

Imunopatologia da encefalomielite auto-imune experimental murina mediada por linfócitos T

Immunopathology of the experimental autoimmune encephalomyelitis mediated by T Lymphocytes

Adriana Karla Gávio Silva¹

Márcio Luiz de Paula²

Ana Paula Ferreira³

RESUMO

palavras-chave

Esclerose Múltipla

Encefalomielite Auto-imune Experimental

Linfócitos T

A Esclerose Múltipla é uma doença crônica, inflamatória e desmielinizante do Sistema Nervoso Central. Embora a sua etiologia seja, ainda, desconhecida, supõe-se tratar-se de uma doença auto-imune mediada por células T CD4⁺ com perfil Th1. A Encefalomielite Auto-imune Experimental (EAE) é um modelo animal para estudar a Esclerose Múltipla. As características deste modelo são inflamações e desmielinização, se assemelhando à Esclerose Múltipla. A EAE permite avaliar parâmetros tais como linfócitos T CD4⁺ e T CD8⁺, linfócitos T regulatórios, moléculas co-estimulatórias, quimiocinas e etc. O objetivo deste estudo foi fazer uma revisão da literatura sobre imunopatologia da EAE murina mediada por linfócitos T.

ABSTRACT

Multiple Sclerosis is a chronic, inflammatory and demyelinating disease of the Central Nervous System. Although its etiology is still unclear, it is supposedly a CD4⁺ T Helper-1-mediated autoimmune disease. Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) is an animal model to study Multiple Sclerosis. The characteristics of this model are inflammation and demyelination similar to Multiple Sclerosis. EAE allows to assess parameters such as CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes, regulatory T lymphocytes, costimulatory molecules, chemokines and so on. The aim of this study was to make a bibliographic revision of the murine EAE immunopathology mediated by T cells.

keywords

Multiple Sclerosis

Encephalomyelitis, Autoimmune, Experimental

T-Lymphocytes

INTRODUÇÃO

Esclerose Múltipla (EM) é uma doença crônica, inflamatória e desmielinizante do Sistema Nervoso Central com uma etiologia ainda desconhecida (CE-POK *et al.*, 2005). Supõe-se tratar-se de uma doença auto-imune mediada por linfócitos T CD4⁺ com perfil T helper 1 (Th1) (SOSPEDRA *et al.*, 2005).

Os sintomas mais comuns da EM são fraqueza muscular, parestesias (alterações da sensibilidade), deficiências visuais e perda da coordenação (CASTRO, 1999). É mais comum em mulheres, sendo que as primeiras manifestações clínicas ocorrem frequentemente na idade adulta. Em seu início, esta doença pode ser clinicamente caracterizada por períodos de

surtos e períodos de remissão, os quais são observados em cerca de 85% a 90% dos pacientes, ou por uma progressão contínua. Os surtos duram desde algumas horas a vários dias ou semanas e gradualmente desaparecem. Aproximadamente 50% dos pacientes, após dez anos de aparecimento dos sintomas, necessitam de ajuda para caminhar (HAFLER, 2004). Similar a outras doenças auto-ímmunes mediadas por células T, genes do Complexo de Histocompatibilidade Principal (MHC) desempenham um papel na EM. Os genes específicos para esta doença que conferem um risco são o HLA-DR e o DQ (HILLERT; OLERUP, 1993).

Na ausência de uma prova imunológica específica, o diagnóstico da EM é feito com base na história clínica

1 Universidade Federal de Juiz de Fora. Mestranda em Imunologia pela Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora, MG. E-mail: adriana.gavio@oi.com.br

2 Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora, MG.

3 3- Universidade Federal de Juiz de Fora. Professora Adjunta de Imunologia. Juiz de Fora, MG.

e em exames neurológicos, nos quais são encontradas múltiplas lesões caracterizadas por terem ocorrido em épocas e locais diferentes no Sistema Nervoso Central (HAFLER, 2004). Imagens de Ressonância Magnética permitem um diagnóstico precoce e mais preciso da doença (McDONALD *et al.*, 2001).

Segundo Vollmer (2007), a EM afeta cerca de 2,5 milhões de indivíduos em todo o mundo, com uma incidência aproximada de sete novos casos por ano para cada 100.000 pessoas. A média de idade de início da doença é entre 20 e 40 anos, mas 10% dos pacientes são diagnosticados antes dos 16 anos. Embora os dados atuais da EM tenham como base trabalhos europeus e norte americanos, muitos estudos brasileiros têm sido realizados objetivando uma melhor caracterização epidemiológica, assim como sua diferenciação em relação a outras doenças clinicamente semelhantes (ARRUDA *et al.*, 2001; DE PAULA *et al.*, 2007; LANA-PEIXOTO, 2008).

Um grande obstáculo nas pesquisas das desordens neuroinflamatórias do Sistema Nervoso Central é a inacessibilidade deste órgão. Portanto, as investigações são limitadas aos estágios finais das doenças e às alterações sistêmicas que ocorrem durante a progressão da enfermidade, sendo que nenhuma das duas situações pode refletir o processo patológico no Sistema Nervoso Central. Isto explica a falta de terapias efetivas contra a EM. Na tentativa de superar estas limitações, têm sido desenvolvidos modelos animais. Em virtude da proximidade imunológica e genética com o homem, modelos primatas não humanos são inestimáveis para integrar patologia, aspectos clínicos e imagens de ressonância magnética, bem como para desenhar terapias, as quais são altamente espécies específicas, e, portanto, impossível em roedores de laboratório. Por outro lado, os roedores são os animais mais usados porque são fáceis de manipular e porque existe um grande repertório de reagentes para testar a doença. Além disso, os avanços na engenharia genética facilitaram a produção de animais geneticamente modificados. Camundongos transgênicos são obtidos a partir da linhagem C57Bl/6, a qual é susceptível à Encefalomielite Auto-Imune Experimental (EAE) por exemplo. Em geral, os camundongos fornecem estudos detalhados que podem conduzir a novas estratégias terapêuticas (T HARTA; AMOR, 2003).

