

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DE LINFÓCITOS T GAMA-DELTA NA PROLIFERAÇÃO LINFOCITÁRIA E PRODUÇÃO DE CITOCINAS EM RESPOSTA AO *BACILO DE CALMETTE GUÉRIN*

Matheus de Oliveira Laterza Ribeiro¹, Josiane Cristina Ferreira², Taís Nitsch Mazzola³, Maria Marluce dos Santos Vilela⁴ e Marcos Tadeu Nolasco da Silva⁵ .-
¹Aluno de iniciação científica bolsista CNPQ/PIBIC-Unicamp;²Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, FCM – Unicamp;³- Doutoranda Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente FCM-Unicamp; ⁴Professor a Livre-Docente, departamento de Pediatria, FCM – Unicamp; ⁵Professor Doutor, departamento de Pediatria, FCM – Unicamp. Autor correspondente: Matheus de Oliveira Laterza Ribeiro; e-mail: mribeiro@fcm.unicamp.br

Palavras-chave: Vacina BCG-citocinas-estimulação linfocitária.

Introdução:

A importância epidemiológica da infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis* acentuou-se nas últimas décadas, principalmente em associação com a infecção do vírus da Imunodeficiência Humana. O melhor recurso atual para a prevenção é a vacina BCG, que apresenta eficácia moderada. A vacinação em lactentes mostrou-se capaz de induzir proliferação *in vitro* de células T gamadelta e um padrão de produção de citocinas do eixo T Helper 1. Além disso, estudos experimentais recentes caracterizaram a importância e proteção conferida pela interleucina 17. Nesse sentido, verifica-se que a resposta imunológica ao *M.tuberculosis* é complexa. Assim, um conhecimento maior sobre a resposta imune celular ao BCG contribuirá para maior compreensão da imunidade ao próprio *M.tuberculosis* e poderá concretizar no futuro em desenvolvimento de uma vacina mais eficaz.

Materiais e métodos:

Estudo prospectivo, do tipo corte transversal. Amostra composta de 21 adultos saudáveis vacinados com BCG na infância, recrutados no setor de coleta do Departamento de Patologia Clínica da Unicamp. Identificação das subpopulações linfocitárias por fenotipagem de linfócitos T marcados com anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8 e anti-TCR Pan Gamadelta. Depleção de linfócitos T gamadelta. Proliferação de células mononucleadas do sangue periférico. Avaliação da produção de citocinas por células mononucleadas do sangue periférico por Elisa, sendo pesquisadas as concentrações de IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-10 e IL-17. Análise dos dados por meio do programa SPSS for Windows, versão 7.5.1. Figuras feitas no programa GraphPad Prism 4.0

Resultados:

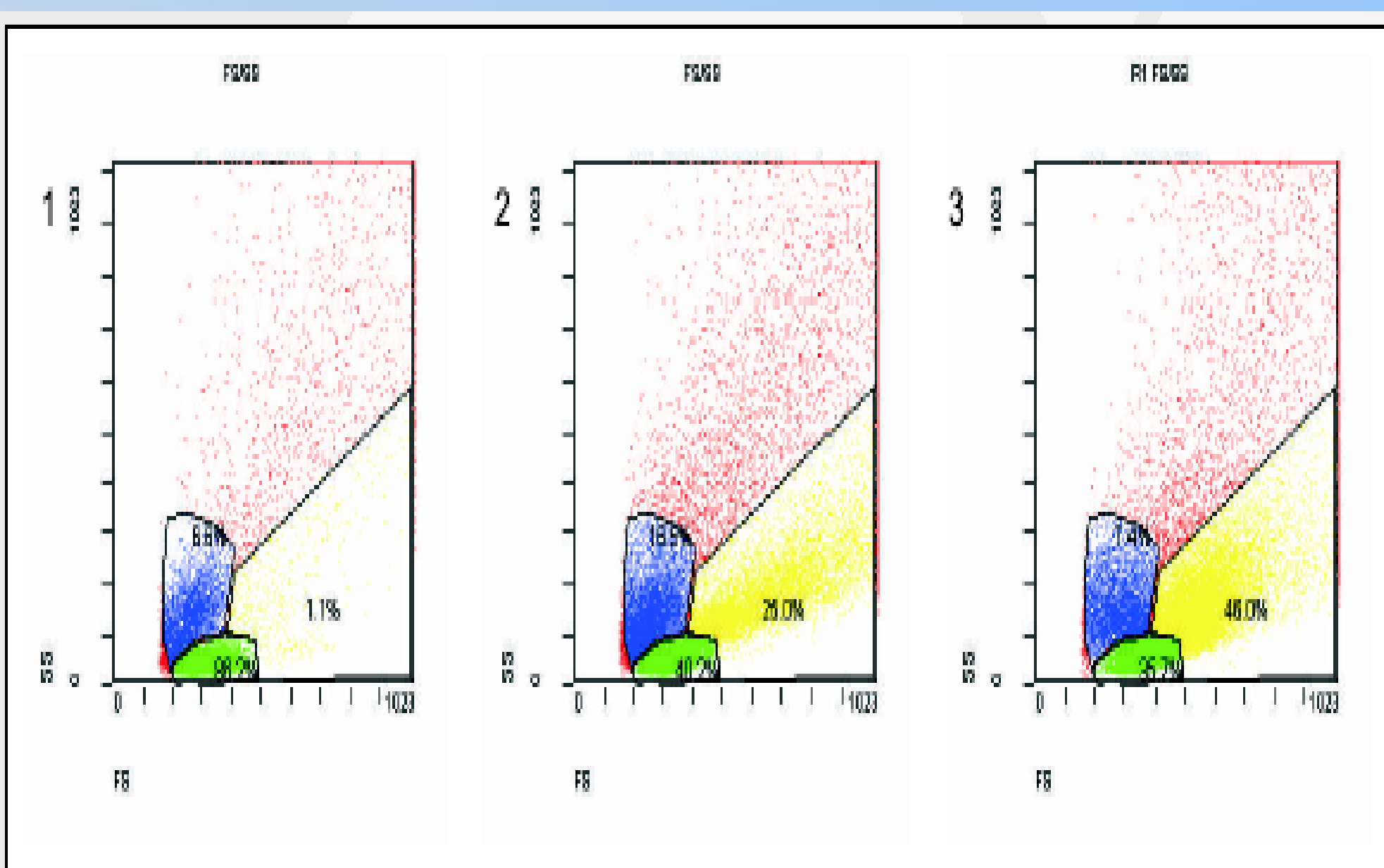


Figura 1- Proliferação de células mononucleadas do sangue periférico após estímulo com meio(1), BCG(2) e PHA(3).

