



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	O Vírus Sincicial Respiratório (VSR) induz a produção do Fator Inibidor da Migração de Macrófagos (MIF) em células dendríticas murinas
Autor	STEFANIE PRIMON MURARO
Orientador	RENATO TETELBOM STEIN
Instituição	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Vírus Sincicial Respiratório (VSR) é a principal causa de infecções respiratórias em crianças menores de 2 anos com alta prevalência e distribuição mundial estando principalmente associada à bronquiolite. Embora, seja altamente infectivo, o VSR não promove a formação de uma memória imunológica duradoura havendo reinfecções que podem provocar desde doença leve do trato respiratório superior a infecções graves do trato respiratório inferior que exigem hospitalização e podem levar a morte. Não existe nenhuma terapia eficaz para a infecção por RSV e por isso o tratamento é principalmente sintomático.

Na bronquiolite, a infecção por VSR gera um processo inflamatório induzindo a produção de quimiocinas pelas células epiteliais e ativando mecanismos de resposta imune. Com o recrutamento, para o tecido infectado, de neutrófilos, células T de memória, monócitos e eosinófilos, há uma secreção aumentada de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias que contribuem para o dano tecidual das vias aéreas e para a ativação de células T CD4 e CD8 envolvidas na eliminação do VSR.

Estudos mostraram que o VSR tem a capacidade de induzir uma resposta imune via Th2, caracterizada pela ativação e proliferação de células T CD4 e uma diminuição na ativação de células T CD8. Com uma maior ativação de células T CD4, o dano pulmonar é aumentado assim como a propagação do vírus.

A citocina pró-inflamatória MIF (fator inibidor da migração de macrófagos) tem sido associada à resposta imune envolvendo células Th2 e facilitando a resposta inflamatória, contudo altos níveis de MIF são prejudiciais por gerarem uma reação inflamatória exacerbada. O MIF é expresso por células e tecidos encontrados principalmente em vias de contato direto com o ambiente do hospedeiro como pulmão, pele, trato gastrointestinal e geniturinário.

Com base no papel do MIF na patogenia de infecções, sua capacidade de modular respostas inflamatórias e seu envolvimento nas respostas imunes através de células T CD4 e CD8, o objetivo é caracterizar o MIF na infecção pelo VSR.

Células dendríticas derivadas da medula óssea (BMDCs) de camundongos C57BL/6, foram cultivadas em meio AIM-V com GM-CSF (40 ng/mL) e IL-4 (40 ng/mL) por 7 dias a 37°C com 7% de CO₂. O meio de cultura foi trocado a cada 3 dias. Ao terminar o período de incubação, as BMDCs foram recolhidas, transferidas para uma placa de 96 poços (2x10⁵ células/200 µL) e estimuladas com VSR (5 x 10⁴ – 5 x 10⁵ PFU/mL) por 24 horas a 37°C com 7% de CO₂. Como controle positivo, as células foram estimuladas com LPS (0,5 µg/mL). Após a incubação, as células foram rompidas com tampão de extração (HEPES, KCl, DTT, EDTA e PMSF). A detecção da expressão de MIF foi feita por Western Blot usando um anticorpo anti-MIF (Invitrogen) e um anticorpo secundário marcado com peroxidase (Invitrogen). A detecção foi realizada usando o sistema ECL. O VSR foi capaz de induzir a expressão de MIF em BMDCs, em todas as concentrações testadas. Atualmente, nós estamos avaliando a expressão de MIF nessas células por PCR em tempo real e analisando a produção de citocinas pró-inflamatórias induzidas pela infecção com VSR. Além disso, pretendemos avaliar o papel do MIF na produção de citocinas inflamatórias induzidas pelo VSR, através da utilização de uma droga inibidora de MIF.