A Encefalomielite Auto-imune Experimental (EAE) é o modelo animal mais utilizado para o estudo das doenças auto-imunes humanas, especialmente da EM. Várias razões contribuem para a utilização da EAE como um modelo de auto-imunidade antígeno-induzida: (1) Foi desenvolvido primeiro em relação a outros modelos; (2) Pode ser facilmente induzido em muitas linhagens de camundongos singênicos como

a SJL/J, a PL/J e a C57Bl/6; (3) As manifestações clínicas, como paralisia e perda do tônus da cauda (em roedores), são perceptíveis para a maioria dos pesquisadores (YANG, 2003).

ESCLEROSE MÚLTIPLA

Perspectiva Histórica

Um neurologista francês, Jean Martin Charcot, foi o primeiro a descrever a EM, em 1868, ao notar o acúmulo de células inflamatórias, em distribuição perivascular, dentro da substância branca do cérebro e da medula espinhal de pacientes com episódios intermitentes de disfunção neurológica. Isto levou ao termo “esclerose em placas disseminadas” ou “esclerose múltipla”. Em 1948, Elvin Kabat observou um aumento de anticorpos oligoclonais no líquido dos pacientes com EM, o que forneceu novas evidências de uma natureza inflamatória para a doença (HAFLER, 2004).

Padrões clínicos

Existem quatro cursos clínicos distintos para a EM: (1) Esclerose Múltipla Recorrente Remitente, na qual ocorrem surtos claramente definidos com recuperação completa ou com seqüelas após a recuperação. Os períodos entre os surtos são caracterizados por ausência de progressão da doença. (2) Esclerose Múltipla Secundária Progressiva que sempre começa como Esclerose Múltipla Recorrente Remitente e evolui para uma doença progressiva, com ou sem surtos, pequenas remissões e platôs. (3) Esclerose Múltipla Primária Progressiva, que apresenta progressão da doença desde o início com platôs ocasionais e pequenas melhoras temporárias. Os pacientes apresentam uma piora contínua e gradual da sua condição sem surtos claros. (4) Esclerose Múltipla Progressiva Recorrente, em que ocorre progressão da doença desde o início com claros surtos agudos, com ou sem recuperação completa e com progressão contínua entre os surtos (LUBLIN, 2007). Segundo Castro (1999), alguns pacientes podem apresentar uma forma benigna da doença, com poucas dificuldades motoras, mesmo após vários anos de aparecimento dos sintomas.

Genética

De acordo com dados atuais, a EM se desenvolve em pessoas geneticamente susceptíveis, podendo haver a necessidade de gatilhos ambientais. Parentes de primeiro grau de portadores de EM têm um risco de desenvolver a doença entre 2% a 5% maior do que o restante da população, enquanto que, entre gêmeos monozigóticos, o risco é de 25% (DYMENT *et al.*, 2004). Similar a outras doenças auto-imunes mediadas

por células T, os genes específicos para EM que conferem um risco são o HLA-DR e o DQ (HILLERT; OLERUP, 1993). O maior risco ocorre nas pessoas homocigóticas para os alelos DR15 e DR2 (BARCELLOS *et al.*, 2003). Existem poucas informações com relação ao risco genético conferido pelos alelos HLA de classe I (SOSPEDRA; MARTIN, 2005).

Tratamento

O tratamento com corticóides é extremamente usado na EM para acelerar a recuperação pós-surto, sendo a metilprednisolona por via intravenosa o corticóide mais prescrito. Embora terapias a curto prazo apresentem benefícios, as terapias a longo prazo são mais utilizadas no tratamento da Esclerose Múltipla Recorrente Remitente, apesar de essas terapias poderem causar diminuição da densidade óssea e infecções (VIRLEY, 2005).

A diminuição da densidade óssea ocorre porque os corticóides diminuem os precursores dos osteoblastos e estimulam a apoptose destas células, quando maduras (JIA *et al.*, 2006). As infecções se devem ao efeito imunossupressor dos corticóides, os quais inibem a transcrição de muitos genes das citocinas pró-inflamatórias (BARNES, 2006). O interferon- β e os anticorpos monoclonais anti-interferon- β são imunomodulatórios e antiproliferativos. Na EM, este medicamento atenua os efeitos do interferon- β e a interleucina 12, inibe a ativação de monócitos, reduz a apresentação de antígenos às células T e aumenta as citocinas anti-inflamatórias. Os efeitos colaterais incluem gripe, reações no local da injeção, depressão e idéias suicidas (VIRLEY, 2005).