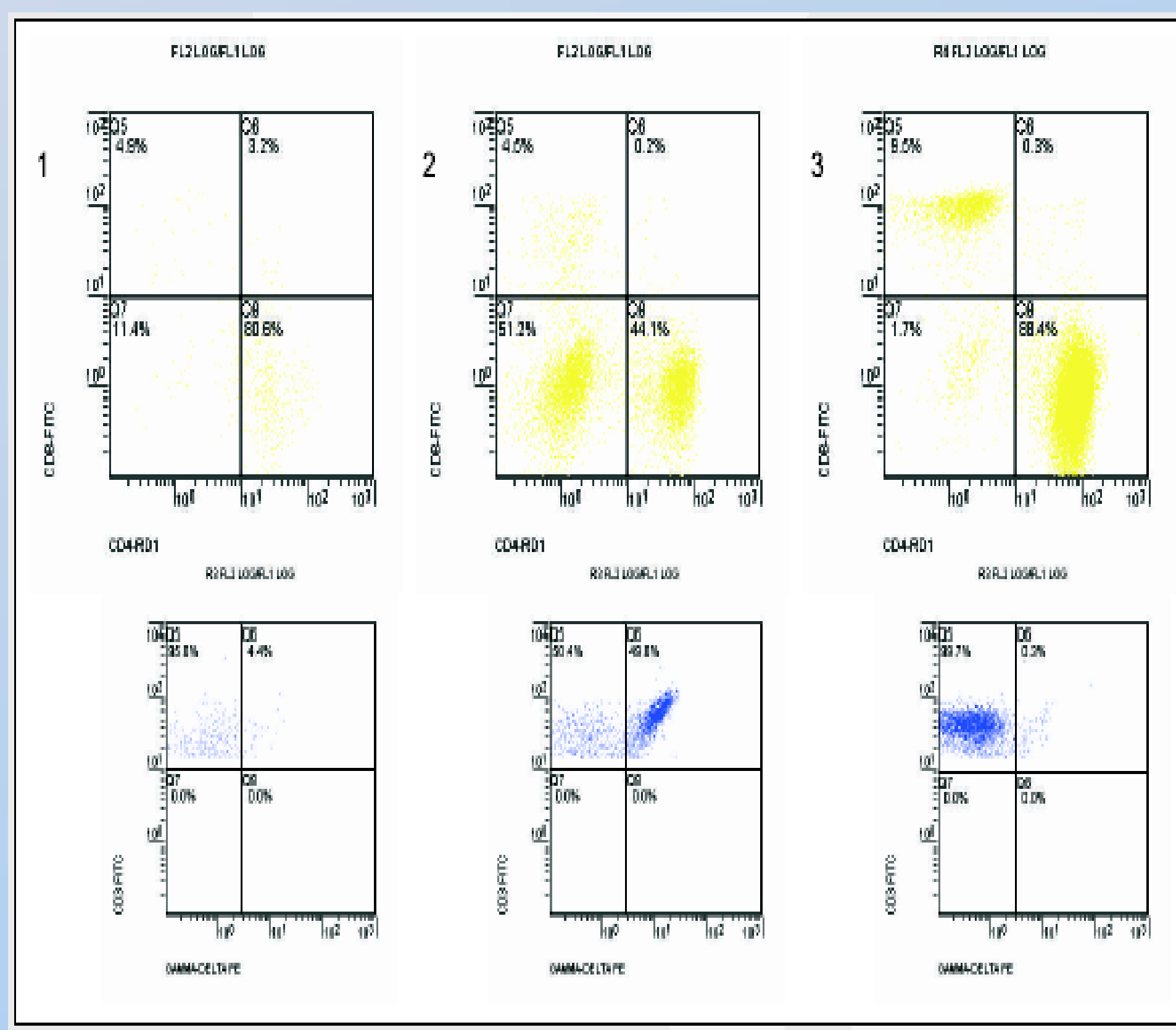


Figura 2- Análise dos gates: observar que a estimulação com BCG promove expansão seletiva da população T gamadelta, representada por 40 %.

