mg/kg/dia, ip) foi do 1º ao 7º dia após a infecção quando os animais foram mortos e as amostras recolhidas.

A teofilina aumentou significativamente a quantidade de ovos (média±EPM) encontrados nas fezes (controle: 7208,3±1045,8; tratado: 13266,7±2256,5; n=6; p<0,05; teste "t"). O período de liberação de ovos não sofreu alteração: período pré-patente de 5 dias, pico de eliminação de ovos no 7º dia após a infecção e negatificação dos exames de fezes no 12º dia após a infecção. O número e comprimento dos vermes não sofreram alterações significativas, bem como o conteúdo total de histamina presente no intestino delgado.

**Conclusões:**

Sugere-se que apesar do aumento significativo do número de ovos não houve agravamento da infecção, uma vez que o período da liberação de ovos, o número e o comprimento dos vermes não sofreram alterações significativas. O conteúdo total de histamina no intestino delgado também não foi alterado, sugerindo o não envolvimento dos produtos de mastócitos na cura do hospedeiro.

32.004

NÍVEIS DE TGF-β1 EM SORO DE PACIENTES COM HANSENÍASE E SUA MODULAÇÃO PELA CICLOSPORINA A EM PACIENTES COM NEURITE CRÔNICA. <sup>1</sup>Rodrigues, Y.S.; <sup>1</sup>Sena, C. B. C.<sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup>Salgado, C. G.; <sup>1</sup>do Nascimento, J. L. M.; <sup>1</sup>Departamento de Fisiologia UFPA; <sup>2</sup>Patologia UFPA

**Objetivo:**

Avaliar os níveis do Fator de Crescimento e Transformação (TGF-β1) como uma citocina importante para a imunoregulação da hanseníase, como base para auxiliar no entendimento da melhora clínica obtida dos pacientes reacionais crônicos após o início do tratamento com drogas imunomoduladoras, tais como a ciclosporina (CsA) e prednisona.

**Métodos e Resultados:**

Para avaliar os níveis de TGF-β1 no soro (1:5) de pacientes hansenianos divididos conforme diferentes formas clínicas da doença (hanseníase indeterminada – HI, Tuberculóide - HT, Dimorfo – HD, Virchowiano – HV), foi utilizado o método de ELISA direto (imunoenzimático). Os pacientes foram divididos em quatro grupos: grupo controle - não portador (n=6), grupos portadores sem tratamento e sem reação hanseniana [HI (n=5), HT (n=9), HD (n=8) e HV (n=3)], grupo de portadores com reação hanseniana em tratamento com prednisona [HD (n=2), HV (n=4)] e grupo com reação hanseniana em tratamento com CsA e prednisona [HD (n=11), HV (n=9)]. Níveis elevados de TGF-β1 foram observados em pacientes reacionais em tratamento com prednisona, principalmente o paciente com Mal de Hansen virchowiano. Estes valores retornaram aos níveis mais baixos dos demais grupos quando os pacientes reacionais crônicos foram submetidos ao tratamento combinado com CsA e prednisona, estatisticamente semelhante ao grupo controle (p<0.05). Estes resultados coincidem com a surpreendente melhora clínica sensitiva e motora perdida ou diminuída pela reação.

**Conclusões:**

Os níveis elevados de TGF- $\beta$ 1 são importantes nos processos reacionais devido à inflamação e consecutiva fibrose do nervo afetado. Entretanto, com a introdução do imunomodulador (CsA) pode-se cogitar um efeito protetor ao nervo lesado. Isto coincide com a melhora clínica dos pacientes, o que pode ser relevante para estudos terapêuticos futuros a fim de controlar o processo neurodegenerativo crônico.

32.005

INFECTION OF VERO CELLS AND HUMAN MACROPHAGES PERIPHERAL DERIVED BLOOD-BY *CRITHIDIA DEANEI* AND *BLASTOCRITHIDIA CULICIS*: ROLE OF NITRIC OXIDE IN THE INFECTION. <sup>1</sup>Soares Rêgo, A.; <sup>1</sup>Secca, C.\*; <sup>1</sup>Castro Rangel, H.; <sup>1</sup>Bourguignon, S.; <sup>2</sup>Rodrigues, C. R.; <sup>3</sup>Motta, M. C.; <sup>4</sup>Saraiva, E.; <sup>1</sup>Santos, D. O. <sup>1</sup>Biologia Celular e Molecular, UFF; <sup>2</sup>FCF-UFRJ; <sup>3</sup>Biofísica CCS-UFRJ; <sup>4</sup>Microbiologia, UFRJ

**Objetivo:**

There have been recent reports of trypanosomatids, other than *Trypanosoma* and *Leishmania*, in some opportunistic cutaneous infections in immunocompromised individuals HIV-infected (Boisseau-Garsaud *et al.* Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 94: 51,2000). Recently, our lab showed the infection of mouse dermal fibroblasts by *C. deanei* and *Herpetomonas roitmani* (Santos *et al.*, J. Euk. Microb. 51(5):570, 2004) raising the question about the role of monoxenous trypanosomatids species as causing opportunistic infections in immunocompromised individuals. However, monoxenous trypanosomatids are usually found in insect hosts and are not considered capable of causing parasitic diseases in vertebrates. The objective of the present study is to investigate the role of Nitric Oxide in the infection of vertebrate cells by *C. deanei* and *B. culicis*.

