

#### CH4-2

#### **IMPORTÂNCIA DAS CÉLULAS DENDRÍTICAS INTERSTICIAIS (CDIs) DO MIOCÁRDIO NA PATOGÊNESE DA MIOCARDITE CHAGÁSICA.** Sonia G. Andrade. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz/Fiocruz. Rua Valdemar Falcão 121 (Brotas)-40295-001 - Salvador, Bahia

Em recente trabalho<sup>2</sup> foi demonstrado, no miocárdio de cães experimentalmente infectados pelo *Trypanosoma cruzi*, na fase aguda e crônica da infecção, que as células dendríticas intersticiais do coração (CDIs) apresentam antígenos parasitários sequestrados na sua membrana além de se mostrarem numericamente aumentadas, com nítida correlação com a intensidade do infiltrado inflamatório. Este achado pode representar um fato novo importante para a explicação da patogenia das lesões cardíacas da doença de Chagas. As CDIs foram primeiro descritas por Hart e Fabre<sup>7</sup>.

Estas células correspondem às células dendríticas linfoides ou células interdigitantes do baço e de linfonodos, descritas por Steinman e Cohn<sup>13</sup> as quais são apresentadoras de antígenos (APCs) em associação com os produtos MHC-II e como tal exercem importante função nos processos imunológicos do organismo, inclusive no processo de rejeição de transplantes<sup>10</sup> e de autoimunidade<sup>6</sup>. As CDIs têm capacidade de migrar para o baço<sup>10</sup>, apresentam as proteínas de uma forma imunogênica para as células T antígeno-específicas<sup>5</sup> com a produção de citocinas especialmente IL-2<sup>9</sup> e IL-12<sup>8</sup>. Na doença de Chagas, o processo de miocardite difusa ocorre tanto na fase aguda como crônica da infecção. Na fase aguda a multiplicação intracelular e a desintegração parasitária são os fatores patogênicos mais importantes porém há evidências da participação de linfócitos T CD4<sup>11</sup> e lesões de hipersensibilidade tardia, com aderência de linfócitos granulares e destruição focal de miócitos não parasitados, necrose e apoptose destas células, além de uma microangiopatia<sup>4</sup>. Na fase crônica cardíaca os parasitos são escassos e são vistas lesões evolutivas, difusas e fibrosantes, relacionadas com uma resposta de hipersensibilidade tardia, cuja patogenia é controversa. Fenômenos de autoimunidade têm sido responsabilizados, porém há evidências de que a participação do parasito ou dos seus antígenos é importante para o desenvolvimento das lesões. A possível importância da participação das CDIs, nestes complexo processo envolvendo o miocárdio na doença de Chagas, não foi anteriormente considerada por outros autores. Considerando a capacidade das CDIs na estimulação dos linfócitos T, é de interesse investigar o seu papel na miocardite chagásica e a relação das mesmas com os infiltrados inflamatórios. Utilizamos como modelo experimental o cão. Este animal tem permitido interessantes estudos na fase aguda e na fase crônica da infecção sendo considerado o modelo que mais se aproxima da doença humana. Em 16 cães experimentalmente infectados, foi investigada a presença dos antígenos do *T. cruzi* na membrana das CDIs do miocárdio pelo método imunohistoquímico de marcação por peroxidase. O estudo foi desenvolvido em 06 cães na fase aguda, 06 na fase crônica com miocardite, 02 na forma indeterminada e 02 controles normais. Para estudo da fase aguda, 06 cães pesando entre 1.100 a 3.200g foram inoculados por via intraperitoneal com as cepas 12 SF ou 21SF ( $1 \times 10^5$  a  $4 \times 10^5$ ) e sacrificados 25 a 34 dias após a infecção. Dos cães com miocardite crônica, 05 desenvolveram a miocardite crônica difusa após tratamento com baixas doses de ciclofosfamida de acordo com Andrade et al<sup>3</sup>; 01 desenvolveu uma miocardite crônica espontânea. Para a imunomarcagem das CDIs foi usado o anticorpo monoclonal anti-Proteína S100 (DAKO). Para investigar a presença de antígenos do *T. cruzi* nestas células, foi usado anticorpo policlonal mono específico, anti-*T. cruzi* preparado em coelhos, na concentração de 1:640. Foi feito um estudo quantitativo, pela contagem das células dendríticas em secções do miocárdio dos cães dos diversos grupos experimentais. A imunomarcagem com anti-Proteína S100 revelou nos controles normais, CDIs uniformemente distribuídas no interstício cardíaco, alongadas, com citoplasma compacto, núcleo pálido e com dois ou três prolongamentos delgados. Nos animais infectados, tanto na fase aguda como na fase crônica as CDIs marcadas pela Proteína S100, formavam pequenos acumulos de 2 a 3 células na periferia dos infiltrados inflamatórios. A marcação com o anticorpo anti-*T. cruzi* revelou na infecção aguda, na miocardite crônica e na forma indeterminada, antígenos parasitários sequestrados na membrana das CDIs com a mesma morfologia e distribuição das marcadas com anti-Proteína S100. A avaliação quantitativa das CDIs mostrou um aumento significativo do seu número, tanto na miocardite aguda como na crônica, relacionado com a intensidade do infiltrado inflamatório sendo maior nos casos de miocardite crônica decorrente do tratamento com ciclofosfamida em baixas doses. Nos casos de forma indeterminada, o aumento do número de CDIs não foi significativo. A participação das células apresentadoras de antígenos nos processos patogênicos da infecção pelo *T. cruzi*, parece agora bem consolidada. Em estudo prévio, de Andrade et al<sup>1</sup>, a presença de antígenos do *T. cruzi* foi demonstrada na membrana de células dendríticas foliculares do baço, pelo método da imunoeletronmicroscopia, em camundongos com infecção crônica pelo *T. cruzi*. Este achado foi correlacionado com a persistência de sorologia positiva em camundongos parasitologicamente curados por quimioterapia. As células dendríticas foliculares diferem das células dendríticas linfoides, na sua origem e na sua função, sendo que as primeiras, apresentam os antígenos aos linfócitos B de memória, nos centros germinais dos folículos linfoides do baço<sup>12,14</sup>. Deste modo, a recente demonstração de antígenos do *T. cruzi* nas CDIs do coração, indica o envolvimento de ambos os tipos de células dendríticas nas respostas: humoral (células dendríticas foliculares) e celular (células dendríticas linfoides), no curso da doença de Chagas.