O Acetato de Glatiramer (GA) é constituído por uma mistura de polipeptídeos sintéticos compostos por quatro aminoácidos (alanina, glutamina, lisina e tirosina). É estruturalmente semelhante à Proteína Básica da Mielina, porém não causa encefalite. Pesquisas originais investigavam o papel encefalito-gênico potencial do GA, quando, inesperadamente, ele suprimiu sinais clínicos agudos e crônicos da EAE em várias espécies animais. Em novos estudos, o GA reduziu a taxa de surtos de pacientes com Esclerose Múltipla Recorrente Remitente em 76%. Os mecanismos propostos para a atividade biológica do GA são a indução de células T supressoras antígeno-específicas e a inibição competitiva com os antígenos da Proteína Básica da Mielina. Embora o GA seja bem tolerado, a administração pela via subcutânea induz reações no local da injeção. Entre os tratamentos disponíveis, é o que induz menos efeitos colaterais (VIRLEY, 2005).

Hipóteses Etiológicas

Atualmente, existem duas hipóteses para a etiologia da EM: A hipótese infecciosa viral e a hipótese auto-imune. Elas são complementares, uma vez que experiências utilizando modelos animais levaram à degeneração axonal em ambas e esta degeneração é o determinante principal da incapacidade neurológica irreversível em pacientes com EM (GRIGORIADIS; HADJIGEORGIOU, 2006).

De acordo com a hipótese infecciosa viral, muitos vírus são capazes de induzir a desmielinização em animais de laboratório. Após a infecção, são observadas respostas auto-ímunes contra os auto-antígenos da mielina que aumentam a lesão. O vírus, ao infectar um hospedeiro geneticamente predisposto, pode desencadear os seguintes mecanismos: (1) Mimetismo molecular - o microorganismo contém antígenos que atuam em reação cruzada com auto-antígenos, assim respostas imunológicas ao microorganismo resultam em reações contra os próprios tecidos. (2) Ativação "bystander" - a Infecção viral sobre um tecido-alvo causa a destruição do tecido e liberação de auto-antígenos seqüestrados. Desta forma, linfócitos específicos para estes auto-antígenos são recrutados para a área lesada. Auto-antígenos seqüestrados são aqueles que, por alguma razão, não foram apresentados aos linfócitos imaturos no timo e na medula óssea e, portanto, não são reconhecidos como próprios pelos linfócitos maduros nos tecidos periféricos. (3) Disseminação de epítomos - quando um tecido-alvo é lesado, possivelmente, mais de um auto-antígeno seqüestrado será envolvido na reação imune. Assim, uma reação auto-imune inicialmente direcionada contra um único auto-antígeno seqüestrado se espalha para outros (GRIGORIADIS; HADJIGEORGIOU, 2006).

Na hipótese auto-imune, o processo de desmielinização inicia-se com ativação de células T CD4⁺ periféricas com reatividade à mielina. Porém, nesta hipótese, ao contrário da hipótese infecciosa viral, a causa da ativação é desconhecida. As células T CD4⁺ ativadas atravessam a barreira hemato-encefálica, alterada geneticamente, em direção ao Sistema Nervoso Central, auxiliadas por um aumento no número de receptores das moléculas de adesão expressas pelas células endoteliais (RANSOHOFF *et al.*, 2003).

Segundo Santos *et al.* (2005), os auto-antígenos da mielina, sobretudo a Proteína Básica da Mielina e a Glicoproteína Mielodendrítica (MOG), são apresentados por macrófagos a estas células T CD4⁺, desencadeando uma cascata que libera mediadores inflamatórios e culmina com a lesão, ou mesmo destruição, da bainha de mielina. Evidências sugerem que as quimiocinas, proteínas secretadas que regulam

a migração de leucócitos, desempenham importante papel no direcionamento e manutenção de células T CD4⁺ nos locais onde os danos à mielina se processam.

ENCEFALOMIELITE AUTO-IMUNE EXPERIMENTAL (EAE)

Características

A EAE se caracteriza tanto pela inflamação por células mononucleares (monócitos e macrófagos), quanto por desmielinização, características que se assemelham às da EM. O modelo murino C57Bl/6 tem sido bastante útil na indução de EAE crônica, severa e sem recaídas, especialmente quando se utiliza a MOG como indutora da doença (SOSPEDRA; MARTIN, 2005). Esta proteína tem sido objeto de estudos que apóiam a possibilidade de ela ser o antígeno-alvo primário no desenvolvimento da EM (MENDEL *et al.*, 1995).

Indução

Este modelo é induzido através de componentes da Proteína Básica da mielina, da MOG ou da Proteína Proteolipídica que, depois de extraídos e purificados, são emulsificados no Adjuvante Completo de Freund, suplementado com *Mycobacterium tuberculosis* atenuado e injetado subcutaneamente em ambos os lados da região dorsal, próximo da base da cauda de animais susceptíveis. No dia da imunização e após 48 horas, os animais recebem toxina pertussis por via intraperitoneal. A EAE também é induzida através da transferência adotiva de células T CD4⁺, auto-reativas, de animais imunizados para animais *nave*, os quais desenvolvem a doença. Em ambas as formas de indução, citocinas, quimiocinas e moléculas de adesão recrutam leucócitos da periferia para o SNC. Uma cascata de eventos inflamatórios é estabelecida dentro dos limites do SNC, levando à degeneração, perda dos axônios e incapacidade a longo prazo (GRIGORIDIS; HADJIGEORGIOU, 2006; JI; GOVERMAN, 2007).

