

**ANDRÉ LUIS BOMBEIRO**

**ESTUDOS NEUROIMUNOLÓGICOS DA DOENÇA DE CHAGAS  
EXPERIMENTAL. ANÁLISES HISTOMOLECULARES DA  
MEDULA ESPINAL DE CAMUNDONGOS IMUNOCOMPETENTES  
E DEFICIENTES EM IL-12 E IL-23 INFECTADOS COM  
*TRYPANOSOMA CRUZI* DA CEPA SYLVIO X10/4**

Tese apresentada ao Departamento de Imunologia  
do Instituto de Ciências Biomédicas da  
Universidade de São Paulo, para obtenção do Título  
de Doutor em Ciências.

São Paulo  
2011

**ANDRÉ LUIS BOMBEIRO**

**ESTUDOS NEUROIMUNOLÓGICOS DA DOENÇA DE CHAGAS  
EXPERIMENTAL. ANÁLISES HISTOMOLECULARES DA  
MEDULA ESPINAL DE CAMUNDONGOS IMUNOCOMPETENTES  
E DEFICIENTES EM IL-12 E IL-23 INFECTADOS COM  
*TRYPANOSOMA CRUZI* DA CEPA SYLVIO X10/4**

Tese apresentada ao Departamento de Imunologia  
do Instituto de Ciências Biomédicas da  
Universidade de São Paulo, para obtenção do Título  
de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Imunologia

Orientador: Prof. Dr. José Maria Álvarez Mosig  
Co-orientador: Prof. Dr. Gerson Chadi

Versão Original

São Paulo  
2011

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do  
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

© reprodução total

Bombeiro, André Luis.

Estudos neuroimunológicos da doença de Chagas experimental. Análises histomoleculares da medula espinal de camundongos imunocompetentes e deficientes em IL-12 e IL-23 infectados com *Trypanosoma cruzi* da cepa Sylvio X10/4 / André Luis Bombeiro. -- São Paulo, 2011.

Orientador: Jose Maria Alvarez Mosig.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Imunologia. Área de concentração: Imunologia. Linha de pesquisa: Imunologia da doença de Chagas experimental.

Versão do título para o inglês: Neuroimmunological studies of experimental Chagas' disease. Histomolecular analysis of the spinal cord of immunocompetent and immunodeficient mice that have been infected with parasites of Sylvio X10/4 strain of *Trypanosoma cruzi*

Descritores: 1. *Trypanosoma cruzi* 2. Sistema Nervoso Central 3. Inflamação 4. Interferon Tipo II 5. Óxido Nítrico 6. Doença de Chagas I. Mosig, Jose Maria Alvarez II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Imunologia III. Título.

ICB/SBIB0111/2011

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

---

Candidato(a): André Luis Bombeiro.

Título da Tese: Estudos neuroimunológicos da doença de Chagas experimental. Análises histomoleculares da medula espinal de camundongos imunocompetentes e deficientes em IL-12 e IL-23 infectados com *Trypanosoma cruzi* da cepa Sylvio X10/4.

Orientador(a): Jose Maria Alvarez Mosig.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a ...../...../....., considerou

**Aprovado(a)**

**Reprovado(a)**

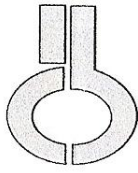
Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....

Presidente: Assinatura: .....  
Nome: .....  
Instituição: .....



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - CEP. 05508-000 São Paulo, SP - Brasil  
Telefone :(55) (011) 3091.7733 - e-mail: [osp@icb.usp.br](mailto:osp@icb.usp.br)

## **CERTIFICADO**

Certificamos que o protocolo registrado sob nº **140** nas fls. **94** do livro **02** para uso de animais em experimentação, sob a responsabilidade do Prof(a) Dr(a) José Maria Álvares Mosig, Coordenador(a) da Linha de pesquisa **A infecção murina pelo Trypanosoma cruzi clone Sylvio X10/4: Mecanismos envolvidos no controle do parasita e na patologia cardíaca crônica** do qual participam o(s) alunos **André L. Bombeiro, Christian E. Jorquera-Rosas, Giovana Giacomini, Rafael Moyses Salgado**, está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL) e foi aprovado pela *COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS* (CEUA) em **23.11.2010, com validade de 3 anos.**

São Paulo, 25 de novembro de 2010.

Prof. Dr. WOTHAN TAVARES DE LIMA  
Coordenador  
CEUA - ICB/USP

Prof. Dr. ARIEL MARIANO SILBER  
Secretário-suplente  
CEUA - ICB/USP

“Pelos erros dos outros,  
o homem sensato corrige os seus”  
Oswaldo Cruz

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Maria Álvarez Mosig, pela excelente orientação oferecida, pelo entusiasmo, otimismo e incentivo no desenvolvimento desta tese. A ele, sou muito grato por permitir que eu pudesse optar como seguir adiante, sem se preocupar com os seus interesses próprios, mas sim com o meu contentamento profissional;

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Gerson Chadi (Faculdade de Medicina da USP), pelo apoio fundamental na elaboração desta tese, por sua dedicação mais profunda, por seus ensinamentos e, acima de tudo, pelo exemplo de profissionalismo com o qual conduz suas pesquisas;

À Universidade de São Paulo, ao Instituto de Ciências Biomédicas desta e seu Departamento de Imunologia, pela oportunidade em cursar o Doutorado pelo Programa de Pós-graduação em Imunologia, contribuindo, assim, para a minha capacitação profissional;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP – pela bolsa de doutorado-direto concedida (Processo nº 2006/53116-2) e ao assessor do meu projeto de pesquisa, cujas sugestões foram de grande valia para a melhoria deste trabalho;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES – pela bolsa concedida por meio do Programa de Doutorando no Brasil com Estágio no Exterior (Processo: BEX 4611/09-8) para a realização de um estágio sanduíche na Alemanha;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – pela bolsa concedida no início do curso (Processo nº 141818/2006-9) e pelo apoio financeiro ao grupo de pesquisa;

Ao Programa de Aperfeiçoamento de Ensino – PAE – da USP pela bolsa concedida para a realização de estágio docente junto à disciplina Imunologia Básica (BMI-295), sob supervisão da Profa. Dra. Maria Regina D'Império Lima;

À Profa. Dra. Maria Regina D'Império Lima (ICB/USP), pela inestimável colaboração ao meu trabalho, principalmente quanto às discussões e valiosas sugestões;

Ao Prof. Dr. Harald Neumann (Instituto de Neurobiologia Reconstitutiva da Universidade de Bonn, Bonn, Alemanha), por me aceitar em seu grupo de pesquisa para a realização de um estágio em neuroimunologia, do qual trago não apenas o aprendizado de bancada, mas também um grande exemplo de competência e profissionalismo a ser seguido;

Ao Prof. Dr. Carlos Penha Gonçalves (Instituto Gulbenkian de Ciência – IGC – Oeiras, Portugal), pelo estágio referente ao projeto de identificação de genes envolvidos no desenvolvimento da doença de Chagas experimental;

Aos demais colaboradores do nosso grupo de pesquisa, Prof. Dr. Cláudio R. F. Marinho (ICB/USP), Profa. Dra. Debora R. F. Chadi (IB/USP), Profa. Dra. Sanae Kasahara (UNESP, Rio Claro), Dra. Teresa Pais (IMM, Portugal) e Profa. Dra. Merari F. R. Ferrari (FMUSP);

À Banca de qualificação desta tese, Prof. Dr. Niels Olsen Saraiva Câmara (ICB/USP), Profa. Dra. Ises Abrahamson (ICB/USP) e Profa. Dra. Michele Schultz (EACH/USP) pelas sugestões para a melhoria deste trabalho;

Ao corpo docente do ICB e IB da USP pelas disciplinas cursadas, que muito contribuíram para a minha formação profissional;

Aos funcionários do Biotério de Camundongos Isogênicos do ICB da USP, em especial à Dra. Regina De Luca e à Dra. Silvia Massironi;

Aos funcionários do Departamento de Imunologia do ICB/USP, em especial à Jotelma L. Ribeiro, Amanda Souza, Maria Eni S. Santos e Amarildo Utiana (*in memoriam*)

Aos alunos, pós-doutores e técnicos dos laboratórios de Imunologia das Doenças Parasitárias (Chagas e Malária) do ICB/USP, Sheyla I. Castillo Méndes, Sérgio M. Rodriguez Málaga, Luis R. Sardinha, Sandra M. Muxel, Ana Paula F. Rosário, Fernando D. Pretel, Ricardo M. Santos, Daniella Z. Bucci, Luiz N. Nuñez Apaza, Eduardo P. Amaral, Érica M Salles, Genoilson B. Alves, Henrique B. Silva, Raquel H. Panatieri, Rafael M. Salgado, Giovana Giacomini, Beatriz Villas Bôas, Fernanda Naomi e Rogério Silva do Nascimento, pelo companheirismo e discussões científicas;