A presença de antígenos parasitários sequestrados nas CDIs do miocárdio sugere um importante papel destas células no desenvolvimento das lesões da miocardite chagásica decorrentes de estimulação contínua da imunidade celular através da apresentação de antígenos parasitários às células T nos órgãos linfoides.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andrade SG, Freitas LAR, Peyrol S, Pimentel AR, Sadigursky M. Experimental chemotherapy of *Trypanosoma cruzi* infection: persistence of parasite antigens and positive serology in parasitologically cured mice. *Bulletin of the World Health Organization* 69:191- 197, 1991.
2. Andrade SG, Pimentel AR, Souza MM, Andrade ZA. Interstitial dendritic cells of the heart , harbors *Trypanosoma cruzi* antigens, in experimentally infected dogs: Importance for the pathogenesis of chagasic myocarditis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *In press*
3. Andrade ZA, Andrade SG, Sadigursky M. Enhancement of chronic *Trypanosoma cruzi* myocarditis in dogs treated with low doses of cyclophosphamide. *American Journal of Pathology*, 127: 467-473, 1987.
4. Andrade ZA, Andrade SG, Corrêa R, Sadigursky M, Ferrans VJ. Myocardial changes in acute *Trypanosoma cruzi* infection. Ultrastructural evidence of immune damage and the role of microangiopathy. *American Journal of Pathology* 144:1403-1411, 1994
5. Crowley M, Inaba K , Steinman RM . Dendritic cells are the principal cells in mouse spleen bearing immunogenic fragments of foreign protein. *Journal of Experimental Medicine*, 172: 383-386, 1990
6. Drake-Smith H, Chain B, Beverley P. How can dendritic cells cause autoimmune diseases? *Immunology Today* 21: 214-217, 2000.
7. Hart DNJ, Fabre JW. Demonstration and characterization of Ia-positive dendritic cells in the interstitial connective tissues of rat heart and other tissues, but not brain. *Journal of Experimental Medicine* 153: 347-361, 1981.
8. Heufler, C, Koch, F, Stanzl, U, Topar, G, Wysocka, M, Trinchieri, G, Enk, A, Steinman, RM, Romani, N , Schuler, G. Interleukin -12 is produced by dendritic cells and mediates T. helper 1 development as well as interferon-gamma production by T helper 1 cells. *European Journal of Immunology*, 26:659-668, 1996.
9. Inaba K, Young JW, Steinman, RM. Direct activation of CD8 cytotoxic T. lymphocytes by dendritic cells. *Journal of Experimental Medicine* 166:182-194, 1987.
10. Larsen, CP, Morris, PJ, Austyn, JM – Migration of dendritic lymphocytes from cardiac allografts into host spleens. *Journal of Experimental Medicine* , 171: 307-314, 1990.
11. Ribeiro dos Santos, R, Pirmez, C, Savino, W, 1991. Role of autoreactive immunological mechanisms in chagasic carditis. *Research Immunology*, 142: 134-137, 1991.
12. Rooijen van N. Binding of labelled antigens and immune complexes to macrophages and dendritic cells in cryostat sections of normal mouse spleen. *Acta Morphologica Neerlando-Scandinavica* 16: 121-127, 1978
13. Steinman RM , Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I- Morphology, quantitation, tissue distribution. *Journal of Experimental Medicine* 137: 1142-1162, 1973
14. Tew JC, Mandel T. The maintenance and regulation of serum antibody levels: evidence indicating a role for antigen retained in lymphoid follicles. *Journal of Immunology* 120:1063-1069, 1978.