**Métodos e Resultados:**

*C. deanei* or *B. culicis* (with or without endosymbiont) were incubated with VERO cells or human macrophages peripheral blood-derived with RPMI medium supplemented with FCS 10% in a 24 well plates at 28C. In some experiments, VERO cells were incubated with trypanosomatids in the presence of PMA [0,5 mg/ml], a cell activator, while in other experiments, human macrophages were incubated with *C. deanei* or *B. culicis* in the presence of L-NAME [20uM] (NO-sintase inhibitor). After determined times the smears containing the cells were removed, fixed, stained by Giemsa and observed by Light microscopy. Our results showed that PMA - activated VERO cells produce Nitric Oxid (NO) and, consequently, kill the trypanosomatids. In the other hand, L-NAME by blocking NO sintase, let vulnerable the macrophages to the infection by *C. deanei* or *B. culicis*. VERO cells without PMA treatment showed infection by these trypanosomatids, while human macrophages did not show any infection by *C. deanei* or *B. culicis* in the absence of NO-sintase inhibitor.

**Conclusões:** Taken together, our results suggest that process of infection of VERO cells and human macrophages by *C. deanei* or *B. culicis* depends on the ability of these cells to produce NO. These are very important data, since these trypanosomatids are been reported as cause of opportunistic lesions in HIV-infected individuals and it is known that one of the characteristics of the immunocompromised individuals is the absence of cell activation.

32.006

RESPOSTAS HEMATOLÓGICAS DE PACU *PIARACTUS MESOPOTAMICUS* À INFECÇÃO E RE-INFECÇÃO EXPERIMENTAL COM O ECTOPARASITA *DOLOPS CARVALHOI*. Castro, F. J.; Fernandes, M. N.; Ciências Fisiológicas UFSCar

**Objetivo:**

O objetivo do trabalho foi verificar se hospedeiros previamente infectados com o ectoparasita *Dolops carvalhoi* apresentam uma resposta hematológica diferenciada daquela observada em animais infectados pela primeira vez.

**Métodos e Resultados:**

Três grupos de exemplares juvenis de pacu (N = 36) foram aclimatados em sala experimental com condições controladas (fotoperíodo 12:12 claro:escuro e temperatura 25°C). Após um mês de aclimação, um grupo foi infectado com 6 parasitas por peixe (grupo PI) e por um período de 7 dias, quando então os parasitas foram cuidadosamente removidos. Após 12 dias de recuperação estes mesmos animais foram novamente infectados em conjunto com outro grupo infectado pela primeira vez (grupo I). Após 5 dias de re-infecção, os 3 grupos (incluindo o grupo controle) foram

amostrados através de punção da veia caudal. Hematócrito, contagem diferencial de células sanguíneas de defesa, relação peso do rim/peso corporal e número de parasitas por peixe foram determinados. O número de parasitas por peixes foi menor no grupo PI do que no grupo I (0,6 versus 3,1 parasitas por peixe, respectivamente), bem como alteração no hematócrito foi verificada apenas em peixes do grupo I. A porcentagem de neutrófilos aumentou em ambos os grupos infectados, porém foi comparativamente maior no grupo PI (6,72% em I e 11,73% em PI). Porcentagem de células granulocíticas PAS-positivas foi maior apenas no grupo PI (0,50% em I e 1,13% em PI). Nenhuma alteração foi verificada quanto à relação peso do rim/peso corporal.

**Conclusões:**

Os resultados mostram uma resposta hematológica diferenciada em peixes que experimentam uma infecção prévia e um possível aumento da resistência ao parasita quando comparado aos animais infectados pela primeira vez.

32.007

IMUNIDADE HUMORAL EM COELHOS IMUNIZADOS COM EXTRATOS DE BERNE. Pinto, S. B.; Soccol, V. T.; Minozzo, J. C.; Vendruscolo, E. C.; Rochadelli, R.; Freitag, A.; Guetner, C. Imunoparasitologia UFPR

**Objetivo:**

O presente experimento foi delineado com o objetivo de avaliar a resposta imune humoral de coelhos frente a extrato de larvas (L<sub>2</sub> e L<sub>3</sub>) de *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr., 1781).

