

AVALIAÇÃO DO POSSÍVEL PAPEL MODULADOR DE CÉLULAS DENDRÍTICAS NA ARTRITE EXPERIMENTAL INDUZIDA PELA ASSOCIAÇÃO DE COLÁGENO TIPO II E OVALBUMINA

Marcela Franco Mineiro, Rodolfo Thomé, Patricia Ucelli Simioni e Wirla Maria da Silva Cunha Tamashiro
Genética, Evolução e Bioagentes; Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil

Introdução

A artrite induzida por colágeno (CIA) representa o modelo experimental mais estudado de artrite reumatóide. Em camundongos BALB/c a CIA só pode ser estabelecida pela administração do colágeno tipo II associado a uma segunda proteína, tal como a ovalbumina (OVA) ou KLH. Já é conhecido que a administração prévia de colágeno por via oral pode atenuar os efeitos da CIA induzida em camundongos BALB/c (tolerância oral).

No presente trabalho, avaliamos o efeito de células dendríticas (DCs) obtidas de camundongos BALB/c tolerantes à OVA sobre as respostas imunes *in vitro* exibidas por linfócitos T de camundongos singênicos artríticos.

Material e Métodos

Indução e avaliação de CIA. Camundongos BALB/c machos foram imunizados por via i.d. na base da cauda com uma emulsão consistindo de colágeno tipo II de galinha, OVA e Adjuvante Completo de Freund (ACF) nos dias 0, 21 e 45. A espessura da pata foi tomada. No dia do sacrifício, as patas foram removidas para análise histológica, usando o corante Sirius Red. Os baços foram coletados para separação de linfócitos T.

Tolerância oral à ovalbumina. Tolerância foi induzida em camundongos BALB/c pela administração oral de OVA adicionada à água de beber (4mg/mL; por sete dias consecutivos). Parte do grupo tolerante foi desafiado com duas doses de OVA (10µg) em Al(OH)₃ (1mg), por via ip. Como controles foram usados animais naïve e imunizados apenas por via ip. Sete dias após a última dose ip, os animais foram sangrados e os níveis de anticorpos séricos foram determinados por ELISA. Os baços foram coletados para separação de DCs.

Linfoproliferação e produção *in vitro* de citocinas. Linfócitos T de camundongos naïve e artríticos foram co-cultivadas com DCs de camundongos tolerantes ou naïve, na presença de OVA, CII e OVA+CII. A proliferação celular foi medida por citometria de fluxo usando o corante CFSE. Os níveis de IFN-γ e IL-4 foram medidos por ELISA nos sobrenadantes de cultura.

