

XIV Salão Iniciação Científica da PUCRS

Papel da expressão do Fator Inibidor da Migração de Macrófagos (MIF) em camundongos C57BL/6 infectados com Vírus Sincicial Respiratório (VSR).

¹ Stéfanie Primon Muraro & ² Renato Tetelbom Stein.

¹ Laboratório de Imunologia Clínica e Experimental e ² Laboratório de Respirologia Pediátrica; Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB); Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

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. O VSR não promove a formação de uma memória imunológica duradoura havendo reinfecções que podem provocar doenças do trato respiratório que exigem hospitalização e podem levar a morte. Na bronquiolite, a infecção por VSR gera um processo inflamatório induzindo a produção de quimiocinas e ativando mecanismos de resposta imune. 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. O dano pulmonar é aumentado com a maior ativação de células T-CD4 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 em altos níveis é prejudicial por gerar uma reação inflamatória exacerbada. Com base no papel do MIF na patogênese de infecções, sua capacidade de modular respostas inflamatórias e 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. No controle positivo, as células foram estimuladas com LPS (0,5 µg/mL). Após, 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, pelo sistema ECL, usando um anticorpo anti-MIF (Invitrogen) e um anticorpo secundário marcado com peroxidase (Invitrogen). 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 um inibidor de MIF.

Fator inibidor da migração de macrófagos; Infecções respiratórias; Vírus Sincicial Respiratório.