

EFEITO DO TRATAMENTO COM INTERFERON BETA NA AÇÃO DA OSTEOPONTINA NA ATIVAÇÃO DAS CÉLULAS ENCEFALITOGENICAS NO MODELO ENCEFALOMIELTE EXPERIMENTAL AUTOIMUNE

Mariana P A Santos, Rosemeire F. de O. de Paula, Ana Leda F. Longuini, Fernando Pradella, Adriel Moraes, Gabriela S. Spagnoli, Elaine C. Oliveira³, Alessandro S. Farias¹, Leonilda M. B. Santos¹

¹Departamento de Neuroimunologia, Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biologia, Universidade de Campinas (UNICAMP), ³Centro Paula Souza, Sorocaba, SP, Brasil

Email: mari.peresas@gmail.com, leonilda@unicamp.br, farias.as@gmail.com

Introdução

A Encefalomyelite Experimental Autoimune (EAE) é um modelo experimental da Esclerose Múltipla (EM), uma doença autoimune mediada por linfócitos Th1 e Th17. Os interferons do tipo I são utilizados para o tratamento de portadores de EM, na qual sua ação benéfica parece estar associada a redução da resposta proliferativa dos linfócitos T auto-reativos. A osteopontina parece mediar a ativação desses linfócitos, aumentando expressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-17 e IFN γ . No presente estudo, nós avaliamos o efeito do tratamento com o IFN- β nos camundongos com EAE, tanto na produção e expressão da osteopontina, como em citocinas relacionadas.

Método

A EAE foi induzida em fêmeas de camundongos C57BL-6, 6-8 semanas de idade, pela imunização com peptídeo MOG35-55. Os animais foram tratados com interferon beta administrado em três doses (0,8mL/animal) e após o sacrifício, foi feita cultura por quatro e sete dias com a administração de 5 μ g de MOG e 1000UI/ml de IFN β , somente uma vez. A expressão de osteopontina, citocinas e fatores de transcrição nos linfonodos foi avaliada por PCR em tempo real (Taqman primers).

Análise estatística foi realizada pela análise não-paramétrica (teste de Mann-Whitney). Um valor de p menor que 0,05 foi considerado como significativo.