EAE murina e o envolvimento dos linfócitos T CD4⁺

As citocinas desempenham um papel central na iniciação, propagação e regulação da injúria auto-imune tecido-específica. As citocinas de Th1 estão presentes na lesão inflamatória da EAE, no Sistema Nervoso Central, enquanto que as citocinas de Th2 estão em menor concentração, sugerindo fortemente que as citocinas de Th1 desempenham um papel na patogênese da doença. Reciprocamente, a recuperação

da EAE em camundongos e ratos está associada a um aumento das citocinas de Th2 no Sistema Nervoso Central. Estes achados, junto com a observação de que as citocinas de Th2 podem inibir as ações das citocinas inflamatórias de Th1, sugerem que a indução e a ativação de células Th2 podem prevenir a EAE e outras doenças auto-imunes mediadas por células Th1 (BETTELLI *et al.*, 1998).

A IL-12 é uma citocina reguladora-chave da diferenciação das células Th1. Ela é uma proteína heterodímera formada por duas subunidades denominadas p35 e p40 ligadas por uma ponte dissulfeto e que são produtos de genes diferentes. Embora a p35 seja expressa por todas as células, ela só tem atividade biológica quando está associada à p40, a qual é expressa pelas células apresentadoras de antígenos. Um papel proeminente para a IL-12 foi estabelecido na imunidade antimicrobiana e na supressão tumoral (TRINCHIERI, 2003), contudo, o seu papel nas doenças auto-imunes órgãos específicas é controverso (THAKKER *et al.*, 2007).

Muitos estudos (LEONARD *et al.*, 1997; MARUSIC *et al.*, 2005; SEGAL; SHEVACH, 1996; SMITH *et al.*, 1997) sugerem que a IL-12 desempenha um papel importante no desenvolvimento da EAE. Por outro lado, várias investigações (BECHER *et al.*, 2002; GRAN *et al.*, 2002) mostram que camundongos deficientes em IL-12 têm uma susceptibilidade normal à EAE induzida pela imunização com MOG. Além disso, em camundongos, a p40 sozinha é secretada em grande quantidade e está associada com redução da incidência e severidade da EAE. Isso indica que, nas doenças auto-imunes, o papel inicialmente atribuído à IL-12 pode pertencer a outra citocina que usa a mesma subunidade p40 associada a outra subunidade. A descoberta de um novo membro da família da IL-12, que usa a subunidade p40 junto com a subunidade p19 para formar a IL-23, fornece explicações para estas observações discordantes (OPPMANN *et al.*, 2002). Camundongos deficientes em p19 e, portanto, deficientes em IL-23, secretam níveis normais de IL-12, mas estão protegidos contra a EAE induzida pela imunização com MOG (CUA *et al.*, 2003). Isso demonstra que a IL-23 desempenha um papel mais crítico no desenvolvimento da EAE do que a IL-12 (THAKKER *et al.*, 2007).

A IL-23 tem sido vista como importante para a geração *in vitro* de uma população de células T produtoras de IL-17A (AGGARWAL *et al.*, 2003). Estas células têm sido chamadas de Th17 e têm sido implicadas na patogênese da EAE (LANGRISH *et al.*, 2005). Elas b-c'g-c'UZHUgdcf'fUHã Ybr Wa ÷ B! 'ci '=@(' (HARRINGTON *et al.*, 2005; PARK *et al.*, 2005);

As células Th17 produzem a citocina IL-17A que desencadeia respostas inflamatórias crônicas e não compartilha elementos com respostas Th1 nem com respostas Th2 (HARRINGTON *et al.*, 2005; PARK *et al.*, 2005). A EAE pode ser induzida por transferência adotiva de células Th17 ou Th1 específicas para antígenos da mielina. Num estudo para avaliar se a exacerbação da doença era mediada por células Th17 e/ou Th1, foram injetados anticorpos monoclonais anti-IL17 ou anti-IFN- γ em camundongos nos quais foi induzida a EAE: o bloqueio da IL-17A inibiu de maneira dramática a EAE. Por outro lado, o bloqueio de IFN- γ não teve efeito. Estes resultados indicaram que, na EAE, as células Th17 desempenham um papel fundamental, enquanto que, as células Th1 têm papel secundário (KLEINSCHEK *et al.*, 2007; KOMIYAMA *et al.*, 2006).

Para determinar o papel do Fator de Necrose Tumoral (TNF) na EAE, Suen *et al.* (1997) usaram camundongos C57Bl/6 deficientes (*knock out*) em HB: ! `YHB: ! žUfa `XYWa i bXcb[cg`yJ UYbg imunizados com o peptídeo MOG. Todos os grupos de camundongos desenvolveram a doença. Porém os camundongos *knock out* dFUBH: ! `ZfUa `a Ug resistentes à doença em relação à manifestação de sinais clínicos e histológicos. Os camundongos *knock out* dFUBH: ! `ZfUa g gVdhj Yg{ `a UjZgU ~c XY sinais clínicos e histológicos, mas menos do que os selvagens. Estes dados sugerem que o TNF- γ HB: ! ` contribuem diferentemente no desenvolvimento da inflamação, ou seja, estas citocinas têm funções únicas bU959žYc`HB: ! `dFYWgM`a Ugja dcfHbHYbc` desenvolvimento desta doença.

A IL-25 é também chamada IL-17E, pois se trata de um membro da família IL-17 de citocinas, porém, diferentemente dos outros membros desta família, ela é um importante mediador da imunidade tipo 2 (FORT *et al.*, 2001). Num estudo com camundongos, as respostas de tipo 2 promovidas pela IL-25 conduziram a um mecanismo regulador que controlou as respostas Th17. A falta de IL-25 causou respostas devastadoras durante a EAE. Assim, IL-25 pode ser um agente terapêutico potencial para uma gama de distúrbios inflamatórios órgãos-específicos (KLEINSCHEK *et al.*, 2007).

