

PERFIL DE EXPRESSÃO DE IL-8 APÓS INFECÇÃO *IN VITRO* DE CÉLULAS EPITELIAIS POR *Tritrichomonas foetus*

Telma Maria Alves¹, Monalisa de Sousa Moura Souto², Thiago Magalhães Resende³, Carlos
M. Campero⁴, Andrey Pereira Lage⁵

1 – Bióloga, MSc, doutoranda, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG;

2 – Médica Veterinária, Mestranda, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG;

3 – Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária, UFMG;

4 – Médico Veterinário, MSc, PhD, Laboratório de Patologia Veterinária, INTA, Balcarce, Argentina;

5 – Médico Veterinário, MSc, DSc, Professor, Laboratório de Bacteriologia Aplicada, Departamento de
Medicina Veterinária Preventiva, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Antônio
Carlos, 6627, Caixa Postal 567, 30123-970 – Belo Horizonte – MG. Fax: (31) 3409 2080.

E-mail: alage@vet.ufmg.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVE: Células epiteliais, IL-8, quimiocina, tricomonose bovina.

ABSTRACT

IL-8 mRNA EXPRESSION IN EPITHELIAL CELLS WITH *TRITRICHOMONAS* *FOETUS* INFECTION

Trichomonas foetus is the causative agent of bovine trichomonosis, a sexually transmitted infection of cattle that leads to reproductive losses. Epithelial cell chemokine production is a major mechanism of inflammatory induction. This study evaluates IL-8 expression in HeLa cells after *T. foetus* infection. HeLa cells were infected with two strains to assess IL-8 induction at 6, 9, 12, 15, 18, 21 and 24 hours post infection. IL-8 mRNA levels peaked between 18 and 21h and decreased at 24h, which suggests its importance in *T. foetus* infection.

KEYWORDS: Chemokine, epithelial cells, IL-8 mRNA, trichomonads

INTRODUÇÃO

Tricomonose bovina é uma doença sexualmente transmissível comum em bovinos e tem sido implicada como causa importante de perdas econômicas em rebanhos tanto de corte quanto leiteiros (GOODGER & SKIRROW, 1986). Em países que utilizam intensamente a

inseminação artificial, a doença encontra-se praticamente erradicada, porém naqueles que utilizam a monta natural, a doença permanece de forma endêmica. Em vacas, causa principalmente repetições de cio com intervalos irregulares e aumentados, vaginites, cervicites, endometrites, piometra, morte embrionária ou fetal, feto macerado e aborto (RAE, 1989). *T. foetus* pode ser encontrado na cavidade prepucial e uretra de touros, que são portadores assintomáticos.

A interação do protozoário com a camada epitelial vaginal do hospedeiro é crucial para o estabelecimento da tricomonose e constitui primeira linha de defesa do hospedeiro contra o patógeno (CORBEIL et al., 1989). Em resposta à infecção por *Trichomonas vaginalis*, foi observada maior expressão de IL-8 e TNF- α , sendo, IL-8 o principal quimioatraente de neutrófilos (CHANG et al., 2006).

O objetivo deste trabalho foi traçar a cinética de expressão de IL-8 por células HeLa em resposta à infecção por *T. foetus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas duas amostras de *T. foetus*, sendo uma isolada de trato genital de fêmea (04/417) e uma isolada de feto abortado (08/331), oriundas do Laboratório de Patologia Veterinária - INTA- Balcarce, Argentina. As amostras foram cultivadas em meio Diamond modificado (CAMPERO, 2006) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB-Gibco, USA) à 37°C e observada a cada 24 horas. Os parasitos foram centrifugados a 3000 x g por 10 min à temperatura ambiente, lavados em PBS pH 7,4 e quantificados após a adição de 10% de formol.

Foi utilizada a linhagem de célula HeLa (ATCC-CCL2), na concentração de 4×10^5 células/mL em placas de 6 poços, que foram inoculadas com suspensões das amostras *T. foetus* na multiplicidade de infecção de três protozoários/célula e incubadas por 6h, 9h, 12h, 15, 18h, 21h e 24h. Este experimento foi realizado duas vezes e em duplicata.

Para cada tempo foi realizada a extração de RNA e confecção do cDNA usando o kit TaqMan Reverse Transcription Reagents (Applied Biosystems, USA). A determinação dos níveis de acúmulo de RNAm para IL-8 foi realizada por RT-PCR em tempo real utilizando kit SYBR[®]Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, USA) e termociclador Applied Biosystems 7500 (Applied Biosystems, USA). Os valores de Ct foram utilizados para o cálculo do aumento de expressão em comparação com os controles não infectados após normalização com base na expressão de GAPDH. A diferença de expressão foi realizada por análise de variância empregando-se o teste de Duncan. Todas as análises foram realizadas

empregando-se um erro α de 0,05 (SAMPAIO, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ocorreu variação do acúmulo de mRNA para IL-8 em células HeLa infectadas com as amostras de *T. foetus* 08/331 feto e *T. foetus* 04/447 fêmea. As duas amostras testada seguiram o mesmo padrão de acúmulo de mRNA para IL-8, sendo que a amostra *T. foetus* 08/331 feto apresentou produção a partir de 18h com um pico em 21h e decréscimo às 24h. Já a amostra *T. foetus* 04/447 fêmea teve um acúmulo de IL-8 a partir de 12h com um pico em 18h tendo e decréscimo às 24h. As células HeLa sem infecção apresentaram, em todos os tempos, acúmulo basal de RNAm para IL-8.

Este estudo demonstrou haver diferenças entre amostras de *T. foetus* na indução da expressão de IL-8 por células epiteliais. Conforme demonstrado por CHANG et al. (2006) para *T. vaginalis*, a produção de IL-8 por células epiteliais durante a interação com o parasita é um dos mecanismos primários e mais importantes do processo inflamatório. Sua modulação pode modificar o curso da infecção.

CONCLUSÕES

Esses resultados permitem concluir que *T. foetus* estimula a produção de mRNA para IL8 e que esta produção pode ser importante na patogenia da infecção.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho contou com o suporte financeiro da Fapemig, do CNPq e da FEP-MVZ Coordenação Preventiva. TMA é bolsista da Capes, TMR da Fapemig e APL do CNPq.

REFERÊNCIAS

CAMPERO, C. M. Medios de cultivos, mezcla antibioticas para el diagnostico de la tricomoniasis bovina. INTA, PATOLOGIA VETERINÁRIA, Balcare Argentina, 2006.

CORBEIL, L. B.; HODGSON, J. L.; JONES, D. W.; et al. Adherence of *Tritrichomonas foetus* to bovine vaginal epithelial cells. **Infection and Immunity**, Washington, v. 57, n. 7, p. 2158-2165, 1989.

CHANG, J.O.; PARK, J.Y.; KIM, S.K. Dependence on p38 MAPK signalling in the up-

regulation of TLR2, TLR4 and TLR9 gene expression in *Trichomonas vaginalis*-treated HeLA cells. **Immunology**, Oxford, v. 118, p. 164-170, 2006.

GOODGER, W. J.; SKIRROW, S. Z. Epidemiologic and economic analysis of an unusually long epizootic of trichomoniasis in a large California dairy herd. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 189, p. 772-776, 1986.

RAE, D. O. Impact of trichomoniasis on the cow – calf producer's profitability. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 194, p. 771-775, 1989.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplica da à experimentação animal**. Belo Horizonte FEP – MVZ, p. 221, 1998.