Resultados

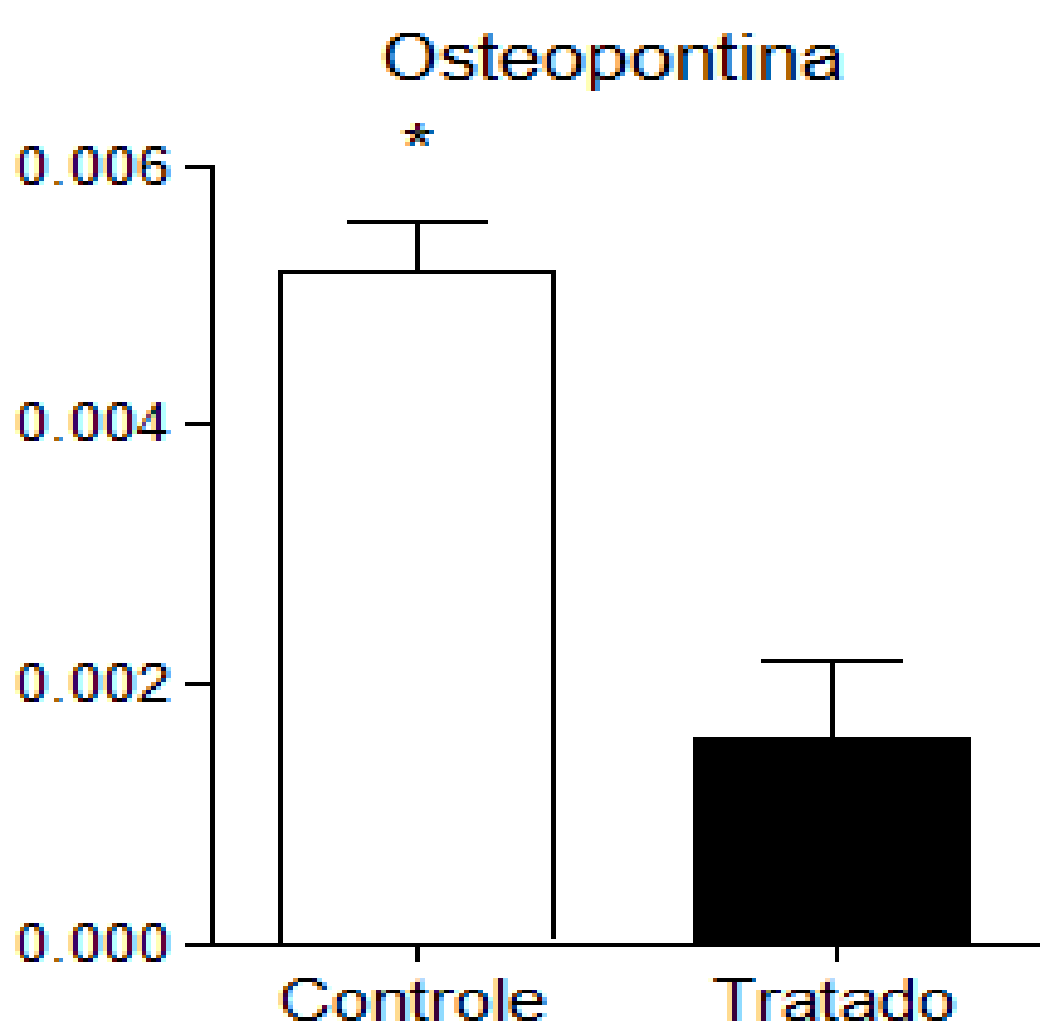


Figura 1: Expressão de osteopontina em cultura por quatro dias de linfócitos com IFN β .

Nossos resultados mostraram diminuição na expressão de Osteopontina na cultura que foi acrescentada IFN β . Este resultado foi verificado in vivo, mostrando que o IFN β age diretamente sobre a osteopontina. *****p<0.001***

Resultados

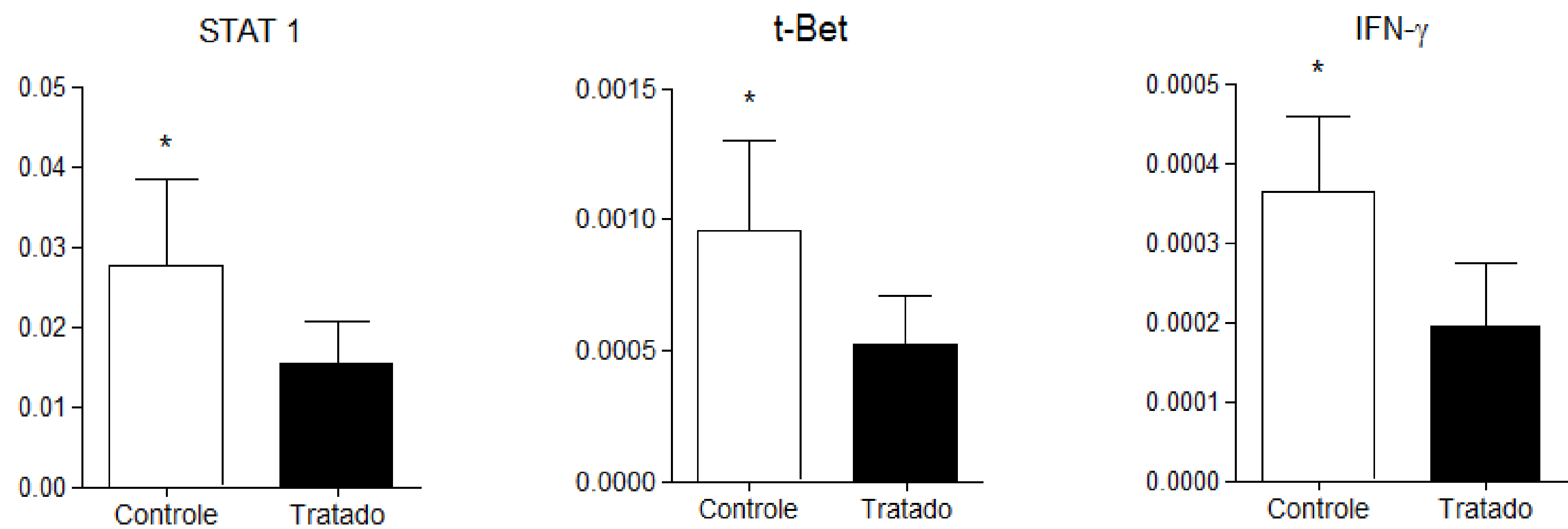


Figura 3. Expressão de fatores de transcrição e citocina. A diminuição da expressão da osteopontina foi acompanhada com uma significativa redução na expressão de fatores de transcrição, responsáveis pela exacerbação da doença, como o STAT1, t-Bet e IFN-g, o qual desencadeia uma maior resposta de células Th1. *****p<0.001***