As citocinas produzidas por clones Th2, mais especificamente IL-4 e IL-10, estão implicadas na regulação das doenças auto-imunes (KUCHROO *et al.*, 1995). Bettelli *et al.* (1998) realizaram um estudo que analisou os papéis destas duas citocinas na indução e na regulação da EAE em camundongos deficientes e transgênicos que superexpressavam estas citocinas. Foi demonstrado que camundongos deficientes em IL-10 desenvolvem uma EAE mais severa quando

comparados com camundongos deficientes em IL-4 ou camundongos selvagens. Nos camundongos deficientes em IL-10, as células T mostraram uma resposta proliferativa antígeno-específica contra a MOG com produção de mais citocinas de Th1 e indução muito mais severa da EAE, quando transferidas para camundongos selvagens. Por outro lado, os camundongos transgênicos para IL-4 desenvolveram uma doença similar em comparação com seus pares selvagens, enquanto que camundongos transgênicos para IL-10 foram completamente resistentes ao desenvolvimento da EAE.

Em conjunto, estes dados sugerem que a IL-10 desempenha um papel mais importante na regulação da EAE do que a IL-4. Para avaliar o papel da IL-4 isoladamente na prevenção da EAE, Liblau *et al.* (1997) realizaram um estudo com camundongos *knock out* para esta citocina, camundongos heterozigotos, ou seja, camundongos que produziam metade da IL-4 normalmente produzida e camundongos homozigotos para IL-4 (selvagens). A incidência da EAE, a demora no início, a pontuação clínica máxima e a taxa de mortalidade (padrões indicativos da severidade da doença) foram similares em todos os camundongos. Estes resultados indicam que a IL-4 é dispensável na prevenção da EAE. A aparente contradição entre o bem documentado papel supressor da IL-4 na EAE e estes resultados sugerem que existem outras citocinas de Th2 suficientes para desenvolver a supressão da EAE nos camundongos *knock out* para IL-4, entre elas c`H: ! `YU=@% "

EAE murina e o envolvimento dos linfócitos T CD8⁺

Huseby *et al.* (2001) encontraram células T CD8⁺ intimamente associadas a axônios desmielinizados em pacientes portadores de EM e elas excediam em quase dez vezes as células T CD4⁺. Até pouco tempo atrás, não se conhecia o papel das células T CD8⁺ na EAE pelo fato de a imunização dos animais com antígenos da mielina e adjuvante resultar na apresentação destes antígenos via Complexo de Histocompatibilidade Principal II (MHC-II) e não via MHC-I. Porém, Huseby *et al.* (1999); Huseby *et al.* (2001) e Ji e Goverman (2007) geraram células T CD8⁺ específicas contra a Proteína Básica da Mielina, usando técnicas de engenharia genética. Foi feita, então, a transferência adotiva das células geradas para camundongos *nave* que desenvolveram uma EAE com severos sinais neurológicos e significante perda de peso. Foram apresentados sinais, como ataxia, espasticidade, hiper-reflexia e perda de coordenação motora, os quais se assemelham a muitas características da EM e que não são vistas nos modelos de EAE estimulados por células T CD4⁺.

EAE murina e o envolvimento dos linfócitos T regulatórios

Num trabalho realizado por Kohm *et al.* (2002), *in vitro*, as células T regulatórias efetivamente inibiram tanto a proliferação quanto a produção de citocinas pelas células Th1 específicas contra a MOG. *In vivo*, a transferência adotiva de células T regulatórias conferiu significativa proteção contra a EAE clínica em camundongos C57Bl/6, a qual foi associada com ativação normal das células Th1 auto-reativas, mas também aumento de células Th2 e diminuição da infiltração no Sistema Nervoso Central. Finalmente, células T regulatórias transferidas apresentaram uma habilidade aumentada para se localizar nos linfonodos periféricos e expressaram níveis aumentados das moléculas ICAM-1 e P-selectina que podem promover interações funcionais com células T alvo. Coletivamente, estes resultados sugerem que as células T regulatórias contribuem com mecanismos endógenos que regulam as doenças auto-imunes.

Conclusão

Com base nas informações descritas, podemos concluir que as opções terapêuticas futuras para a EM dependerão de progressos no entendimento dos fatores precisos que envolvem o início da doença e a sua progressão. Desta forma, será possível o desenvolvimento de terapias que traduzam benefícios reais aos pacientes. Apesar de um grande número de agentes imunomodulatórios e imunossupressivos utilizados no tratamento da EM, estratégias terapêuticas melhor definidas ainda tornam-se necessárias. Flavonóides e fitoestrógenos têm sido testados em modelo murino de EAE, demonstrando que estes compostos podem ter propriedades benéficas como alternativa às terapias hoje existentes (DE PAULA *et al.*, 2008; SINGH *et al.*, 2007).