**Métodos e Resultados:**

Vinte e quatro coelhos (12 fêmeas e 12 machos da raça Nova Zelândia Branco, com 60 dias de idade e peso vivo compreendido entre 1,4 – 1,6 Kg) foram imunizados com três diferentes extratos de larvas de *D. hominis*. Foram estabelecidos três grupos imunizados da seguinte forma: grupo A (quatro fêmeas e quatro machos), com extrato solúvel; grupo B (quatro fêmeas e quatro machos), com extrato bruto; e grupo C, (quatro fêmeas e quatro machos), com extrato solúvel mais extrato bruto. Uma dose de reforço foi aplicada no 135º dia após a primeira inoculação, nos animais dos grupos A, B e C. Amostras de soro foram coletadas quinzenalmente do dia 0 aos 150 dias após a primeira imunização (DPI) para verificar a cinética de produção de anticorpos por meio do ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA). Anticorpos circulantes foram encontrados em níveis máximos ( $\bar{x} = 1,260$ ;  $Sx=0,195$ ) a partir de 45 DPI. A dose de reforço induziu o aparecimento imediato de uma resposta secundária. O extrato solúvel ( $\bar{x} = 0,762$  ;  $Sx=0,434$ ) foi mais eficaz na estimulação da resposta imune humoral de machos e fêmeas. Quando comparou-se a resposta imune-humoral de machos e fêmeas para cada tratamento, constatou-se diferença significativa [ $F_{(3; 320; 0,05)} = 7,99^*$ ] apenas entre os animais imunizados com extrato bruto. As fêmeas, do referido tratamento, apresentaram níveis de anticorpos superiores aos dos machos.

**Conclusões:**

Os testes sorológicos mostraram que os extratos foram imunogênicos para coelhos. Anticorpos circulantes foram encontrados em níveis máximos aos 45 DPI. A dose de reforço provocou o aparecimento de resposta secundária. O extrato solúvel foi o mais eficaz na estimulação da resposta imune-humoral. As fêmeas imunizadas com extrato bruto apresentaram níveis de absorvância superior aos dos machos durante todo o período experimental.

32.008

ESTABELECIMENTO DE UM MODELO EXPERIMENTAL MURINO À INFECÇÃO POR *FUSARIUM SP.* Carvalho Júnior, P. S.; Sousa, S. M.; Costa, G. C.; Silva, L. A.; Nascimento, M. D. S. B.; Nascimento, F. R. F.; Bezerra, G. F. B. Patologia UFMA

**Objetivo:** A fusariose é uma doença causada pelo fungo do gênero *Fusarium*, um fitopatógeno que também provoca infecção local ou sistêmica em humanos, principalmente imunocomprometidos, podendo levá-lo ao óbito. O objetivo deste trabalho foi tentar estabelecer um modelo experimental da fusariose em camundongos, para melhor conhecimento sobre a doença.

**Métodos e Resultados:**

Camundongos das linhagens Swiss, C3H/HePAS e C57Bl/6 (2 meses, machos, 15/grupo) foram inoculados por via intraperitoneal com 0,2 mL de suspensão de *Fusarium* isolado do solo e mantido em ágar por várias passagens. Após 1 e 4 semanas pós inoculação (pi), os camundongos foram pesados e sacrificados e tiveram seus pulmões, baço e fígado removidos, pesados e triturados em

salina. Uma alíquota destas suspensões foi semeada em ágar Batata e o crescimento do fungo foi acompanhado por uma semana. Os 5 animais restantes foram mantidos para acompanhamento da sobrevida. Apenas a linhagem C3H/HePAS apresentou redução (14,5%) no peso corporal na 1ª semana pi. A linhagem C57Bl/6 demonstrou aumento (98,5%) do peso do fígado na 1ª semana pi. As 3 linhagens apresentaram aumento do peso do baço durante a 1ª semana pi. Na 4ª semana apenas a C57Bl/6 e C3H/HePAS mantiveram o peso do baço aumentado. Não houve diferenças significativas na avaliação do peso do pulmão em nenhuma das linhagens. Houve crescimento do fungo nas culturas de todos os órgãos das 3 linhagens na 1ª semana pi, porém, na 4ª semana pi não houve crescimento no pulmão em nenhuma das linhagens, sendo que a C3H/HePAS se destacou pelo alto crescimento do fungo no baço. Em relação à sobrevida, a linhagem C3H/HePAS foi a mais susceptível uma vez que após 6 meses de infecção 100% dos animais foram à óbito, contra 60% dos C57Bl/6 e 40% dos Swiss.