Resultados

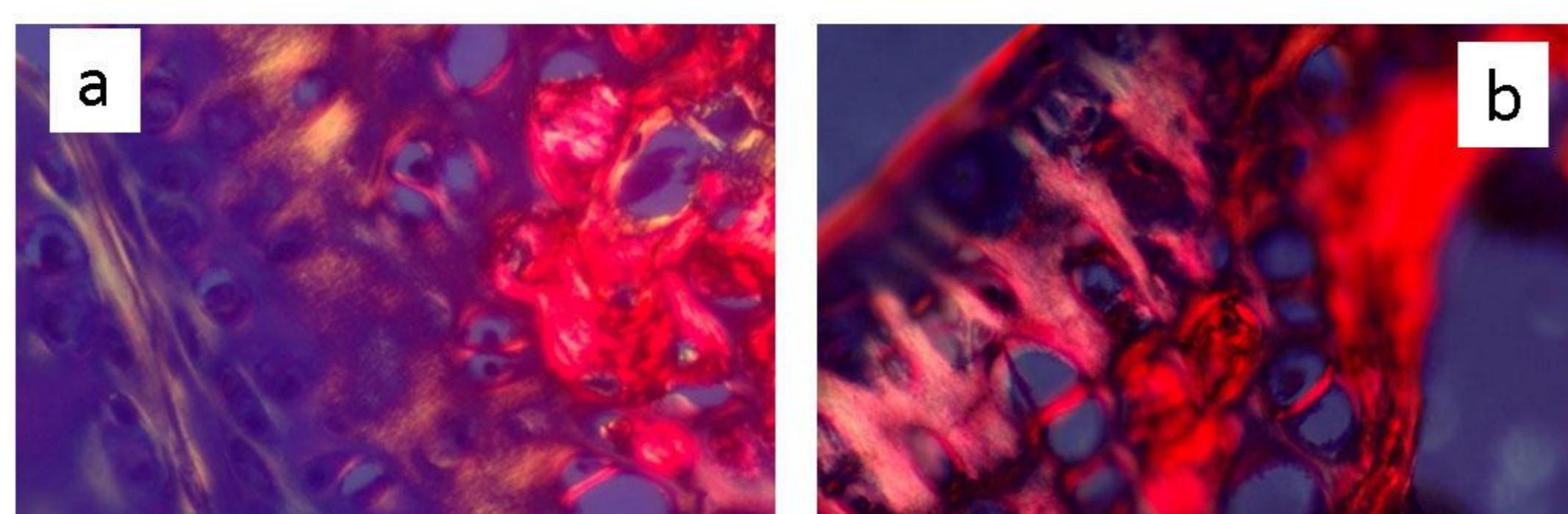
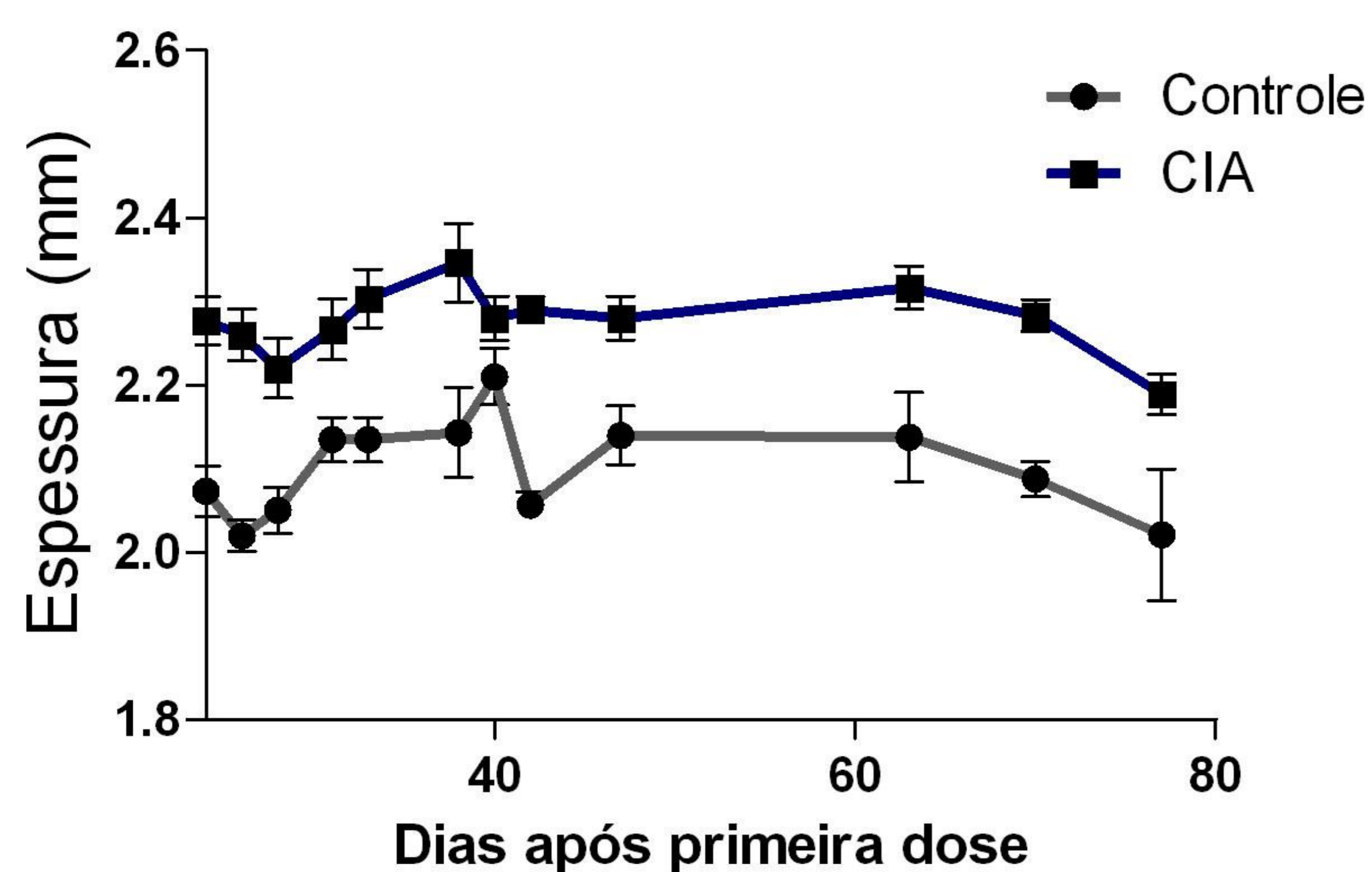


Figura 1 – Análise clínica e histológica das juntas de camundongos BALB/c. (a) Camundongos naïve; (b) Camundongos artríticos.