AGRADECIMENTOS

FAPEMIG, CAPES e CNPQ

REFERÊNCIAS

- AGGARWAL, S.; GHILARDI, N.; XIE, M. H.; DE SAUVAGE, F. J.; GURNEY, A. L. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17. *The Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, v. 278, p.1910-1914, 2003.
- ARRUDA, W. O.; SCOLA, R. H.; TEIVE, H. A.; WERNECK, L. C. Multiple sclerosis: report on 200 cases from Curitiba, Southern Brazil and comparison with other Brazilian series. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, São Paulo, v. 59, p. 165-170, 2001.
- BARCELLOS, L. F.; OKSENBERG, J. R.; BEGOVICH, A. B.; MARTIN, E. R.; SCHMIDT, S.; VITTINGHOFF, E.; GOODIN, D. S.; PELLETIER, D.; LINCOLN, R. R.; BUCHER, P.; SWERDLIN, A.; PERICAK-VANCE, M. A. HAINES, J. L.; HAUSER, S. L.; THE MULTIPLE SCLEROSIS GENETICS GROUP. HLA-DR2 dose effect on susceptibility to multiple sclerosis and influence on disease course. *American Journal of Human Genetics*, Baltimore, v. 72, p. 710-16, 2003.
- BARNES, P. J. How corticosteroids control inflammation. *British Journal of Pharmacology*, London, v. 148, p. 245-254, 2006.
- BECHER, B.; DURELL, B. G.; NOELLE, R. J. Experimental autoimmune encephalitis and inflammation in the absence of interleukin-12. *The Journal of Clinical Investigation*, New Haven, v. 110, p. 493-497, 2002.
- BETTELLI, E.; DAS, M. P.; HOWARD, E. D.; WEINER, H. L.; SOBEL, R. A.; KUCHROO, V. K. IL-10 is critical in the regulation of autoimmune encephalomyelitis as demonstrated by studies of IL-10- and IL-4-deficient and transgenic mice. *The Journal of Immunology*, Baltimore, v. 161, p. 3299-3306, 1998.
- CASTRO, S. A. F. N. **A abordagem fonoaudiológica na esclerose múltipla: relato de caso.** 1999. 83 f. Monografia (Especialização em Motricidade Oral) - Centro de Especialização em Fonoaudiologia Clínica, Porto Alegre, 1999.
- CEPOK, S.; ZHOU, D.; SRIVASTAVA, R.; NESSLER, S.; STEI, S.; BÜSSOW, K.; SOMMER, N.; HEMMER, B. Identification of epstein-barr virus proteins as putative targets of the immune response in multiple sclerosis. *The Journal of Clinical Investigation*, New Haven, v. 115, n. 5, p. 1352-1360, may, 2005.
- CUA, D. J.; SHERLOCK, J.; CHEN, Y.; MURPHY, C. A.; JOYCE, B.; SEYMOUR, B.; LUCIAN, L.; TO, W.; KWAN, S.; CHURAKOVA, T.; ZURAWSKI, S.; WIEKOWSKI, M.; LIRA, S. A.; GORMAN, D.; KASTELEIN, R. A.; SEDGWICK, J. D. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain. *Nature*, London, v. 421, p. 744-748, 2003.
- DE PAULA, M. L.; GOMES, N. A.; SILVA, V. S.; RIBEIRO, R. S.; DAMASCENO, C. A. A.; PIRES, L. A.; AMARAL, K. B.; TEIXEIRA, H. C.; FERREIRA, A. P. Clinical and serological characteristics of multiple sclerosis in Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil. In: *the International Congress of Immunology*, 554-558, 2007, Rio de Janeiro.
- DE PAULA, M. L.; RODRIGUES, D. H.; TEIXEIRA, H. C.; BARSANTE, M. M.; SOUZA, M. A.; FERREIRA, A. P. Genistein down-modulates proinflammatory cytokines and reverses clinical signs of experimental autoimmune encephalomyelitis. *International Immunopharmacology*, New York, v. 8, p. 1291-1297, 2008.
- DYMENT, D. A.; EBERS, G. C.; SADOVNICK, A. D. Genetics of multiple sclerosis. *The Lancet Neurology*, London, v. 3, p. 104-10, 2004.