**Conclusões:**

Os dados nos permitem concluir que das 3 linhagens testadas, a C3H/HePas é a mais susceptível ao *Fusarium*, sendo o modelo de infecção intraperitoneal bastante útil para a avaliação da disseminação fúngica e controle da infecção.

32.009

KININS LIBERATED BY *TRYPANOSOMA CRUZI* LINK INNATE TO ADAPTATIVE IMMUNITY BY ACTIVATING DENDRITIC CELLS VIA BRADYKININS B<sub>2</sub> RECEPTOR. <sup>1</sup>Monteiro, A. C.; <sup>1</sup>Schmitz, V.; <sup>1</sup>Todorov, A.; <sup>2</sup>Tanowitz, H.; <sup>3</sup>Gazzinelli, R.; <sup>4</sup>Almeida, I.; <sup>4</sup>Tordecilhas, A. C.; <sup>5</sup>Lenzi, H. L.; <sup>1</sup>Oliveira, D. L.; <sup>1</sup>de Castro, C. F.; <sup>6</sup>Hinds, L. B. A.; <sup>7</sup>Pesquero, J. B.; <sup>1</sup>Lima, A. P. C.; <sup>8</sup>Morrot, A.; <sup>9</sup>Bonomo, A. C.; <sup>10</sup>Muller-Esterl, W.; <sup>1</sup>Scharfstein, J.; <sup>1</sup>IBCCF-UFRJ; <sup>2</sup>Albert Einstein College of Medicine; <sup>3</sup>ICB-UFMG; <sup>4</sup>USP; <sup>5</sup>FIOCRUZ <sup>6</sup>Imunologia - Microbiologia UFRJ; <sup>7</sup>UNIFESP; <sup>8</sup>Johns Hopkins Hospital; <sup>9</sup>INCa; <sup>10</sup>University of Frankfurt Medical School

**Objetivo:**

Kinins are short-lived peptide hormones identified as putative “danger” signals for the immune system. Here we asked if blockade of kinin degradation by host peptidases (eg. ACE/Kininase II) modulates immunity against *Trypanosoma cruzi*, a protozoan generating kinins from kininogens through cruzipain.

**Métodos e Resultados:**

Pre-treatment of mice with captopril (ACE inhibitor) led to enhanced accumulation of kinins in infection sites, stimulating innate (IL-12 production by CD11c<sup>+</sup>DCs) and adaptive immunity (IFN- $\gamma$  secretion by *T. cruzi*-specific T cells) via the bradykinin B<sub>2</sub> receptor/cruzipain-dependent pathway. Ineffective in J129.B<sub>2</sub>R<sup>-/-</sup> mice, captopril stimulated type-1 immune responses in WT mice, aggravating chronic heart pathology. Intravital microscopy, combined to mechanistic studies in TLR deficient strains, indicated that TLR2 activation by trypomastigotes leads to influx of plasma-born kininogens into extravascular tissues. In ACE deficient tissues, downstream liberation of kinins by cruzipain amplifies the TLR2 response via B<sub>2</sub>R. In vitro analysis of trypomastigote-induced activation (IL-12 and CD86/CD40) of immature CD11c<sup>+</sup>DCs (WT, TLR2<sup>-/-</sup>, TLR4<sup>-/-</sup> or MyD88<sup>-/-</sup>) implicated B<sub>2</sub>R, rather than TLR2/TLR4, as the primary sensors of pathogen threat.

**Conclusões:**

In conclusion, kinins generated by *T. cruzi* link innate/adaptive immunity via B<sub>2</sub>R. We also suggest that ACE, by degrading excess of kinins (“danger”) released in inflamed tissues, may contribute to fine-tuning of immune responses.

32.010

ENZYME ACTIVITY ASSAY IN THE GINGIVAL FLUID OF PATIENTS SUBMITTED TO PERIODONTAL SURGERY. <sup>1</sup>Assis, D. M.; <sup>1</sup>Nunes, T. A. S.; <sup>1</sup>Brigagão, M. R. P. L.; <sup>2</sup>Ribeiro Júnior, N. V.; <sup>2</sup>Esteves, A. J.; <sup>3</sup>Juliano, M. A.; <sup>4</sup>Alves, L. C. <sup>1</sup>Ciências Exatas, EFOA; <sup>2</sup>Clínica e Cirúrgica EFOA; <sup>3</sup>Biofísica UNIFESP; <sup>4</sup>Ciências Exatas, EFOA

**Objetivo:** Periodontitis is caused by degradation of connective tissue constituents in the periodontium. Several studies have shown that *Porphyromonas gingivalis* (anaerobic Gram-negative bacteria) is strongly associated with the outset and progress of the periodontal disease. *P. gingivalis* produces several virulence factors such as adhesins, lipopolysaccharides and proteases, including the cysteine-protease gingipain. Cysteine-proteases from *P. gingivalis* play a critical role in

the pathogenesis of periodontitis, mainly in host colonization, inactivation of host defenses and tissue deterioration. Our aim in this study was to measure the enzyme activity of gingival exudate on the chromogenic substrate Ac-Phe-Arg-pNA in order to evaluate the efficiency of periodontal surgery.

