

Milena Marques Pagliarelli Acencio

**Resposta comparativa pleural “in vivo”
e do mesotélio “in vitro” à exposição por
diferentes fibras de asbesto**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Área de Concentração: Pneumologia
Orientador: Prof. Dr. Evaldo Marchi

**São Paulo
2006**

Dedico esta dissertação à minha família.

*Aos meus avós, **Cida e Osmar**, pelo incentivo constante, esforço, carinho e dedicação que permitem a realização dos meus sonhos;*

*À minha mãe, **Mara**, pelo carinho imensurável e incentivo em todas as decisões de minha vida;*

*Ao meu marido, **Fábio**, pelo carinho, apoio, compreensão e, acima de tudo, pelo grande amor dedicado, que sempre me alentaram durante todos esses anos que compartilhamos juntos;*

*Aos meus irmãos, **Vanessa e Dennis**, por me acompanharem mostrando que sozinha nada conseguirei.*

AGRADECIMENTOS

- Ao meu orientador, **Prof. Dr. Evaldo Marchi**, exemplo de pesquisador, pela amizade, incentivo e incansável dedicação em todas as etapas, não somente deste trabalho, mas em minha carreira científica;
 - Ao **Prof. Dr. Francisco Vargas Suso**, pelo incentivo constante, sempre me conduzindo e participando de meu crescimento científico;
 - À **Profa. Dra. Leila Antonangelo** e **Profa. Dra. Lisete Ribeiro Teixeira**, exemplos de dedicação acadêmica, pela amizade e incentivo. Agradeço pelos ensinamentos primordiais que me conduzem sempre a crescer profissionalmente;
 - Aos colegas, **Carlos Sérgio Rocha Silva**, **Gabriela Gaspar Carnevale** e **Luciana Previato de Almeida**, pela amizade e auxílio capital para a realização deste estudo;
 - À **Dra. Olga Ibanez** e **Dr. Orlando Ribeiro**, pela colaboração científica e apoio no fornecimento dos animais utilizados neste estudo;
 - Ao **Luiz César Moreira**, **Tânia Cabral**, **Antonieta Lamana** e **Geni Pedroso**, por me acolher em seu meio e terem sido fundamentais na realização deste estudo;
-

AGRADECIMENTOS

- À **Dra. Márcia Seiscento, Dr. Eduardo Henrique Genofre, Dra. Roberta Karla Barbosa Sales, Dr. Roberto Onishi e Dr. Carlos Verrastro**, pelo incentivo, apoio e amizade;
 - À **Olga, Solange, Priscila, Marina e Vera**, pelo constante auxílio e colaboração;
 - Ao **Laboratório de Genética e Cardiologia Molecular**, pelo acolhimento e cordialidade que permitiram a realização deste trabalho;
 - À **Divisão de Experimentação**, pelo auxílio e disponibilidade de sua estrutura nas etapas experimentais desenvolvidas neste estudo;
 - À **Comissão de Pós-graduação**, pela serenidade e apoio em transmitir ensinamentos essenciais durante este período da pós-graduação;
 - À **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)**, pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho;
 - A todos aqueles que, de uma maneira ou de outra, compartilharam para que esta tese se tornasse realidade, o meu profundo agradecimento.
-

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

SUMMARY

INTRODUÇÃO	01
1 – Epidemiologia	02
2 – Características do asbesto	04
3 – Fisiopatologia da agressão mesotelial pelo asbesto	07
3.1 – Mediadores inflamatórios envolvidos na agressão pelo	
asbesto: Citocinas	09
3.1.1 – Interleucina-1 (IL-1)	10
3.1.2 – Interleucina-6 (IL-6)	11
3.1.3 – Proteína inflamatória macrofágica-2 (MIP-2)	12
3.1.4 – Fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF)...	12
3.2 – Alterações celulares secundárias à agressão pelo asbesto:	
Apoptose	14
4 – Camundongos selecionados geneticamente	16
OBJETIVOS	19
MATERIAL E MÉTODOS	21
1 – Experimento <i>in vivo</i>	22
1.1 – Animais	22
1.2 – Grupos	22
1.3 – Preparação do asbesto	23
1.4 – Injeção intrapleural	24
1.5 – Eutanásia e retirada de líquido pleural e tórax dos	
animais	24
2 – Experimento <i>in vitro</i>	25
2.1 – Cultura de células mesoteliais de camundongo	25
2.2 – Grupos	26
3 – Análises laboratoriais	27

3.1 – Análise citológica	27
3.2 – Imunofluorescência (anexina V e iodeto de propídio)	27
3.3 – Imunohistoquímica (TdT FragEL™)	28
3.4 – Dosagem de citocinas	28
3.5 – Imunohistoquímica da pleura	29
3.5.1 – Apoptose	29
3.5.2 – Ra PDGF	30
4 – Análises estatísticas	31
RESULTADOS	32
1 – Experimento <i>in vivo</i>	33
1.1 – Análise citológica do líquido pleural	33
1.1.1 – Total de leucócitos	33
1.1.2 – Neutrófilos	34
1.1.3 – Macrófagos	37
1.2 – Análise dos mediadores inflamatórios no líquido pleural	39
1.2.1 – Interleucina-1b (IL-1b)	39
1.2.2 – Interleucina-6 (IL-6)	41
1.2.3 – Proteína inflamatória macrofágica-2 (MIP-2)	41
1.3 – Correlações no modelo <i>in vivo</i>	44
1.3.1 – Leucócitos totais e neutrófilos	44
1.3.2 – Macrófagos, MIP-2 e IL-6	45
2 – Experimento <i>in vitro</i>	46
2.1 – Análise das citocinas no sobrenadante da cultura	46
2.1.1 – Interleucina-1b (IL-1b)	46
2.1.2 – Interleucina-6 (IL-6)	47
2.1.3 – Proteína inflamatória macrofágica-2 (MIP-2)	49
2.2 – Alterações celulares após exposição às fibras	50
2.2.1 – Apoptose	50
2.2.2 – Necrose	51
2.3 – Correlações das alterações celulares e mediadores inflamatórios do modelo <i>in vitro</i>	53
3 – Correlações entre os modelos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>	53

4 – Análise da expressão do Ra PDGF	54
5 – Demonstração da expressão do Ra PDGF	56
6 – Demonstração de apoptose no fragmento de cultura	57
7 – Demonstração de apoptose na cultura de células mesoteliais	57
DISCUSSÃO	58
CONCLUSÕES	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

ANEXOS

Anexo A

Anexo B

Anexo C

Anexo D

Anexo E

Anexo F

Anexo G

LISTA DE ABREVIATURAS

AIR max	Camundongos selecionados geneticamente para alta resposta inflamatória
AIR min	Camundongos selecionados geneticamente para baixa resposta inflamatória
FITC	Fluoroceína
IARC	Agência internacional de pesquisa em câncer
ICAM-1	Molécula de adesão intracelular-1
IL	Interleucina
LPS	Lipopolissacáride de parede bacteriana
MIP-2	Proteína Inflamatória macrofágica-2
PBS	<i>Phosphate Buffer saline</i>
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
R_α	Receptor alfa
SFB	Soro fetal bovino
TBS	<i>Tris Buffer Saline</i>
TdT	<i>Terminal deoxynucleotidyl transferase</i>
TGF-β	Fator de crescimento transformador-beta
TNF	Fator de necrose tumoral
VCAM	Molécula de adesão celular vascular

LISTA DE FIGURAS

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:

