

CARACTERIZAÇÃO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA LOCAL E SISTÊMICA EM CAMUNDONGOS INFECTADOS COM CISTICERCOS DE *Taenia crassiceps* NO TECIDO SUBCUTÂNEO ¹

Aline de Araújo Freitas ²

A forma larval de *Taenia crassiceps* tem sido empregada como modelo experimental da cisticercose humana em razão de possuir similaridades antigênicas com o cisticercos de *T. solium*. A cisticercose humana por *T. crassiceps* foi relatada em pacientes imunodeprimidos e imunocompetentes. A resposta imunológica ante a *T. crassiceps* ainda não está totalmente esclarecida, por isso o presente estudo objetivou a caracterização da resposta inflamatória local e sistêmica em linhagens de camundongos C57BL/6 convencionais e deficientes do gene do IFN-gama (IFN-gama-KO) após a infecção subcutânea por cisticercos de *T. crassiceps*. Para tanto, foram avaliados o hemograma, as alterações anatomopatológicas no tecido subcutâneo, a presença de macrófagos alternativamente ativados (células CD301+) e a dosagem sérica de citocinas (IFN-gama, IL-12p40 e IL-4). Nenhuma das linhagens apresentou alteração no hemograma após a infecção. Em ambas as linhagens, foi observada a formação de granulomas no sítio inflamatório com presença de neutrófilos e macrófagos. No entanto, a reação granulomatosa foi mais precoce, intensa e com maior quantidade de colágeno na linhagem IFN-gama-KO. As concentrações séricas de IFN-gama, IL-12p40 e IL-4 nos camundongos C57BL/6 convencionais infectados aumentaram quando comparadas aos camundongos convencionais não infectados. Na linhagem IFN-gama-KO, o aumento da concentração sérica de IL-4 observado deveu-se à infecção, porém a concentração desta citocina foi menor quando se compara com a outra linhagem. Foi observada também na linhagem C57BL/6 convencional a presença de células CD301+ no início da infecção; na linhagem IFN-gama-KO, estas células estavam presentes no final da infecção. Conclui-se que a resposta imune dos camundongos C57BL/6, induzida por cisticercos de *T. crassiceps*, pode ser caracterizada por um perfil misto Th1/Th2. A resposta mista é capaz de promover a destruição do parasito de maneira dependente de IFN gama, o que resulta em menor lesão e menor produção de

1 Resumo de dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, sob orientação do Dr. Ruy de Souza Lino Junior e do Dr. Milton Adriano Pelli de Oliveira, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical, área de concentração Imunologia. Goiânia, GO, 2010.

2 Endereço para contato: Aline de Araújo Freitas. R. 235 S/N - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás. E-mail: alinefreitas2@gmail.com

colágeno. Na deficiência de IFN gama, apresenta um perfil que tende para a resposta imune Th2 com presença de células CD301+ e aumento da produção de colágeno.

CHARACTERIZATION OF LOCAL AND SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE IN MICE INFECTED WITH *Taenia crassiceps* IN THE SUBCUTANEOUS TISSUE

The larval form of *Taenia crassiceps* has been used as an experimental model to human cysticercosis, because it has antigenic similarities with the *T. solium* cysticercus. Human cysticercosis by *T. crassiceps* has been reported in immunodepressed and immunocompetent patients. Due to the fact that the immune response to *T. crassiceps* is still unclear, the present study aimed to characterize the local and systemic inflammatory response of C57BL/6 wild-type and C57BL/6 IFN gamma -Knockout (IFN γ -KO) mice strains after subcutaneous infection with *T. crassiceps* cysticercus. The hemogram, the anatomopathological changes in the subcutaneous tissues, the presence of alternatively activated macrophages (CD301+ cells), and the serum cytokines concentration (IFN gamma, IL-12p40 and IL-4) were evaluated. None of the strains presented hemogram alterations after infection. In both infected strains, granuloma formation on the inflammatory site with neutrophils and macrophages was observed. However, the granulomatous reaction was earlier, more intense and with greater amount of collagen in infected IFN gamma-KO. The serum concentrations of IFN gamma, IL-12p40, and IL-4 in the infected C57BL/6 wild-type increased when compared to the wild-type uninfected mice. In the infected IFN gamma-KO, an increase of IL-4 serum concentration was observed due to the infection, however the cytokine concentration was lower compared with the other infected strain. In the C57BL/6 wild type, the presence of CD301+ cells at the beginning of the infection was observed, but in the IFN gamma-KO, these cells were present at the end of the infection. In conclusion, the immune response of C57BL/6 mice induced by *T. crassiceps* cysticercus may be characterized by mixed Th1/Th2 profile. The mixed response is able to promote the destruction of the parasites, IFN gamma-dependent, which results in a minor injury and lower collagen production. In IFN gamma- deficient mice, there is a profile that tends towards the Th2 immune response, with the presence of CD301+ cells and increased collagen production.