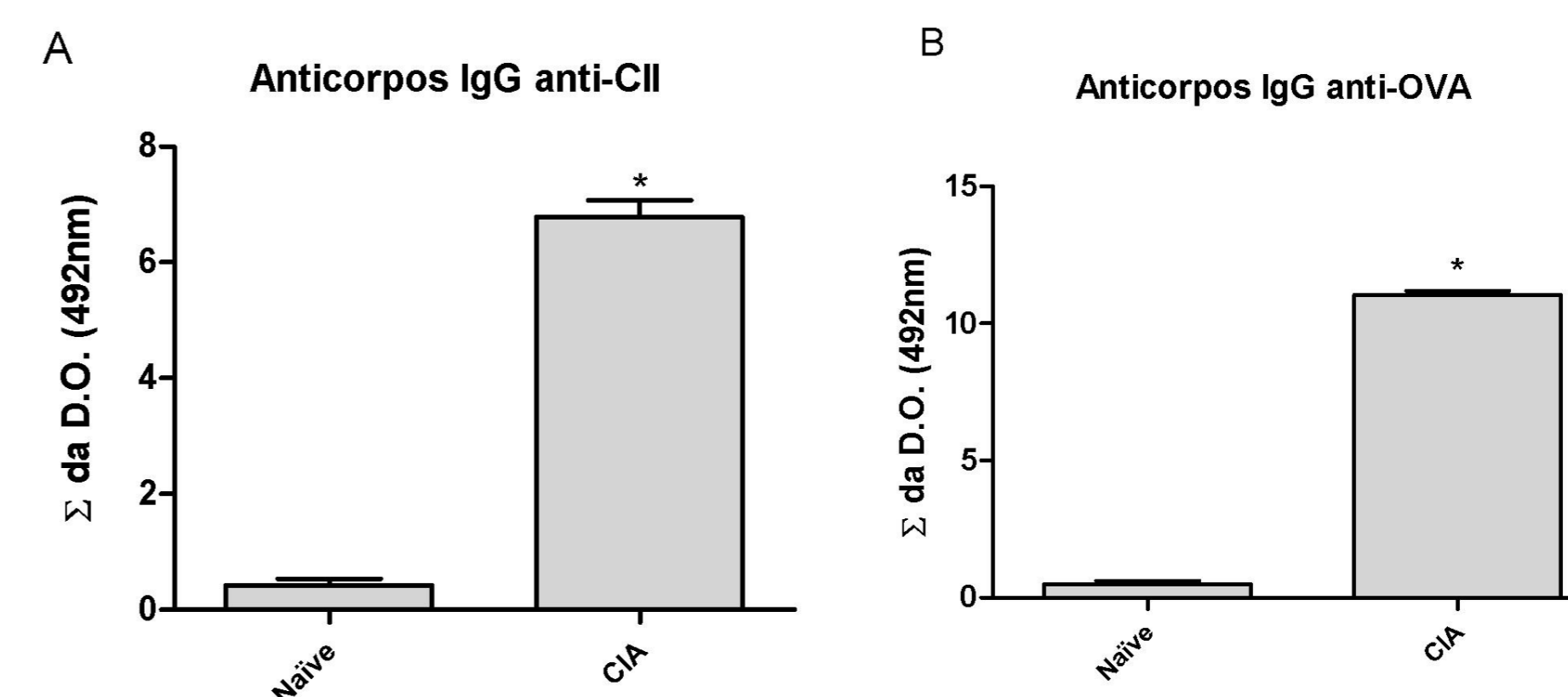


Figura 2 – Anticorpos séricos anti-CII e anti-OVA de camundongos normais (Naïve) e artríticos (CIA).