**Métodos e Resultados:** The proteolytic activity of gingival exudate enzymes was determined in normal individuals (n=14) and patients with periodontitis (n=14) before and after surgical removal of injured tissue. Samples were incubated in 0.1 M Tris-HCl buffer solution (pH 7.5) with 2 mM EDTA, 0.1 M NaCl, 10 mM CaCl<sub>2</sub>, 10 mM L-cysteine, 50 mM Gly-Gly and 50 mM Ac-Phe-Arg-pNA. The substrate hydrolysis was measured by following spectrophotometrically ( $\lambda = 410$  nm) the time-course appearance of pNA in solution. The results of the enzyme activity assays have shown that 11 of the patients submitted to surgery had the degree of their disease decreased ( $p < 0.05$ ) and 3 had exudates exhibiting enzyme activity comparable to that of the exudates from normal individuals ( $p < 0.05$ ) thus confirming the clinical observation.

**Conclusões:**

The present results indicate the enzyme assay as an efficient method to follow the disease evolution by measuring the enzyme activity in the gingival exudate of patients submitted to periodontal surgery.

Financial support: EFOA, CNPq.

32.011

PRODUÇÃO DE SUPERÓXIDO EM MACRÓFAGOS ALVEOLARES DE RATOS ENDOTOXÊMICOS. <sup>1</sup>Paes-Silva, R. P.; <sup>1</sup>Macedo, E. M. C.; <sup>1</sup>Viana, M. T.; <sup>1</sup>Manhães-de-Castro, R.; <sup>1</sup>Castro, C. M. M. B.; <sup>1</sup>Nutrição UFPE; <sup>2</sup>Medicina Tropical UFPE

**Objetivo:** Verificar, in vitro, a produção do radical superóxido ( $O_2^-$ ) em macrófagos alveolares de ratos endotoxêmicos.

**Métodos e Resultados:** Foram analisados ratos machos da linhagem Wistar, com idade entre 90 e 120 dias, da colônia do Departamento de Nutrição-UFPE, sendo 6 do grupo controle e 6 do grupo tratado com lipopolissacarídeo (LPS). O lavado broncoalveolar (LBA) foi realizado com soro fisiológico para a recuperação dos macrófagos. Em cada animal coletou-se 30mL de LBA, com alíquotas de 3mL injetadas na traquéia e aspiradas. Em seguida, foi centrifugado a 1500 rpm por 15 min desprezando-se o sobrenadante e do precipitado foram recuperados os MA sendo separados por adesão em placas tipo Falcon ( $1 \times 10^6$  células/mL) em meio de cultura. Foram preparados dois sistemas de análise descontínua com avaliação a cada 1h, durante um período de 2h. Aos sistemas foram adicionados: água destilada ou SOD, citocromo e PMA (acetato miristato de forbol). Em cada tempo foram retiradas alíquotas de 700 $\mu$ l. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 550nm. Os resultados finais foram expressos nm/mL. O grupo de animais tratados com LPS comparando-se ao grupo de animais controle apresentou maior produção de  $O_2^-$  em todos os horários pesquisados (1 hora: C 11,9 LPS 15,4; teste t Student,  $p=0,010$ ), (2 hora: C 18,6, LPS 26,6; teste t Student,  $p=0,050$ )

**Conclusões:**

Animais endotoxêmicos apresentaram maior produção de  $O_2^-$  após estimulação. Assim, nestes animais, pode-se dizer que estas células têm um maior potencial microbicida.

32.012

PERFIL LEUCOCITÁRIO NO SANGUE E CÉLULAS NO LAVADO BRONCOALVEOLAR DE RATOS ENDOTOXÊMICOS. <sup>1</sup>Paes-Silva, R. P.; <sup>1</sup>Macedo, E. M. C.; <sup>1</sup>Porto, S.M.M.S.; <sup>1</sup>Viana, M. T.; <sup>1</sup>Manhães-de-Castro, R.; <sup>2</sup>Castro, C. M. M. B.; <sup>1</sup>Nutrição UFPE; <sup>2</sup>Medicina Tropical UFPE

**Objetivo:** Comparar contagens totais e diferenciais de células do sangue periférico e do lavado broncoalveolar (LBA) em ratos endotoxêmicos.

