

vasos. Já o grupo ALO+OVA+INS₁₄ apresentou a presença de polimorfonucleares ao redor das vias aéreas (seta). Aumento de 10x (H/E)

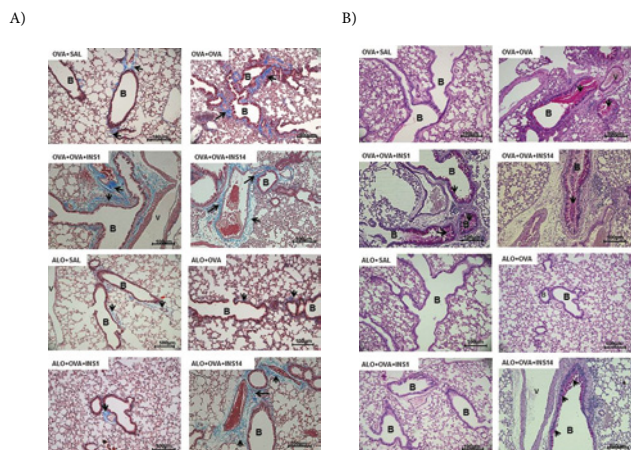


Figura 4 - Parênquima pulmonar de camundongos, deposição de colágeno (direita), produção de muco (esquerda). Constituído de brônquios (B) e vasos (V). Notar colágeno ao redor das vias aéreas (seta) e notar a presença de muco dentro das vias aéreas. Aumento de 10x. Tricômico de Masson (Figura A). PAS (Figura B)

Conclusão: Os dados apresentados sugerem que a insulina modula a migração de eosinófilos no sangue periférico para o tecido pulmonar, bem como a deposição de colágeno e produção de muco durante a fase tardia da reação inflamatória alérgica. **Agradecimentos:** O presente estudo teve auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP- Projeto Jovem Pesquisador (2010/02272-o) e FAPESP (2012/06617-7) e do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), CAPES e Pró-Reitoria da USP.

References

- GALLI, S.J., TSAI, M., PILIPONSKY, A.M. The development of allergic inflammation. *Nature*. 454, 2008.
- SCHOFIELD, M., & CALHOUN K.H. Immunology of asthma. *Otolaryngol Clin N Am*. 44:591-601, 2011.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE PNEUMONIA E TISIOLOGIA. *Diretrizes da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia*. 2012.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. *Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes*. São Paulo, SP. 2012-2013.
- van BELLE, T. L.; COPPIETERS, K. T.; von HERRATH, M. G. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. *Physiology Review*. V: 91, n. 1, p. 79-118, 2011.
- DOUEK, I. F.; LEECH, N. J.; GILLMOR, H. A.; BINGLEY, P. J.; GALE, E. A. M. Children with type-1 diabetes and their unaffected siblings have fewer symptoms of asthma. *The Lancet*. 353: 1850, 1999.
- HELANDER, E. Asthma and diabetes. *Acta Med. Scand.*. 162: 165-174, 1958.
- SINGH S, PRAKASH, Y.S, LINNEBERG, A. AGRAWAL, A. Insulin and the lung connecting asthma and metabolic syndrome. *Hindawi*. 2013.
- VIANNA, E. S. O. & GARCIA-LEME, J. Allergen-induced airway inflammation in rats. Role of insulin. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*. 151: 809-814, 1995.
- MARTINS, J.O; CAMPOS C.A.L; CRUZ, J.W.M.C; MANZOLLI, S; ALVES, V.A.F; VIANNA, E.O; JANCAR, S; SANNOMIYA, P. Insulin modulates cytokine release and selectin expression in the early phase of allergic airway inflammation in diabetic rats. *BMC Pulmonary Medicine*, 10:39, 2010.

A INFLUÊNCIA DA DESNUTRIÇÃO PROTÉICA SOBRE A PRODUÇÃO DE GM-CSF E M-CSF POR MACRÓFAGOS PERITONEAIS

OLIVEIRA, DC.¹; HASTREITER, AA.¹; BORELLI, P.¹; FOCK RA.¹

¹ Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências farmacêuticas Universidade de São Paulo.