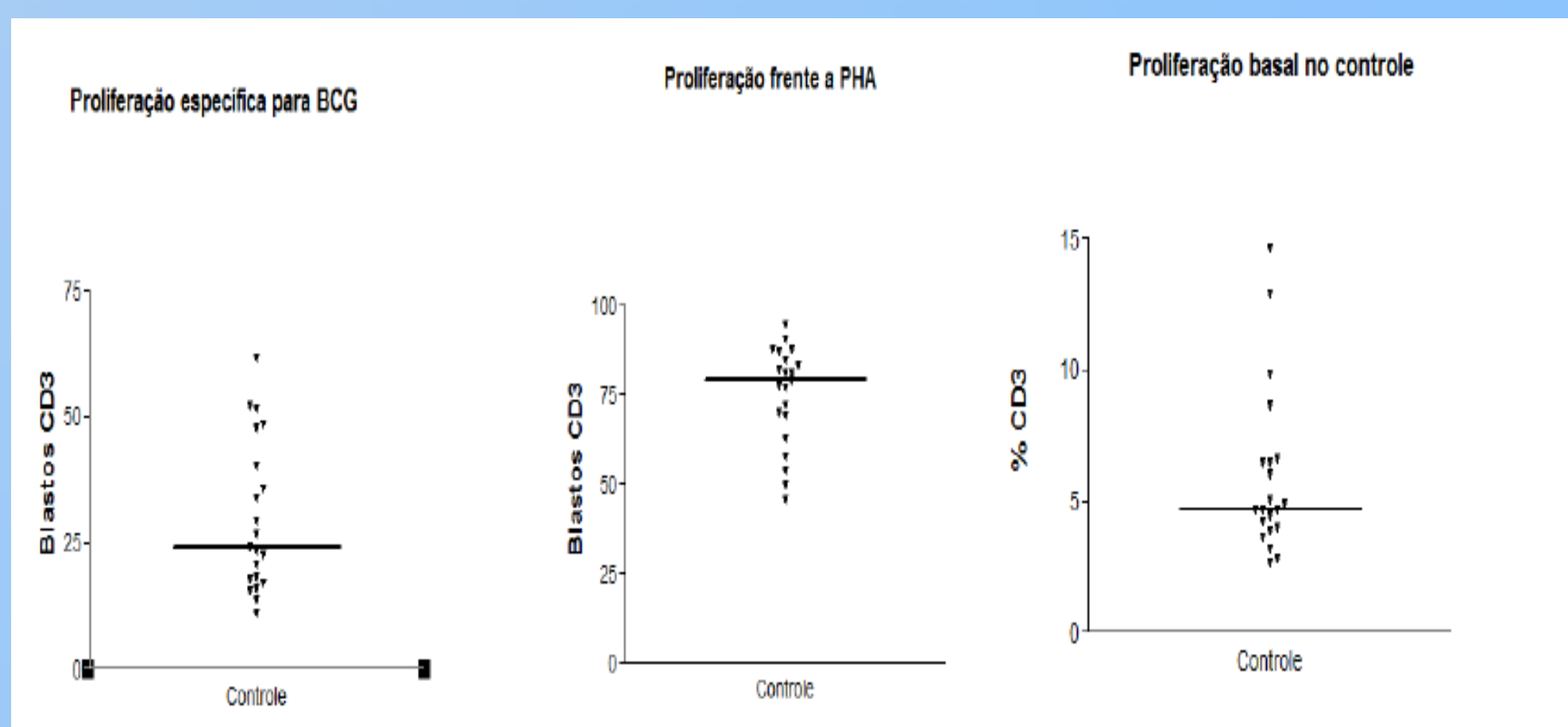


Figura 3- Proliferação de blastos frente diferentes estímulos: Observar que a BCG e PHA promoveram estimulação significativa, sendo maior com PHA (estímulo inespecífico).

