# Avalição da expressão de citocinas associada à análise semiquantitativa das alterações histopatológicas no linfonodo de cães naturalmente infectados por Leishmania infantum

**Autor(res)**

Bárbara Laurice Araújo Verçosa
Vitor Alves De Araújo Portela

**Categoria do Trabalho**

Iniciação Científica

**Instituição**

FACULDADE PITÁGORAS

**Introdução**

A Leishmaniose Visceral (LV), causada por espécies do protozoário do gênero Leishmania, principalmente pela Leishmania infantum (L. infantum), é uma doença tropical negligenciada que pode ser transmitida de animais para humanos, através do repasto sanguíneo realizado pelo flebotomíneo Lutzomyia longipalpis. Pode ser encontrada no fígado,baço, medula óssea e gânglios linfáticos. Nestes, ocorre frequentemente aumento do volume, redução da população de linfócitos nas áreas paracorticais e hiperplasia folicular. Citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-) e interferon gama (INF-), produzidas por macrófagos, podem ocasionar a morte do parasita, enquanto as anti-inflamatórias, como as interleucinas IL-4, IL-6 e IL-10, contribuem para a sobrevivência da Leishmania dentro das células, o que evidenciará ou não a forma clínica apresentada.

**Objetivo**

Esta pesquisa visa descrever as lesões histopatológicas nos linfonodos poplíteos de cães infectados naturalmente por Leishmania infantum e a expressão das principais citocinas relacionadas à resposta inflamatória dos linfonodos contra L. infantum.

**Material e Métodos**

Foram utilizados 16 cães, com sorologia e parasitologia positivas para leishmaniose visceral (8 sintomáticos e 8 assintomáticos), e 7 não infectados. Foi realizada sorologia (RIFI e ELISA). Análise parasitológica por impressões em lâminas do tecido dos linfonodos, cultivo dos parasitas (cultura em NNN e Schneider's Insect Medium). Os tecidos fixados em formaldeídos tamponados foram processados e corados a 5m e HE para posterior avaliação. Os resultados foram
analisados de forma semiquantitativa em escala de 0 a 4, de acordo com a intensidade das lesões histopatológicas de acordo com a carga parasitária:0=normal; 1=mínimo; 2=média; 3=moderado; 4=grave. A expressão de IFN-, TNF-, TGF-, IL-4, IL-6, IL-12, e IL-10 foi quantificada em tecidos linfonodais usando qRT-PCR. Todos os procedimentos obedeceram às diretrizes estabelecidas pelo Comitê Institucional local de Cuidado e Uso de Animais (CETEA, Universidade Federal de Minas Gerais,
protocolo nº 198/2007, aprovado em 27/03/2008).

## Resultados e Discussão

Ao exame macroscópico, os linfonodos de todos os sintomáticos estavam úmidos no corte, túrgidos, de consistência firme, sem áreas necróticas, e depleção folicular. Houve hiperplasia da medula e dos seios medulares em ambos os cães, principalmente nos assintomáticos, e formação de granuloma, esta presente em ambos os grupos abordados. A carga parasitária encontrada no grupo sintomático foi maior que a do grupo oposto (p=0,0023, teste Mann Whitney). Cães sintomáticos tiveram maior expressão de mRNA de IL-4 (teste Mann Whitney, p=0,0273) e IL-10 (teste Mann Whitney, p=0,0104) nos tecidos. Contudo, uma maior expressão de mRNA de TNF- (teste Mann Whitney, p=0,0443) foi encontrada nos subclínicos,
mostrando uma estreita relação entre as citocinas anti-inflamatórias e a presença de sintomas. Nas correlações entre as citocinas, IL-4 e IL-10 apresentaram-se de forma positiva (teste Spearman, r=0,54, n=13, p=0,007) em níveis de expressão de mRNA nos tecidos linfonodais.

## Conclusão

Em casos sintomáticos, os cães apresentaram linfadenomegalia e depleção folicular. Nos casos assintomáticos, há hiperplasia da medula e seios medulares, bem como a normalidade da paracortical e dos folículos. A expressão de citocinas é capaz de modular a resposta inflamatória e consequentemente a forma clínica que os animais apresentam. Isto porque quanto maior a expressão de TNF- menor a apresentação de sintomas.

## Agência de Fomento

FUNADESP-Fundação Nacional de Desenvolvimento do Ensino Superior Particular

## Referências

PIYASIRI SB, Dewasurendra R, Samaranayake N, Karunaweera N. Diagnostic Tools for Cutaneous Leishmaniasis Caused by Leishmania donovani: A Narrative Review. Diagnostics (Basel), set. 2023.
MAURICIO, I.L., Stothard, J.R., Miles, M.A., . The strange case of Leishmania chagasi. Parasitol, 188–189, mai. 2000.

DOS SANTOS PL, de Oliveira FA, Santos ML, Cunha LC, Lino MT, de Oliveira MF, Bomfim MO, Silva AM, de Moura TR, de Jesus AR, Duthie MS, Reed SG, de Almeida RP. The Severity of Visceral Leishmaniasis Correlates with Elevated Levels of Serum IL-6, IL-27 and sCD14. PLoS Negl Trop Dis. Jan. 2016.
SOARES, R. P. P.; Turco, S. J. Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae): a review. Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 75, n. 3, p. 301–330, set. 2003.