- FORT, M. M.; CHEUNG, J.; YEN, D.; LI, J.; ZURAWSKI, S. M.; LO, S.; MENON, S.; CLIFFORD, T.; HUNTE, B.; LESLEY, R.; MUCHAMUEL, T.; HURST, S. D.; ZURAWSKI, G.; LEACH, M. W.; GORMAN, D. M.; RENNICK, D. M. IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo. *Immunity*, Cambridge, v. 15, p. 985-995, 2001.
- GRAN, B.; ZHANG, G. X.; YU, S.; LI, J.; CHEN, X. H.; VENTURA, E. S.; KAMOUN, M.; ROSTAMI, A. IL-12p35-deficient mice are susceptible to experimental autoimmune encephalomyelitis: evidence for redundancy in the IL-12 system in the induction of central nervous system autoimmune demyelination. *The Journal of Immunology*, Baltimore, v. 169, p. 7104-7110, 2002.
- GRIGORIADIS, N.; HADJIGEORGIOU, G. H. Virus-mediated autoimmunity in multiple sclerosis. *Journal of Autoimmune Diseases*, London, v. 3, n. 1, Feb., 2006. Disponível em: <<http://www.jautoimdis.com/content/3/1/1>>. Acesso em: 19 dez. 2007.
- HAFNER, A. D. Multiple sclerosis. *The Journal of Clinical Investigation*, New Haven, v. 113, p. 788-794, mar, 2004.
- HARRINGTON, L. E.; HATTON, R. D.; MANGAN, P. R.; TURNER, H.; MURPHY, T. L.; MURPHY, K. M.; WEAVER, C. T. Interleukin 17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nature immunology*, New York, v.6, p.1123-1132, 2005.
- HILLERT, J.; OLERUP, O. HLA and MS. *Neurology*, Minneapolis, v. 43, p. 2426-27, 1993.
- HUSEBY, E. S.; LIGGITT, D.; BRABB, T.; SCHNABEL, B.; ÖHLÉN, C.; GOVERMAN, J. A Pathogenic role for myelin-specific CD8⁺ T cells in a model for multiple sclerosis. *The Journal of Experimental Medicine*, New York, v. 194, n. 5, p. 669-676, Sep., 2001.
- HUSEBY, E. S.; ÖHLÉN, C.; GOVERMAN, J. Cutting Edge: myelin basic protein-specific cytotoxic T Cell tolerance is maintained in vivo by a single dominant epitope in H-2^b mice. *The Journal of Immunology*, Baltimore, v. 163, p. 1115-1118, 1999.
- JI, Q.; GOVERMAN, J. Experimental autoimmune encephalomyelitis mediated by CD8⁺ T cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*, New York, v.113. p. 157-166, 2007.
- JIA, D.; O'BRIEN, C. A.; STEWART, S. A.; MANOLAGAS, S. C.; WEINSTEIN, R. S. Glucocorticoids act directly on osteoclasts to increase their life span and reduce bone density. *Endocrinology*, Springfield, v. 147, n. 12, p. 5592-5599, 2006.
- KLEINSCHEK, M. A.; OWYANG, A. M.; JOYCE-SHAikh, B.; LANGRISH, C. L.; CHEN, Y.; GORMAN, D. M.; BLUMENSCHWEIN, W. M.; MCCLANAHAN, T.; BROMBACHER, F.; HURST, S. D.; KASTELEIN, R. A.; CUA, D. IL-25 regulates Th17 function in autoimmune inflammation. *The Journal of Experimental Medicine*, New York, v. 204, n. 1, p. 161-170, Jan., 2007.
- KOHN, A. P.; CARPENTIER, P. A.; ANGER, H. A.; MILLER, S. D. Cutting edge: CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells suppress antigen-specific autoreactive immune responses and central nervous system inflammation during active experimental autoimmune encephalomyelitis. *The Journal of Immunology*, Baltimore, v. 169, p. 4712-4716, 2002.
- KOMIYAMA, Y.; NAKAE, S.; MATSUKI, T.; NAMBU, A.; ISHIGAME, H.; KAKUTA, S.; SUDO, K.; IWAKURA, Y. IL-17 Plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis *The Journal of Immunology*, Baltimore, v. 177, p. 566-573, 2006.
- KUCHROO, V. K.; DAS, M. P.; BROWN, J. A.; RANGER, A. M.; ZAMVIL, S. S.; SOBEL, R. A.; WEINER, H. L.; NABAVI, N.; GLIMCHER, L. H. B7-1 and B7-2 costimulatory molecules activate differentially the Th1/Th2 developmental pathways: application to autoimmune therapy. *Cell*, Cambridge, v. 80, n. 5, p. 707-718, 1995.
- LANA-PEIXOTO, M. A. Devic's neuromyelitis optica: a critical review. *Arquivos de Neuropsiquiatria*, São Paulo v. 66, p. 120-138, 2008.
- LANGRISH, C. L.; CHEN, Y.; BLUMENSCHWEIN, W. M.; MATSON, J.; BASHAM, B.; SEDGWICK, J. D.; MCCLANAHAN, T.; KASTELEIN, R. A.; CUA, D. J. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *The Journal of Experimental Medicine*, New York, v. 201, p. 233-240, 2005.
- LEONARD, J. P.; WALDBURGER, K. E.; SCHAUB, R. G.; SMITH, T.; HEWSON, A. K.; CUZNER, M. L.; GOLDMAN, S. J. Regulation of the inflammatory response in animal models of multiple sclerosis by interleukin-12. *Critical reviews in Immunology*, New York, v. 17, p. 545-553, 1997.
- LIBLAU, R.; STEINMAN, L.; BROCKE, S. Experimental autoimmune encephalomyelitis in IL-4-deficient mice. *International Immunology*, Oxford, v. 9, n. 5, p. 799-803, 1997.
- LUBLIN, F. D. The incomplete nature of multiple sclerosis relapse resolution. *Journal of the Neurological Sciences*, Amsterdam, v. 256, suppl.14-18, 2007.
- MARUSIC, S.; LEACH, M. W.; PELKER, J. W.; AZOITEI, M. J.; UOZUMI, N.; CUI, J.; SHEN, M. W. H.; DECLERCQ, C. M.; MIYASHIRO, J. S.; CARITO, B. A.; THAKKER, P.; SIMMONS, D. L.; LEONARD, J. P.; SHIMIZU, T.; CLARK, J. D. Cytosolic phospholipase A2 α is essential for the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *The Journal of Experimental Medicine*, New York, v. 202, p. 841-851, 2005.
- MCDONALD, W. I.; COMPSTON, A.; EDAN, G.; GOODKIN, D.; HARTUNG, H. P.; LUBLIN, F. D.; MCFARLAND, H. F.; PATY, D. W.; POLMAN, C. H.; REINGOLD, S. C.; SANDBERG-WOLLHEIM, M.; SIBBLEY, W.; THOMPSON, A.; VAN DEN NOORT, S.; WEINSHENKER, B. Y.; WOLINSKY, J. S. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the international panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of Neurology*, Boston, v. 50, p. 121-127, 2001.
- MENDEL, I.; DE ROSBO, K. N.; BEN-NUN, A. A myelin oligodendrocyte glycoprotein peptide induces typical chronic experimental autoimmune encephalomyelitis in H-2b mice: fine specificity and T