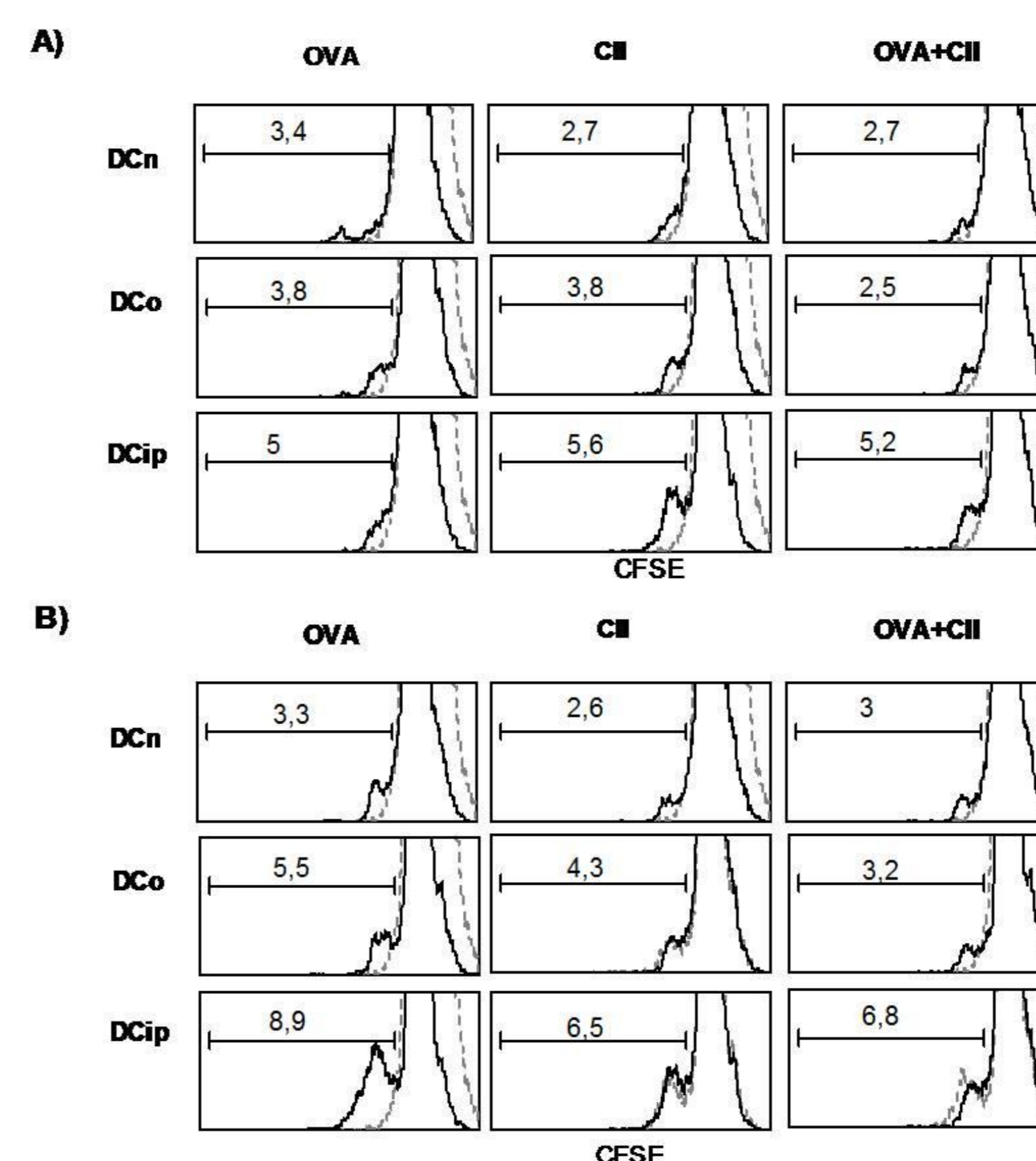


Figura 3 – Proliferação de linfócitos T CD4⁺ co-cultivados com DCs naïve ou tolerantes, na presença do antígeno. (A) Linfócitos T naïve; (B) Linfócitos T artríticos.