SISTEMA PURINÉRGICO DE *Trichomonas vaginalis*: ENVOLVIMENTO DA ECTONUCLEOSÍDEO TRIFOSFATO DIFOSFOIDROLASE E DA ECTO-5'-NUCLEOTIDASE NA PRODUÇÃO DE ADENOSINA E NA SECREÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO POR NEUTRÓFILOS ¹

Amanda Piccoli Frasson ²

Trichomonas vaginalis é um protozoário flagelado que parasita o trato urogenital humano e é o agente etiológico da tricomonose, a DST não viral mais frequente no mundo. No processo inflamatório promovido pela infecção, a infiltração leucocitária é a principal mudança citológica observada. Considerando o impacto da doença na saúde pública e a importância de investigar novos alvos terapêuticos para o tratamento da tricomonose, o estudo de aspectos bioquímicos do parasito torna-se fundamental. Nucleotídeos extracelulares, especialmente ATP, são liberados pelas células em situações de estresse, anóxia ou lesão, sequencialmente as ectonucleotidasas são capazes de hidrolisá-los levando à produção de adenosina. É importante destacar que *T. vaginalis* não realiza síntese *de novo* de purinas e as enzimas participam das vias de salvação. Avaliando-se o perfil das ectonucleotidasas de *T. vaginalis* em uma condição de limitação de soro bovino, o qual representa a fonte de adenosina para os trofozoítos, observou-se um aumento significativo da hidrólise de ATP, ADP e AMP, como também da expressão gênica da NTPDase e do metabolismo dos nucleotídeos extracelulares. Além disso, essa situação promoveu atraso do ciclo celular dos parasitos nos estágios G0/G1, sugerindo um aumento do *pool* intracelular de nucleotídeos da adenina. Na tentativa de melhor compreender os mecanismos envolvidos no recrutamento de leucócitos para o sítio da infecção, investigou-se a produção de óxido nítrico (NO) por neutrófilos estimulados com *T. vaginalis*. Os trofozoítos promoveram aumento dos níveis de NO, o qual provavelmente é sintetizado pela forma induzível da enzima óxido nítrico sintase. Os nucleotídeos da adenina não foram capazes de modular a produção de NO, diferentemente da adenosina que provocou significativa redução da secreção do mediador, possivelmente por meio da ativação de receptores A_{2A}. Os resultados obtidos demonstram a importância das ectonucleotidasas de *T. vaginalis* na geração de adenosina e contribuem para o entendimento de mecanismos envolvidos com a imunidade na tricomonose.

1 Resumo de dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob orientação da Dra. Tiana Tasca para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, 2011.

2 Laboratório de Pesquisa em Parasitologia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga 2.752, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil. E-mail para correspondência: amandafraasson@gmail.com; tiana.tasca@ufrgs.br

Trichomonas vaginalis PURINERGIC SYSTEM: INVOLVEMENT OF ECTO-NUCLEOSIDE TRIPHOSPHATE DYPHOSPHOHYDROLASES AND ECTO-5'-NUCLEOTIDASE ON ADENOSINE PRODUCTION AND OXIDE NITRIC RELEASE BY NEUTROPHILS

Trichomonas vaginalis is a flagellated protozoan parasite of the human urogenital tract that causes trichomonosis - the most common non-viral STD in the world. In the inflammatory process promoted by infection, the leukocytic infiltration is the main cytological change observed. Considering the disease impact on public health and the search for new therapeutic targets to trichomonosis treatment, the biochemical aspects of the parasite are important for investigation. Extracellular nucleotides, especially ATP, are released by cells under stress, anoxia or injury and they may be degraded to adenosine by ectonucleotidases. Importantly, *T. vaginalis* lacks the ability to synthesize purines *de novo*, and the enzymes act on the salvage pathways generating the nucleosides. The evaluation of the profile of *T. vaginalis* ectonucleotidases in a serum limitation condition showed a significant increase in ATP, ADP and AMP hydrolysis. NTPDase gene expression and the metabolism of extracellular nucleotides were also increased. Moreover, the serum limitation promoted cell cycle arrest at G0/G1 phases suggesting an increase in intracellular pool of adenine nucleotides. To better understand the mechanisms involved in leukocyte recruitment to infection site, the nitric oxide (NO) production by neutrophils stimulated with *T. vaginalis* was investigated. The trophozoites caused increase in NO synthesis, which is probably performed by nitric oxide synthase. The adenine nucleotides were not able to modulate the NO production. In contrast, the adenosine promoted a significant reduction in the compound levels, likely through of A_{2A} receptors activation. The results obtained in this study evidence the importance of *T. vaginalis* ectonucleotidases on adenosine generation and contribute to the host-parasite interactions as well as the immunity in trichomonosis.