- cell receptor V beta expression of encephalitogenic T cells. **European Journal of Immunology**, Weinheim, v. 25, n. 7, p. 1951-1959, jul., 1995.
- OPPMANN, B.; LESLEY, R.; BLOM, B.; TIMANS, J. C.; XU, Y.; HUNTE, B.; VEGA, F.; YU, N.; WANG, J.; SINGH, K.; ZONIN, F.; VAISBERG, E.; CHURAKOVA, T.; LIU, M.; GORMAN, D.; WAGNER, J.; ZURAWSKI, S.; LIU, Y.; ABRAMS, J. S.; MOORE, K. W.; RENNICK, D.; DE WAAL-MALEFYT, R.; HANNUM, C.; BAZAN, J. F.; KASTELEIN, R. A. Novel p19 protein engages IL-12p40 to form a cytokine, IL-23, with biological activities similar as well as distinct from IL-12. **Immunity**, Cambridge, v. 13, p. 715-725, 2000.
- PARK, H.; LI, Z.; YANG, X. O.; CHANG, S. H.; NURIEVA, R.; WANG, Y. H.; WANG, Y.; HOOD, L.; ZHU, Z.; TIAN, Q.; DONG, C. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. **Nature immunology**, New York, v. 6, p. 1133-1141, 2005.
- RANSOHOFF, R. M.; KIVISAKK, P.; KIDD, G. Three or more routes for leukocyte migration into the central nervous system. **Nature Reviews Immunology**, London, v. 3, n. 7, p. 569-581, jul., 2003.
- SANTOS, A. C.; BARSANTE, M. M.; ARANTES, R. M. E.; BERNARD, C. C. A.; TEIXEIRA, M.; CARVALHO-TAVARES, J. CCL2 and CCL5 mediate leukocyte adhesion in experimental autoimmune encephalomyelitis - an intravital microscopy study. **Journal of Neuroimmunology**, Holland, v. 162, suppl.1-2, p. 122-129, mar., 2005.
- SEGAL, B. M.; SHEVACH, E. M. IL-12 unmasks latent autoimmune disease in resistant mice. **The Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 184, p. 771-775, 1996.
- SINGH, N. P.; HEGDE, V. L.; HOFSETH, L. J.; NAGARKATTI, M.; NAGARKATTI, P. Resveratrol (trans-3,5,4'-trihydroxystilbene) ameliorates experimental allergic encephalomyelitis, primarily via induction of apoptosis in T cells involving activation of aryl hydrocarbon receptor and estrogen receptor. **Molecular Pharmacology**, New York, v. 72, p. 1508-1521, 2007.
- SMITH, T.; HEWSON, A. K.; KINGSLEY, C. I.; LEONARD, J. P.; CUZNER, M. L. Interleukin-12 induces relapse in experimental allergic encephalomyelitis in the Lewis rat. **The American Journal of Pathology**, Philadelphia, v. 150, p. 1909-1917, 1997.
- SOSPEDRA, M.; MARTIN, R. Immunology of multiple sclerosis. **Annual Review of Immunology**, Palo Alto, v. 23, p. 683-747, dec. 2005.
- SOSPEDRA, M.; ZHAO, Y.; HAUSEN, H. Z.; MURARO, P. A.; HAMASHIN, C.; VILLIERSV, E.; PINILLA, C.; MARTIN, R. Recognition of conserved amino acid motifs of common viruses and its role in autoimmunity. **Plos Pathogens**, San Francisco, v. 1, n. 4, p. 335-348, dec. 2005.
- SUEN, W. E.; BERGMAN, C. M.; HJELMSTRÖM, P.; RUDDLE, N. H. A. Critical role for lymphotoxin in experimental allergic encephalomyelitis. **The Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 186, n. 8, p. 1233-1240, oct. 1997.
- THAKKER, P.; LEACH, M. W.; KUANG, W.; BENOIT, S. E.; LEONARD, J. P.; MARUSIC, S. IL-23 Is Critical in the Induction but Not in the Effector Phase of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. **The Journal of Immunology**, Baltimore, v. 178, p. 2589-2598, 2007.
- T HARTA, B. A.; AMOR, A. The use of animal models to investigate the pathogenesis of neuroinflammatory disorders of the central nervous system. **Current Opinion in Neurology**, Philadelphia, v. 16, p. 375-383, 2003.
- TRINCHIERI, G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. **Nature Reviews Immunology**, London, v. 3, p. 133-146, 2003.
- VIRLEY, D. J. Developing therapeutics for the treatment of multiple sclerosis. **American Society for Experimental NeuroTherapeutics**, United Kingdom, v. 2, n. 4, p. 638-649, oct., 2005.
- VOLLMER, T. The natural history of relapses in multiple sclerosis. **Journal of the Neurological Sciences**, Amsterdam, v. 256, suppl. 5-13, 2007.
- YANG, J. **Peripheral Immune Response in Chronic Relapsing Experimental Autoimmune Encephalomyelitis in SJL mice**. 2003. 84 f. Dissertation (Master Course in Neuroscience) - University of Helsinki, Finland, 2003.

Enviado em 12/09/2008

Aprovado em 25/09/2008