MEDTROP
54º CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL
02 a 05 Setembro 2018 Centro de Convenções de Pernambuco | Olinda PE

Email: dezalinhares@hotmail.com

CEPA HIPERVIRULENTA DE MTB INDUZ PATOLOGIA PULMONAR NECRÓTICA ATRAVÉS DO RECRUTAMENTO DE NEUTRÓFILOS E PELA INDUÇÃO DE MMP-8 E -9 QUE PODEM SER REDUZIDOS COM O TRATAMENTO DE INIBIDORES DE MMPS

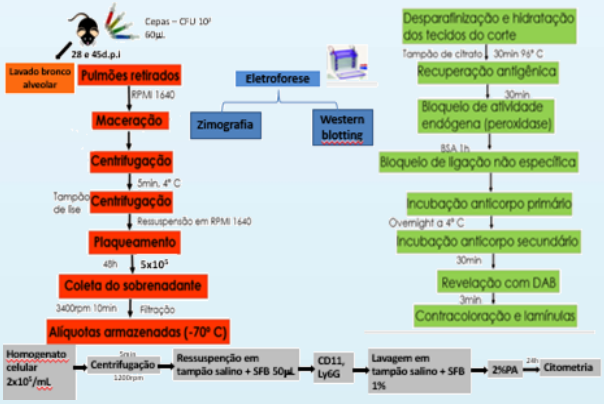
Andreza Linhares Rezende, Fabrício Moreira Almeida, Thatiana Lopes Biá Ventura Simão, Mário Sérgio Schultz, Elena Lassounskaia

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e Universidade Federal do Rio de Janeiro

INTRODUÇÃO

Tuberculose (TB) é uma doença infecciosa crônica causada pelo bacilo Mycobacterium tuberculosis (Mtb). O modelo da TB em camundongos C57BL/6, relativamente resistentes a micobactéria, é amplamente utilizado na pesquisa da TB. O uso de isolados clínicos de Mtb altamente virulentos para infecção nos permitiu induzir pneumonia necrótica nestes animais. Esta patologia está associada ao intenso recrutamento de neutrófilos e fagócitos mononucleares acompanhado pela morte necrótica de células no local da inflamação. Neste estudo nós verificamos o papel de neutrófilos e de metaloproteinases de matriz (MMPs) produzidas por estas células na patologia pulmonar necrótica induzida em camundongos infectados com a cepa hipervirulenta M299 tratados com inibidores de MMPs doxiciclina e 2,2'-bipiridina e com anticorpo monoclonal anti-Gr-1.

METODOLOGIA



RESULTADOS

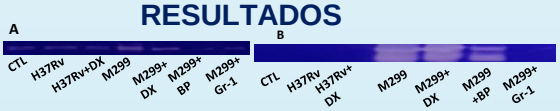


Fig.1: Análise de zimografia de sobrenadante de cultura de células pulmonares (A) e de lavado bronco alveolar (B) obtidos de camundongos durante a fase aguda de infecção (28d.p.i.). Imagens representativas de géis e análise densitométrica das bandas. CTL: animais não-infectados; DX: doxiciclina; BP: bipiridina; Gr-1: anticorpo anti Gr-1.

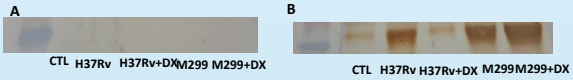


Fig.2: Análise de Western Blotting de sobrenadante de cultura de células pulmonares (A) e de lavado bronco alveolar (B) obtidos de camundongos durante a fase aguda de infecção (28d.p.i.) marcado com anti MMP-8. Imagens representativas de géis e análise densitométrica das bandas. CTL: animais não-infectados; DX: doxiciclina.

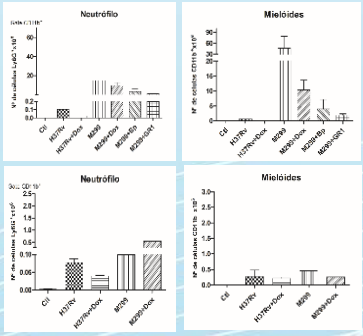


Fig. 3: Cinética das subpopulações leucocitárias (células CD11b+, Ly6G+ e Ly6G-) em pulmões de camundongos infectados avaliados por citometria de fluxo. Infecção com cepa altamente virulenta M299 causou um aumento do recrutamento de células CD11b+, predominantemente em neutrófilos Ly6G+, que coincidiu com o desenvolvimento de pneumonia tuberculosa necrótica (28 – 45 d.p.i.)