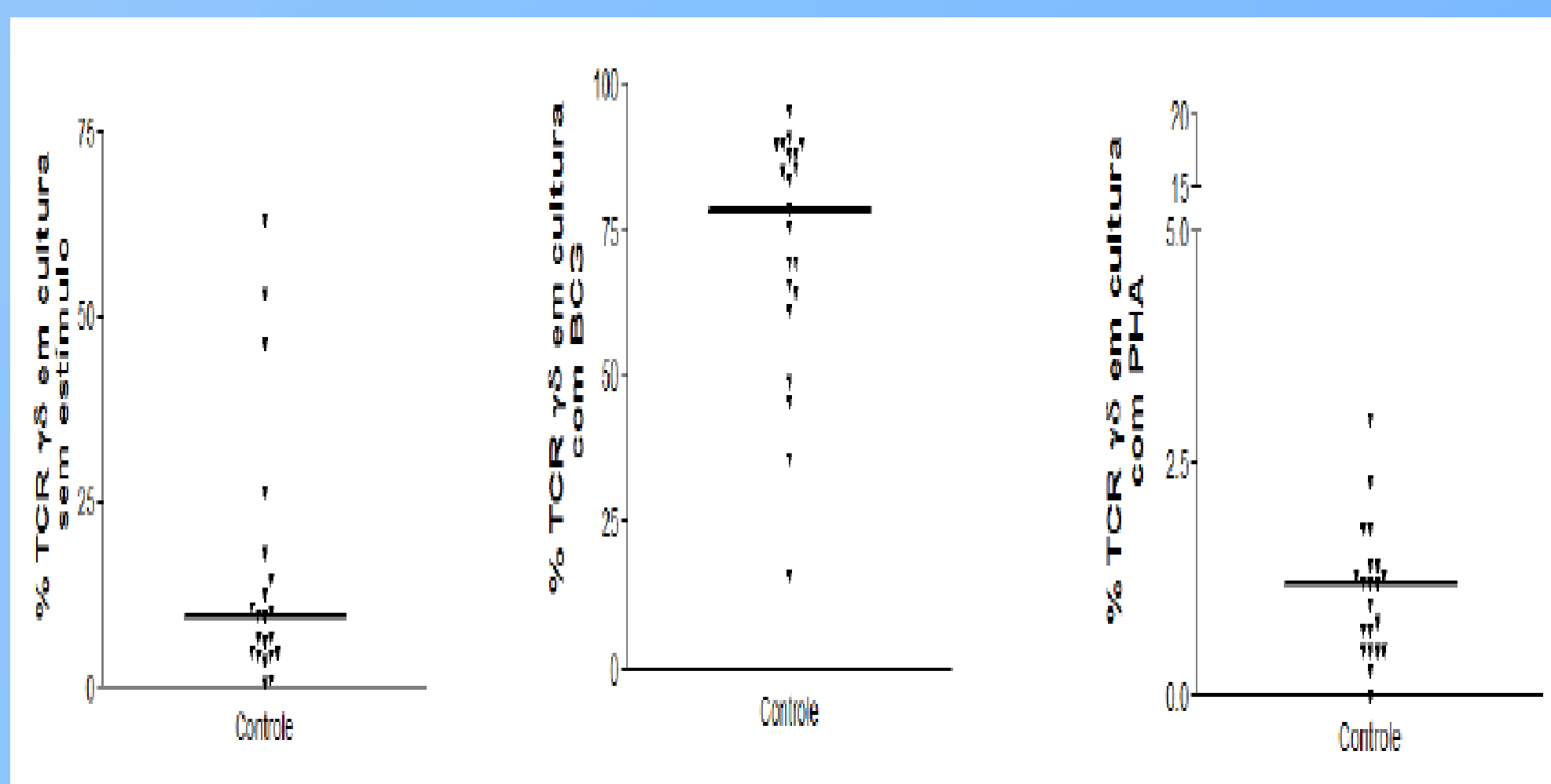


Figura 4- Proliferação de células T gamadelta frente a diferentes estímulos: O estímulo com BCG foi estatisticamente específico para a expansão desta população de linfócitos