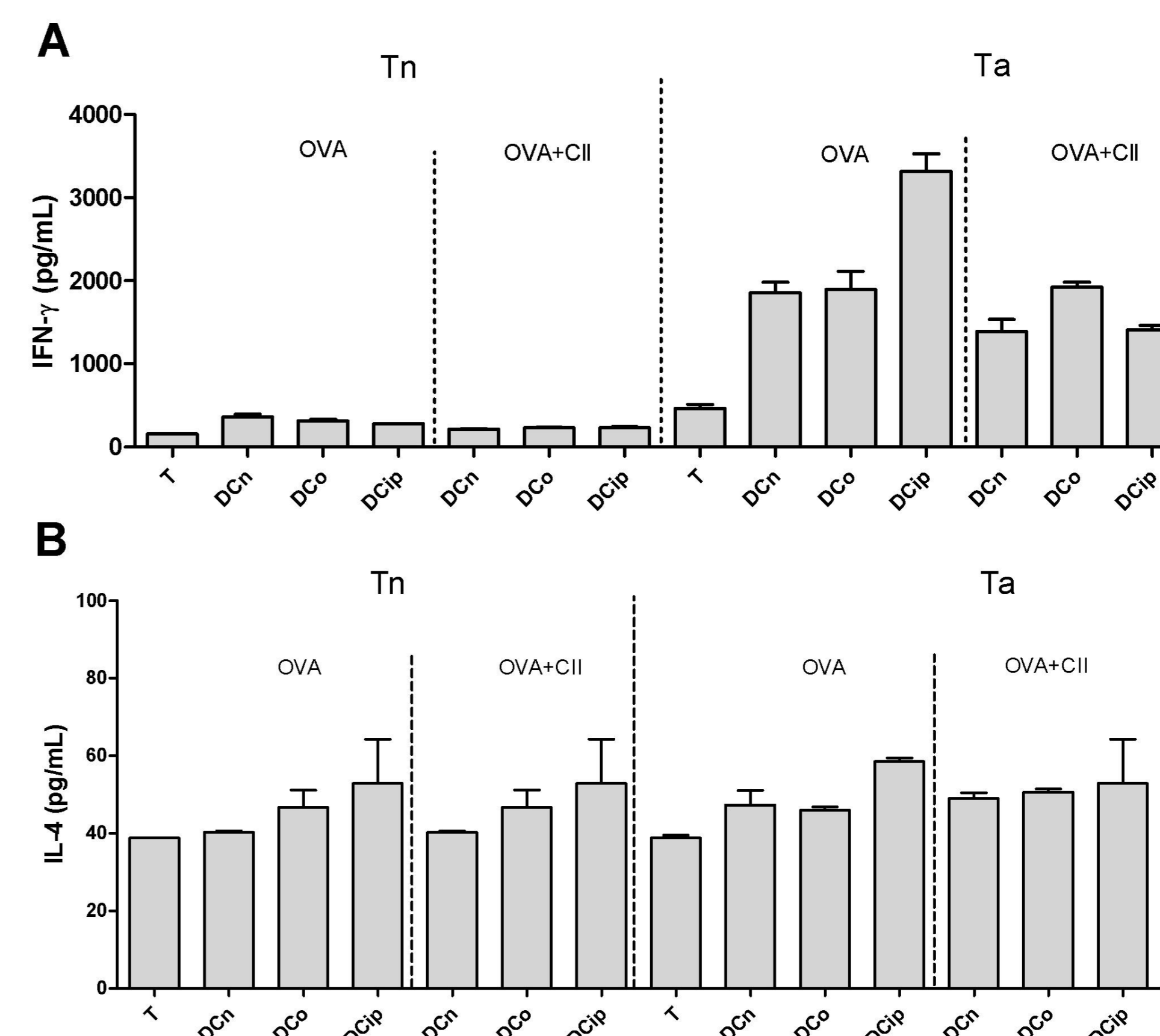


Figura 4 – Dosagem de IFN-γ e IL-4 em sobrenadante de co-culturas de linfócitos TCD4⁺ e DCs realizadas na presença de OVA, CII e OVA+CII. (Tn) Linfócitos T naïve; (Ta) Linfócitos T artríticos.

Conclusões

DCs de camundongos tolerantes inibiram a proliferação de linfócitos T de camundongos artríticos e os níveis de IFN-γ foram mais reduzidos nos sobrenadantes das co-culturas de DCs tolerantes e linfócitos T de camundongos artríticos. Não foram observadas diferenças nos níveis de IL-4.

Em conjunto, esses resultados indicam uma participação de DCs tolerogênicas no controle da CIA e a pertinência de se investigar futuramente seus efeitos moduladores *in vivo*, visando a terapêutica da doença.

Agradecimentos

Agradecemos à Dirce Lima Gabriel pelo suporte técnico e à Marcos Meneghetti pelos auxílios nos cuidados aos animais.