**Métodos e Resultados:** Foram utilizados 24 ratos machos, Wistar, idade entre 90 e 120 dias, Departamento de Nutrição-UFPE. Metade destes foi tratada com lipopolissacarídeo (LPS), ip, obtendo-se assim grupo controle e grupo tratado com LPS. O sangue foi obtido da extremidade da cauda do animal, coletado em tubos de ensaio acrescidos com EDTA a 3%, utilizando-se na contagem total dos leucócitos a solução de Turk (1:20). Para a contagem diferencial, realizou-se a técnica do estiramento sanguíneo, utilizando para coloração o Kit Panótico Rápido (KPR). A leitura foi feita em microscópio com objetiva de 100, contando-se um total de 100 células. O LBA foi coletado

através de traqueostomia, injetando e aspirando na traquéia, alíquotas de 3mL de soro fisiológico. A contagem total foi mensurada a partir de uma diluição em Azul Tripán (1:10). A contagem diferencial das células do LBA foi realizada após citocentrifugação, 800rpm/10min e as lâminas, coradas com KPR e lidas no microscópio em um total de 100 células. Houve diferença na contagem total das células do sangue (C  $10,3 \cdot 10^3$ , LPS  $17,3 \cdot 10^3$ ;  $p < 0,001$ ), porém não houve diferença nas do LBA (C  $25 \cdot 10^4$ , LPS  $20 \cdot 10^4$ ;  $p = 0,435$ ). Na contagem diferencial do sangue, não se observou diferença no número de monócitos (C  $6 \cdot 10^3$ ; LPS  $4 \cdot 10^3$ ;  $p = 0,084$ ) e de eosinófilos (C  $3,5 \cdot 10^3$ ; LPS  $2 \cdot 10^3$ ;  $p = 0,098$ ), porém, houve diminuição no número de linfócitos (C  $69,5 \cdot 10^3$ ; LPS  $41 \cdot 10^3$ ;  $p < 0,001$ ) e aumento de neutrófilos dos animais endotoxêmicos (C  $20 \cdot 10^3$ ; LPS  $50 \cdot 10^3$ ;  $p < 0,001$ ). Na contagem diferencial do LBA, houve diminuição de macrófagos (C  $9,5 \cdot 10^4$ ; LPS  $8,3 \cdot 10^4$ ;  $p < 0,001$ ), de linfócitos (C  $3 \cdot 10^3$ ; LPS  $2 \cdot 10^3$ ;  $p = 0,034$ ) e aumento de neutrófilos (C  $2 \cdot 10^3$ ; LPS  $15 \cdot 10^3$ ;  $p < 0,001$ ), não havendo diferença quanto aos eosinófilos (C  $2 \cdot 10^3$ ; LPS  $1 \cdot 10^3$ ;  $p = 0,412$ ).

**Conclusões:** Em ratos endotoxêmicos, a contagem total de leucócitos do sangue foi maior quando comparados aos controles, entretanto, isto não foi observado nas células do LBA. Quanto a contagem diferencial, houve aumento predominante de neutrófilos tanto no sangue quanto no LBA.

32.013

AVALIAÇÃO DA DISSEMINAÇÃO FUNGICA EM CAMUNDONGOS SUIÇOS FEMEAS INFECTADOS PELO *TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES*. <sup>1</sup>Camargo, M. R.; <sup>2</sup>Venturini, J.; <sup>2</sup>Okamoto, C. K.; <sup>2</sup>Ruiz, M. S.; <sup>3</sup>Arruda, M. S. P.; <sup>1</sup>Biologia UNESP-Bauru; <sup>2</sup>Ciências Biológicas UNESP; <sup>3</sup>Ciências Biológicas UNESP-Bauru

**Objetivo:**

As dermatofitoses estão entre as doenças mais comuns do mundo. São causadas por fungos filamentosos chamados dermatófitos. Estes são distribuídos em três gêneros: *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton*, que podem induzir várias alterações inflamatórias, inclusive infecções crônicas difíceis de se erradicar. De modo geral, os mecanismos envolvidos no controle ou modulação das dermatofitoses não se encontram bem esclarecidos. Nas últimas décadas, tem-se postulado o papel dos esteróides sexuais nesse processo. Esse controle seria exercido pela ligação de uma proteína citoplasmática fúngica à progesterona, que inibiria seu crescimento. Neste estudo investigaremos essa premissa, correlacionando a disseminação fúngica com as fases do ciclo estral e picos hormonais.