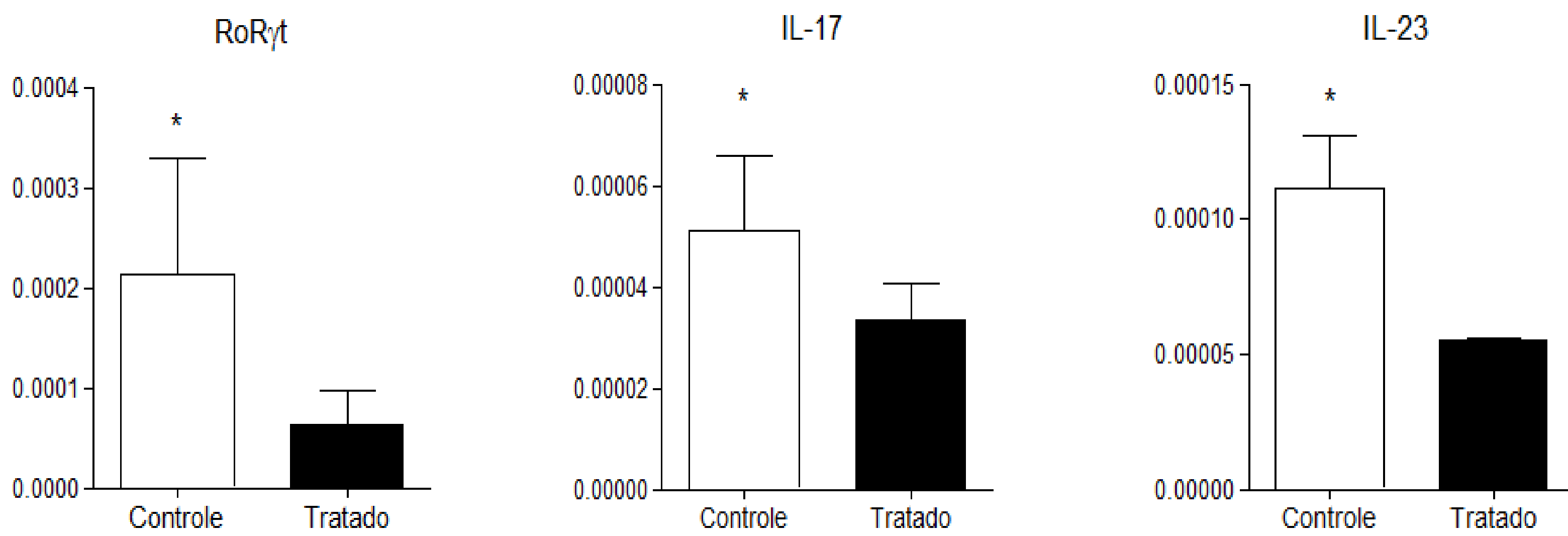


Figura 4. Expressão de citocinas pró-inflamatórias e fator de transcrição em cultura de sete dias. Observou-se redução no fator de transcrição RoR γ t responsável pela expressão de IL-17, uma citocinas que possui grande importância na severidade da EAE. Houve também redução na expressão de IL-23, responsável pela diferenciação das células T em Th17, células produtoras de Th17. ****p<0.01***

Conclusão

O Interferon β é utilizado como tratamento na Esclerose Múltipla principalmente a seu efeito imunomodulador, regulando citocinas pró-inflamatórias como a osteopontina. Observamos uma diminuição da expressão da Osteopontina in vitro no início da doença (10 d.a.i) e de fatores de transcrição como STAT1, RoR γ t e t-Bet no pico da doença (13 d.a.i). Além disso, houve uma redução em citocinas pró-inflamatórias IFN- γ , IL-17 condizendo com a diminuição dos fatores de transcrição. Observamos também uma redução na expressão de IL-23, indicando uma diminuição nas células TH17 e assim na agressividade da doença.