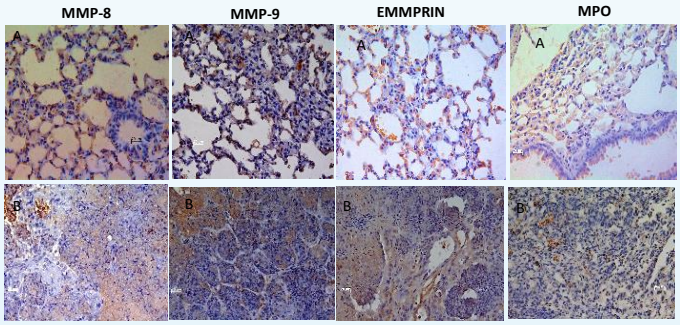


Fig. 4: Análise de IHQ da expressão de MMP-8, MMP-9, EMMPRIN e MPO em tecido pulmonar de camundongo infectado após 28 dias de infecção com as cepas H37Rv (A) e M299 (B e C).

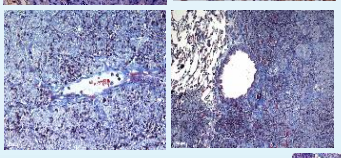


Fig. 5: Histologia de Tricômico de Gomori para marcação do colágeno em pulmão de camundongos infectados com a cepa M299 após 28 dias

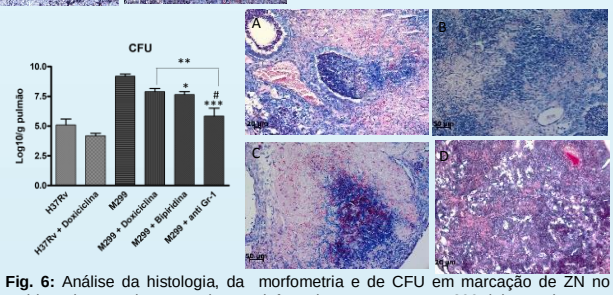


Fig. 6: Análise da histologia, da morfometria e de CFU em marcação de ZN no tecido pulmonar de camundongos infectados com a cepa M299 (A) tratados com doxiciclina (B), bipiridina (C) e com anticorpo Anti-Gr-1 (D). P <0,05 (*), P<0,01 (**), P<0,01 (***) e P<0,05 # em relação ao tratamento com doxiciclina.,

CONCLUSÕES

A cepa virulenta M299 induziu nos pulmões de camundongos pneumonia tuberculosa necrosante após 28 dias de infecção;

Análise IHQ do pulmão demonstra que a patologia necrótica foi associada com aumento nos níveis da expressão *in situ* de MMP-8, MMP-9, EMMPRIN e mieloperoxidase (MPO);

Células infiltradas no pulmão dos camundongos produziram a forma ativa de MMP-8 e de MMP-9 que clivou a gelatina no teste zimográfico;

A patologia de camundongos infectados por M299 foi associada ao aumento do recrutamento de leucócitos mielóides, representados predominantemente por neutrófilos Ly6G+ no dia 28 p.i

O tratamento de camundongos infectados com inibidores de MMPs, doxiciclina e 2,2'-bipiridina, além do anticorpo Anti-Gr-1 reduziu o número de neutrófilos e CFU no pulmão, com redução da patologia necrótica.

REFERÊNCIAS

ELKINGTON PT, D'ARMIENTO J, FRIEDLAND JS (2011) Tuberculosis Immunopathology: the neglected role of extracellular matrix destruction. Science Translational Medicine, 3:1-4

HUNTER RL (2011). Pathology of post primary tuberculosis of the lung: an illustrated critical review. Tuberculosis; 91: 497–509

LASUNSKAIA EB, RIBEIRO SC, MANICHEVA O, GOMES LL, PHILIP NS, MOKROUSOV I, FERRAZOLI L, ANDRADE MR, KRITSKI A, OTTEN T,, *et al*., (2010) Emerging multidrug resistant Mycobacterium tuberculosis strains of the Beijing genotype circulating in Russia express a pattern of biological properties associated with enhanced virulence. Microbes and Infection, 12:467-475