**Métodos e Resultados:** Inicialmente, separamos 26 fêmeas, de acordo com análise de esfregaço vaginal em grupos estro e diestro. Os animais foram inoculadas via coxim plantar com  $10^7$  microconídeos viáveis/0,04 ml de uma suspensão de *T. mentagrophytes* e eutanizados aos 7 e 14 dias da inoculação. Fragmentos de baço, fígado, rins, coxins plantares inoculados e linfonodos poplíteos foram cultivados em meio Mycobiotic Ágar. Os resultados revelaram que, embora o ciclo estral não afetasse a colonização fúngica já que, aos 7 dias, todos os animais exibiram muitos fungos no local do inóculo e, ausência deles, aos 14 dias, animais inoculados na fase estro apresentaram sempre maior disseminação fúngica que os inoculados na fase diestro.

**Conclusões:**

Considerando que na fase diestro há aumento dos níveis de progesterona, nossos dados sugerem o possível papel desse hormônio como um inibidor da disseminação do fungo; revelam ainda este modelo experimental como uma opção para estudos que envolvam as relações hospedeiro-parasita envolvidas nas dermatofitoses.

32.014

RECRUTAMENTO DE NEUTRÓFILOS MEDIADO POR FAS LIGANTE MODULA A INFECÇÃO POR *LEISHMANIA MAJOR* <sup>1</sup>Ribeiro-Gomes, F. L.; <sup>1</sup>Moniz-de-Souza, M. C. A.; <sup>2</sup>Borges, V. M.; <sup>3</sup>Nunes, M. P.; <sup>1</sup>Barradas, M. M.; <sup>3</sup>Bozza, P. T.; <sup>4</sup>Calich, V. L. G.; <sup>1</sup>Reis, G. A.; <sup>1</sup>IBCCF-UFRJ; <sup>2</sup>Centro Pesquisa Gonçalo Muniz; <sup>3</sup>Fisiologia e Farmacodinâmica IOC-FIOCRUZ; <sup>4</sup>ICB-USP

**Objetivo:** Neutrófilos são a primeira linha de defesa contra infecções, mas apresentam efeito deletério na infecção de hospedeiros suscetíveis por *L. major*. Nós investigamos o papel do Fas ligante (FasL) em hospedeiros infectados por *L. major*.

**Métodos e Resultados:**

FasL exacerba a infecção, uma vez que camundongos *gld*, deficientes em FasL, são mais resistentes à infecção do que os camundongos Balb/c (*wt*). Formas promastigotas de *L. major*

induzem apoptose via FasL de macrófagos residentes, levando a secreção de quimiocinas e extravasamento de neutrófilos (PMN) dependente de FasL. Exudato de PMN mortos de ambos *wt* e *gld*, assim como PMN vivos de *wt* aumentaram a replicação de *L. major* em macrófagos singênicos. Entretanto, PMN vivos de *gld* não exacerbaram, e até mesmo mataram o parasito intracelular. A proteção conferida pelo PMN de *gld* deu-se por apoptose retardada, uma vez que o anticorpo neutralizante anti-FasL atrasou a apoptose em PMN de *wt* e bloqueou seu efeito exacerbador sobre o crescimento parasitário. A transferência adotiva de PMN de camundongos *wt* exacerbou a infecção no mesmo, mas não em *gld*. A depleção sistêmica de PMN aboliu o aumento da suscetibilidade em camundongos *wt*, comparado com *gld*.

**Conclusões:**

Esses resultados indicam que FasL exacerba a infecção por *L. major* em duas etapas. Primeiro, FasL atrai PMN por promover apoptose de macrófagos residentes infectados. Segundo, FasL promove rápida apoptose de PMN, assegurando sua remoção antiinflamatória pelos macrófagos e aumentando a replicação do parasito.

32.015

FAGOCITOSE EM PORTADORES DE ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA NA FORMA HEPATOESPLÊNICA SUBMETIDOS À ESPLENECTOMIA, LIGADURA DA VEIA GÁSTRICA ESQUERDA E AUTO-IMPLANTE ESPLÊNICO. <sup>1</sup>Macedo, E. M. C.; <sup>1</sup>Paes-Silva, R. P.; <sup>2</sup>Castro, F. M. M.; <sup>3</sup>Brandt, C. T.; <sup>3</sup>de Lavôr, S. M. L.; <sup>2</sup>Castro, C. M. M. B. <sup>1</sup>Nutrição UFPE; <sup>2</sup>Medicina Tropical UFPE; <sup>3</sup>Cirurgia UFPE

**Objetivo:**

Verificar taxa de fagocitose em portadores de esquistossomose mansônica na forma hepatoesplênica submetidos à esplenectomia, ligadura da veia gástrica esquerda e auto-implante esplênico.