Introdução e objetivos: A hematopoese é o processo de formação e desenvolvimento de células sanguíneas. Esse processo está sob o controle de diversas citocinas e fatores de crescimento. Dentre esses fatores destaca-se o fator estimulador de colônia de macrófagos (M-CSF) e o fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) que são importantes para o desenvolvimento e formação de monócitos e macrófagos [1,2]. Os fatores M-CSF e GM-CSF fazem a mediação da sobrevivência, diferenciação, e modulação funcional de várias populações de células sanguíneas. Apesar de diferentes populações mielóides responderem a esses fatores, a linhagem celular de macrófagos é o alvo comum dos dois fatores [3,4]. M-CSF é detectável na circulação em estado basal, no entanto a produção de GM-CSF normalmente precisa de estímulo como, por exemplo, estímulos inflamatórios para ser facilmente mensurável *in vivo* [4,5]. Num estado de desnutrição protéica a resposta imune e a hematopoese estão comprometidas. O comprometimento da produção de células sanguíneas com redução de células progenitoras hematopoéticas, hipoplasia e alterações estruturais medulares em animais desnutridos, o que em parte contribui para a leucopenia periférica e neutropenia, comprometendo tanto a resposta imune inata quanto a resposta imune adaptativa, comumente encontrada nos estados de desnutrição protéica foi demonstrado [6,7]. Sabendo que a desnutrição protéica pode prejudicar a resposta imune e a hematopoese, e considerando a importância do M-CSF e GM-CSF nos dois processos, o presente trabalho foi delineado para pesquisar a influência da desnutrição protéica na produção de M-CSF e GM-CSF. **Materiais e métodos:** Foram utilizados camundongos BALB/c machos com dois meses de idade. Os animais foram mantidos nas mesmas condições ambientais (ciclo 12 horas claro/escuro, Temperatura de 22-25°C e 55% de umidade) e separados aleatoriamente entre grupo controle e grupo desnutrido. Os animais do grupo desnutrido receberam ração hipoproteica (n=12), com uma dieta contendo 2% de proteína, enquanto os camundongos controle (n=12) foram alimentados com uma dieta contendo 12% de proteína por cerca de quatro semanas. As rações continham 100 g/kg de sacarose, 80g/kg de óleo de milho, 10g/kg de fibra, 2,5g/kg de bitartrato de colina, 1,5g/kg de L- metionina, 40 g/kg de mistura de minerais e 10 g/kg de mistura vitamina. A ração controle continha 120g/kg de caseína e 636g/kg de amido de milho e a ração hipoproteica continha 20 g/kg de caseína e 736g/kg de amido de milho. Com exceção do teor de proteínas, as duas dietas eram idênticas e isocalóricas. Esse estudo foi aprovado pelo comitê de ética da faculdade de Ciências Farmaceuticas da Universidade de São Paulo. Foram avaliados o consumo de ração, a variação de peso corpóreo, a quantificação de albumina e proteínas plasmáticas e o hemograma. As células da cavidade peritoneal foram coletadas, quantificadas e posteriormente foram utilizadas para a avaliação da expressão de RNAm de M-CSF e GM-CSF por PCR. Células cultivadas *in vitro* na concentração de 1x10⁶ células/mL e estimuladas ou não com TNF- α (10ng/mL) por 2 horas foram utilizadas para quantificação da produção de M-CSF e GM-CSF no sobrenadante por ELISA. **Resultados:** Os animais desnutridos apresentaram anemia, leucopenia, redução de células da cavidade peritoneal. A produção de M-CSF não apresentou diferença entre os grupos, no entanto células dos animais desnutridos apresentaram capacidade reduzida de produção de GM-CSF (TABELA1). Os resultados não mostraram diferença na expressão de RNAm do M-CSF, no entanto a expressão de GM-CSF estava reduzida nos animais do grupo desnutrido quando comparado com os

respectivos controles (Figura 1A e 1B). A produção de M-CSF dos animais do grupo controle e desnutridos não apresentaram diferenças na produção dessa citocina em células estimuladas ou não com TNF- α (Figura 2A). Os resultados mostraram que os animais do grupo desnutrido quando estimulados ou não com TNF- α , produzem menor quantidade de GM-CSF quando comparado com animais do grupo controle (Figura 2B).

Tabela 1 - Variação do peso corpóreo, do consumo de ração e proteína, da concentração de proteína e albumina plasmática e do hemograma dos animais controle e dos animais desnutridos

| Variáveis | Controle (n=12) | Desnutrido (n=12) |
|--|-------------------|----------------------|
| Variação do peso corpóreo (%) | +20.49 \pm 1.65 | -18.59 \pm 1.15*** |
| Consumo de ração (g/dia/animal) | 5.16 \pm 0.20 | 4.98 \pm 0.14 |
| Consumo de proteína (g/dia/animal) | 0.62 \pm 0.02 | 0.09 \pm 0.01*** |
| Proteína plasmática (g/dL) | 6.53 \pm 0.30 | 5.24 \pm 0.23** |
| Albumina (g/dL) | 2.82 \pm 0.14 | 1.88 \pm 0.16** |
| Eritrócitos ($\times 10^6$ /mm ³) | 9.30 \pm 0.31 | 7.46 \pm 0.31** |
| Hematócrito (%) | 41.6 \pm 0.95 | 35.8 \pm 1.12** |
| Hemoglobina (g/dL) | 13.2 \pm 0.52 | 11.0 \pm 0.42** |
| Leucócitos periféricos (/mm ³) | 2833 \pm 273.1 | 1283 \pm 107.9*** |
| Neutrófilos (/mm ³) | 563.8 \pm 67.2 | 160.6 \pm 16.7*** |
| Eosinófilos (/mm ³) | 13.42 \pm 7.26 | 2.33 \pm 1.64 |
| Linfócitos (/mm ³) | 2153 \pm 216.8 | 1089 \pm 99.5*** |
| Monócitos (/mm ³) | 106.2 \pm 17.78 | 31.9 \pm 5.09** |