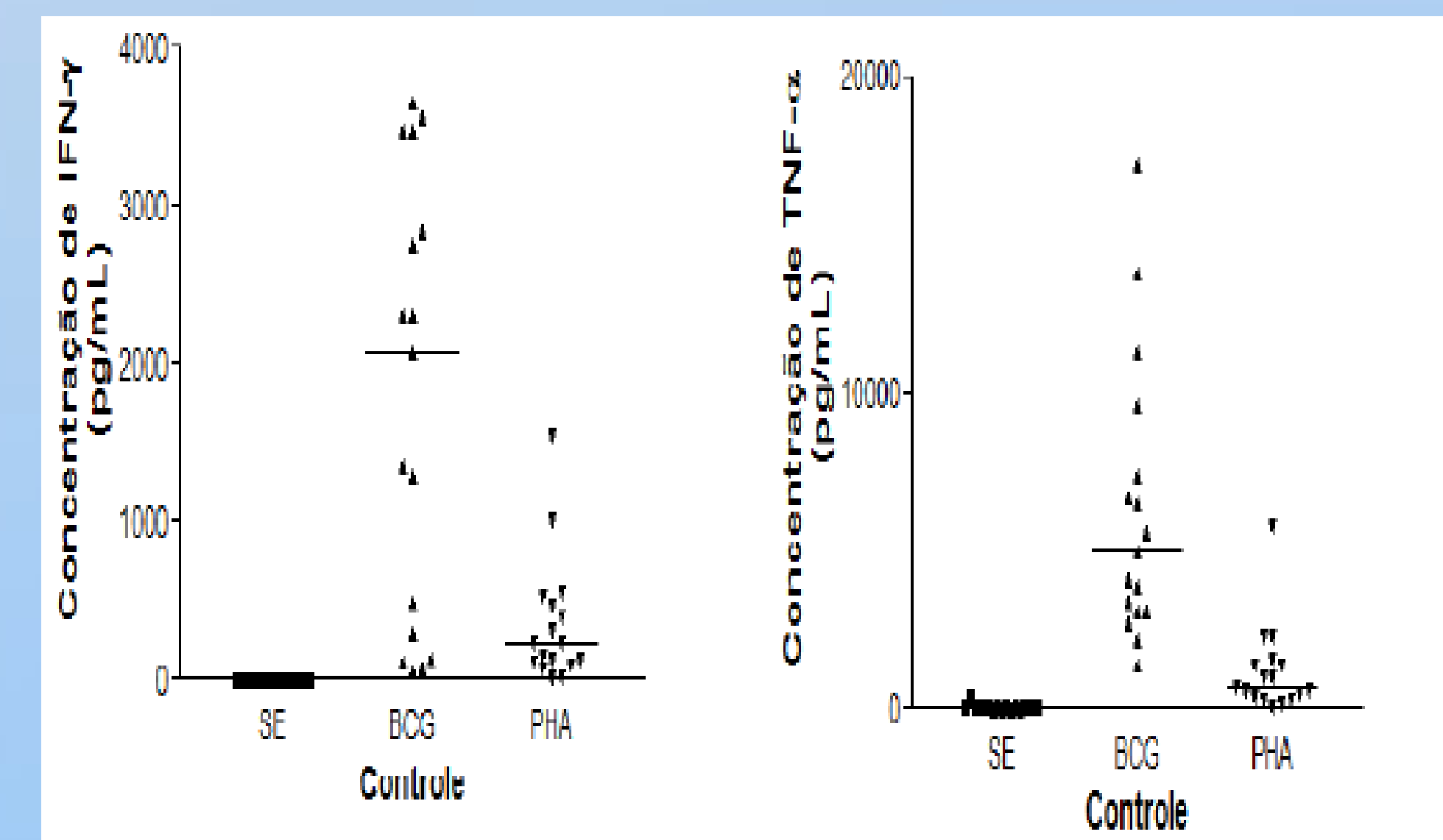


Figura 5- Concentração de citocinas: Observar que o estímulo com BCG provocou síntese significativa de ambas citocinas do eixo Th1