Aos alunos e funcionários do laboratório de Neurocirurgia Experimental (LIM-45) da Faculdade de Medicina da USP, Susana C. L. Telles, Rebeca B. Cecatto, Andreas Betz, Bianca A. de Luca, Camila Silva, Beatriz F. A. Levy, Rafaela F. Pestana, Gabriela P. Oliveira, Juliana P. Costa, Jinger C. Cunha, Sarah Gomes, T. Florence Dinucci e Gilmar, pela amizade, companheirismo e valiosas discussões e sugestões que tanto contribuíram para este trabalho;

Aos alunos, pós-doutandos e técnicos do laboratório de Regeneração Neural da UniBönn, Bettina Linnartz, Liviu Bodea, Yiner Wang, Janine Claude, Céline Ruegsegger, Jens Kopatz, Clara Buetner, Johannes Ackermann, Kristin Roy, Jessica Schumacher, Rita Hass, Kerstin von Kolontaj pela amizade e dedicação despendidas comigo durante o tempo em que estive em seu país;

À Lúcia A. Gonçalves (IGC, Portugal), pela inestimável ajuda nos procedimentos de PCR em tempo real e subsequente análise de dados. Agradeço também ao carinho e atenção despendidos comigo no período em que afortunadamente estive em sua terra;



Aos grandes amigos do ICB/USP, Christian E. R. Jorquera, L. Alexandra Cifuentes Muños, Cláudia A. Zago, Meire I. Hiyane, Rosa M. Elias e Renato Barbosa, e da FM-USP, Jessica R. Maximino e Tatiana Doubles, pelo companheirismo, pelos conselhos, pelos momentos de descontração e pelas frutuosas discussões que tanto contribuíram para a minha formação pessoal e profissional;

Ao Prof. Dr. Hércules Menezes (UNESP, Rio Claro) pelo grande apoio e incentivo em cursar o doutorado neste Departamento. A ele também sou grato pelos conselhos e pelas calorosas discussões que tanto acrescentaram à minha formação profissional;

À Vanessa Nunes de Paiva, Daniela M. Leme e Anna Uristiki pela grande amizade, carinho, apoio e pelos inúmeros momentos de descontração ao longo desses anos;

Ao J. Reinaldo C. Campos, pelo auxílio na obtenção de fotomicrografias e redação de trabalho. A ele também sou muito grato por toda a amizade, companheirismo, prestividade, apoio, incentivo e carinho;

A toda a família Campos, em especial à D. Cida pelo carinho com que sempre me recebeu em sua casa;

Aos meus familiares, em especial aos meus pais Elisete e Flamarion e ao meu irmão Everton. A eles sou grato por todo o amor, apoio e exemplo de determinação e coragem.

## RESUMO

Bombeiro, AL. Estudos neuroimunológicos da doença de Chagas experimental. Análises histomoleculares da medula espinal de camundongos imunocompetentes e deficientes em IL-12 e IL-23 infectados com *Trypanosoma cruzi* da cepa Sylvio X10/4 [tese (Doutorado em Imunologia)]. São Paulo (Brasil): Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.

O estabelecimento de uma resposta TH1 com a produção de IL-12, IFN-gama e de óxido nítrico é crucial no controle do *Trypanosoma cruzi*, o qual pode colonizar o SNC de crianças e pacientes imunossuprimidos. A inflamação exacerbada em decorrência da persistência de um estímulo antigênico gera o acúmulo de substâncias potencialmente citotóxicas, como mediadores pró-inflamatórios e radicais livres. A partir da infecção de camundongos imunodeficientes (IL-12p40KO) com *T. cruzi* Sylvio X10/4, avaliamos os danos causados à medula espinal com enfoque na inflamação e neurodegeneração. Além da desmielinização, alta reatividade glial e morte de neurônios no ponto mais tardio da doença, constatamos uma baixa produção de mediadores inflamatórios nas primeiras semanas após a infecção, acompanhada pela proliferação ascendente do parasita no tecido nervoso. Acreditamos que um atraso na produção de IFN-gama seja responsável pela ativação tardia ou ineficiente dos fagócitos da medula espinal, favorecendo a disseminação descontrolada do protozoário e subsequentes danos teciduais.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*. SNC. Inflamação. IL-12. IFN-gama. Neurodegeneração.

## Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