** (p \leq 0.01) and *** (p \leq 0.0001) indica diferença significativa entre os grupos controle e o grupo desnutrido

Tabela 2 - Número total e dos diferentes tipos celulares no exudato peritoneal dos animais controle e animais desnutridos

| Variáveis ($\times 10^6$ /mL) | Controle (n=12) | Desnutrido (n=12) |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Células peritoneais totais | 2.42 \pm 0.14 | 1.86 \pm 0.16* |
| Células mononucleares totais | 2.31 \pm 0.13 | 1.77 \pm 0.15* |
| Granulócitos peritoneais | 0.08 \pm 0.02 | 0.06 \pm 0.01 |
| Mastócitos peritoneais | 0.026 \pm 0.006 | 0.026 \pm 0.01 |

* (p \leq 0.05) indica diferença significativa entre os grupos controle e o grupo desnutrido

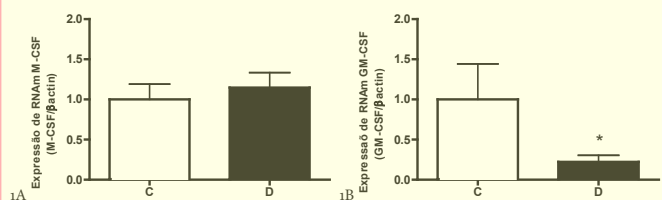


Figura 1 - Expressão de RNAm de M-CSF e GM-CSF em células peritoneais. Os resultados são expressos pela média \pm desvio padrão, animais do grupo controle (C) (n = 4) e grupo desnutridos (M) (n = 4). * (p \leq 0.05) indica diferença significativa entre os grupos controle e o grupo desnutrido

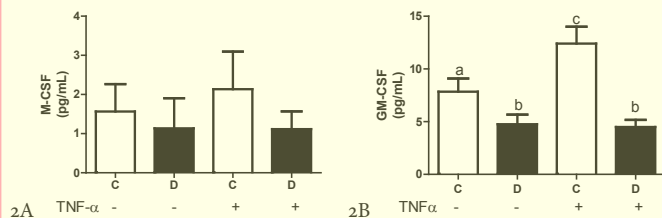


Figura 2 - Os resultados são expressos pela média \pm desvio padrão dos níveis de M-CSF e GM-CSF no sobrenadante da cultura de células peritoneais sem estímulo ou com estímulo de TNF- α (10 ng/mL) por 2 horas, animais do grupo controle (C) (n = 8) e desnutridos (M) (n=9). Letras diferentes sobre escritas indicam diferença significativa entre os grupos

Conclusão: No presente trabalho, foi demonstrada a existência de uma redução na produção de GM-CSF e na expressão do RNAm de GM-CSF em animais desnutridos. Este padrão de produção de citocinas pode ser um dos aspectos que explicam a imunodeficiência e alterações da hematopoese comumente encontradas em situação de desnutrição protéica.

Agradecimentos: Esta pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP.

Referências

METCALF, D. Concise review: hematopoietic stem cells and tissue stem cells: current concepts and unanswered questions. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, v. 25, n. 10, p. 2390–2395, 2007.

MORRISON, S. J.; SCADDEN, D. T. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature*, v. 505, n. 7483, p. 327–334, 2014.

HAMILTON, J. A.; ACHUTHAN, A. Colony stimulating factors and myeloid cell biology in health and disease. *Trends in Immunology*, v. 34, n. 2, p. 81–89, 2013.

HAMILTON, J. A. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nature Reviews Immunology*, v. 8, n. 7, p. 533–544, 2008.

SIERRA-FILARDI, E.; NIETO, C.; DOMINGUEZ-SOTO, A.; et al. CCL2 Shapes Macrophage Polarization by GM-CSF and M-CSF: Identification of CCL2/CCR2-Dependent Gene Expression Profile. *The Journal of Immunology*, v. 192, n. 8, p. 3858–3867, 2014.

BORELLI, P.; BARROS, F. E. V.; NAKAJIMA, K.; et al. Protein-energy malnutrition halts hemopoietic progenitor cells in the G0/G1 cell cycle stage, thereby altering cell production rates. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Médicas E Biológicas / Sociedade Brasileira De Biofísica ... [et al.]*, v. 42, n. 6, p. 523–530, 2009.

XAVIER, J. G.; FAVERO, M. E.; VINOLO, M. A. R.; et al. Protein-energy malnutrition alters histological and ultrastructural characteristics of the bone marrow and decreases haematopoiesis in adult mice. *Histology and Histopathology*, v. 22, n. 6, p. 651–660, 2007.