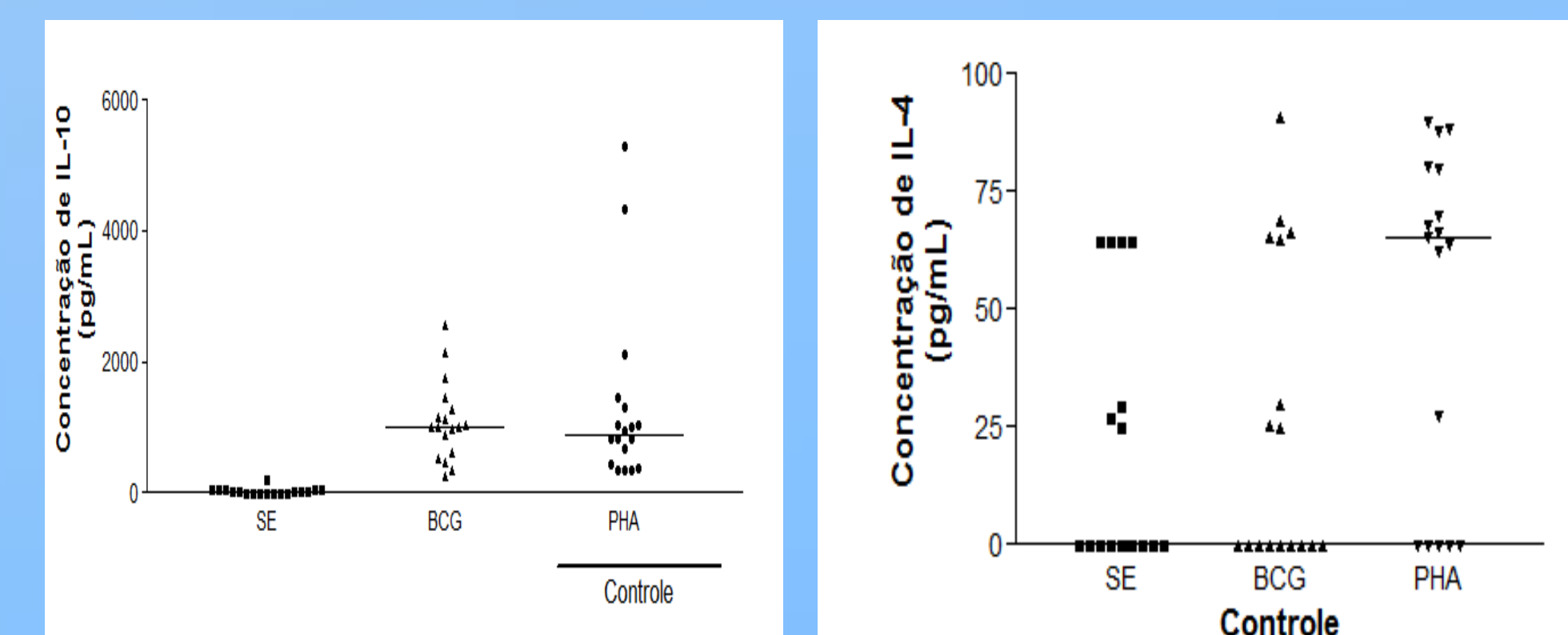


Figura 6- Concentração de citocinas do eixo Th2 após estimulação: Verifica-se que tanto BCG quanto PHA não estimularam a produção de citocinas do eixo Th2, sendo que PHA estimulou significativamente mais a produção de IL-4 em relação ao BCG.

Discussão e conclusões:

Verificou-se que o estímulo com BCG promoveu resposta imunológica específica por meio de proliferação de linfócitos T gamadelta, além da produção de citocinas do eixo Th1, que estão envolvidas com a elaboração do granuloma (resposta imune celular), o que confirma estudos anteriores e sugere a complexidade da resposta imune ao *M.tuberculosis*, uma vez que não se restringe somente ao eixo Th1. Além disso, os resultados encontrados confirmam e complementam os achados já demonstrados pelo grupo de pesquisa, em estudos com crianças vacinadas com BCG (Mazzola et al, 2007), o que otimiza o método de pesquisa. A depleção das células T gamadelta foi tentada com kit de depleção Easy Sep Human PE Kit Selection, mas não foi satisfatória. Está sendo avaliada a possibilidade da depleção com kits de outros fornecedores.

Referência bibliográfica:

MAZZOLA TN, DA SILVA MT, MORENO YM, LIMA SC, CARNIEL EF, MORCILLO AM, et al. Robust gd⁺ T cell expansion in infants immunized at birth with BCG vaccine. *Vaccine* 2007; 25(34):6313-20