**Métodos e Resultados:** Foram formados 2 grupos: um grupo controle constituído por 11 indivíduos oriundos de zona endêmica (Timbaúba-PE) e não portadores de esquistossomose, atestado pelo exame parasitológico de fezes negativo e um grupo estudo, constituído por 11 pacientes com hepato-esplenomegalia (EHE), submetidos à ligadura da veia gástrica esquerda e ao auto-implante esplênico (ELGE-AIE). Foram coletados 10 mL de sangue através de punção venosa dos indivíduos de ambos os grupos e distribuídos em tubos com EDTA a 15%. O sangue foi diluído (1:2) em meio de cultura RPMI 1640, (10 mL de sangue + 10 mL de RPMI 1640). Aos 20 mL da suspensão foram adicionados 10 mL de histopaque (1077-SIGMA), centrifugados a 1400 rpm/30 min. O plasma foi aspirado e a camada formada pelas células mononucleares do sangue periférico (PBMC), coletada e transferida para um segundo tubo. À este, foram adicionados 15 mL RPMI 1640 e centrifugados por 10 min nas mesmas condições anteriores. O sobrenadante foi desprezado e as células do sedimento resultante foram lavadas 2 vezes com RPMI 1640, centrifugando-se por 5 min cada vez. Em seguida o sedimento foi ressuspenso em meio de cultura RPMI 1640 e as células contadas em Azul Tripán (1/10). Para avaliação da taxa de fagocitose, foram utilizados  $10^8$  *Saccharomyces sp*/mL misturados em suspensão com  $10^6$  macrófagos/mL de meio. As células (macrófagos e fungos) foram distribuídas em lâminas e incubadas 37° C, em atmosfera úmida, por um período de uma hora. Após esse período, as lâminas foram lavadas com PBS a 0,1M, secadas a temperatura ambiente e coradas com Diff-Quick set. A leitura foi feita em microscópio óptico, objetiva de 100x sob imersão, num total de 200 células. Não houve diferença na taxa de fagocitose para o grupo controle ( $36,09\% \pm 4,9\%$ ) quando comparado ao grupo submetido a ELGE-AIE ( $33,54\% \pm 5,7\%$ ), teste t de Student com  $p=0,2773$ .

**Conclusões:**

O tecido esplênico implantado parece assegurar função fagocitária normal.

32.016

ASPECTOS IMUNOLÓGICOS DA INFECÇÃO POR *ASCARIS SUUM* EM CAMUNDONGOS GENETICAMENTE SELECIONADOS COM RELAÇÃO À SENSIBILIDADE (ST) E RESISTÊNCIA (RT) À TOLERÂNCIA ORAL. <sup>1</sup>Lameira, R. L.; <sup>2</sup> Silva, A. C.; <sup>1</sup>Macedo-Soares, M. F. <sup>1</sup>Imunopatologia Instituto Butantan; <sup>2</sup>IB-UERJ

**Objetivo:**



Por acasalamentos seletivos, a partir de oito linhagens, foram desenvolvidas duas linhagens de camundongos para fenótipos extremos de tolerância oral: resistente (TR) e sensível (TS), por sua produção de anticorpos decorrente do tratamento intragástrico com OVA solúvel previamente à imunização intraperitoneal com OVA em adjuvante. Além das diferenças com relação à capacidade de produção de anticorpos, observou-se que esplenócitos de camundongos ST estimulados *in vitro* com ConA produzem mais IL-4, IL-10 e IFN- $\gamma$  que células de animais RT. Considerando que a infecção por helmintos induz preferencialmente uma resposta imune Th2, e que a expulsão e controle dos vermes é dependente de IgE e eosinófilos, o objetivo principal deste trabalho é estudar a infecção experimental por *Ascaris suum* nos animais RT e ST, analisando as diferenças com relação ao desenvolvimento larval nos estágios precoces, correlacionando com a produção de anticorpos.

**Métodos e Resultados:**

Os animais foram inoculados por via intragástrica com 2500 ovos embrionados de *Ascaris suum* e oito dias após foram sacrificados e os pulmões foram retirados, as larvas L3 separadas pelo método de ágar gel e contadas. Os resultados obtidos mostraram camundongos RT são mais sensíveis à infecção, apresentando maior carga parasitária ( $36,0 \pm 9,3$  larvas L3/animal) em relação aos camundongos ST ( $1,6 \pm 0,8$  L3/animal). Por outro lado, observamos que os níveis de anticorpos séricos contra antígenos de *Ascaris* é significativamente maior nos animais ST, comparado com camundongos RT.

**Conclusões:**

Estes resultados mostram que o perfil imunológico dos camundongos RT conferiu melhores condições adaptativas para o melhor crescimento e desenvolvimento larval de *Ascaris suum*. Por outro lado, é possível que a capacidade dos animais ST em produzirem mais anticorpos contra antígenos de *Ascaris*, facilite a eliminação dos estágios larvais nestes animais.