

INDUÇÃO DE IMUNIDADE INATA DIFERENCIAL APÓS DESAFIO COM ISOLADOS DE CAMPO BRASILEIROS DO VÍRUS DA BRONQUITE INFECCIOSA

C.H. Okino*, M.A.Z. Mores, G.L.M. Mattos, P.A. Esteves, L. Brentano, I.M. Trevisol, A. Coldebella
Embrapa Suínos e Aves – Laboratório de Sanidade e Genética Animal – Concórdia – SC- Brasil

Introdução

A imunidade inata constitui a primeira linha de defesa do hospedeiro contra infecção, sendo que durante infecção por patógenos virais, podem-se destacar a atividade de interferons tipo I (IFN α e IFN β), interferon tipo II (IFN γ), ativação de “toll-like receptors” específicos ao reconhecimento de genoma viral (ssRNA/TLR7 ou dsRNA/TLR3), iNOS (liberado durante ativação de macrófagos) e por citocinas pró-inflamatórias (IL1 β e IL6) [1]. A replicação primária do vírus da Bronquite Infecciosa (VBI) ocorre no epitélio traqueal, ocasionando uma série de alterações patológicas, aumentando dessa forma a predisposição a infecções secundárias. Entretanto, as interações envolvidas entre a resposta inata local e a replicação do VBI permanecem pouco elucidadas [1,2]. O objetivo desse trabalho foi o de avaliar comparativamente os perfis de imunidade inata e associá-los com os níveis de replicação viral e lesões microscópicas na traqueia de aves desafiadas com diferentes isolados de campo do VBI, a fim de se buscar quais os principais mecanismos envolvidos e desencadeados após infecção por esse vírus.

Material e Métodos

54 aves SPF foram alojadas em três isoladores com pressão positiva no primeiro dia de idade. Aos 28 dias de idade, as aves do primeiro isolador foram desafiadas com $10^{4.0}$ DI E_{50} /ave do isolado F3736, enquanto as aves do segundo isolador receberam $10^{4.0}$ DI E_{50} /ave do isolado F3735. O terceiro isolador foi inoculado com diluente do vírus do desafio (controle negativo). Nos intervalos de 1 e 5 dias pós-infecção (dpi), as aves foram eutanasiadas, as traqueias foram removidas e submetidas à extração de RNA total. O RNA extraído foi submetido à RT-PCR em tempo real para quantificação absoluta da região 3'UTR do VBI (carga viral) e para quantificação relativa da expressão gênica (TLR3, TLR7, IFN α , IFN β , IFN γ , IL1 β , IL6 e iNOS). Os resultados dos diferentes grupos foram comparados entre si dentro de cada intervalo de avaliação pelo teste Kruskal Wallis seguido pelo teste de Wilcoxon, com nível de significância de $P < 0,05$.

Resultados e Discussão

Carga viral – No 1dpi, foram detectados $10^{5.75}$ e $10^{7.87}$ cópias do VBI, nos grupos desafiados com F3735 e F3736, respectivamente, embora maiores níveis de carga viral tenham sido observados no grupo desafiado com F3736, a diferença não foi significativa entre os grupos desafiados ($P=0,054$). Similarmente, no 5dpi, foram detectados $10^{6.26}$ e $10^{7.61}$ cópias do VBI, nos grupos desafiados com F3735 e F3736, respectivamente. Não foi detectada replicação viral no grupo controle negativo em nenhum dos intervalos.

Expressão gênica – No 1dpi, a expressão dos genes TLR3, iNOS, IL1 β e IL6 foi aumentada nos grupos desafiados quando comparados ao controle negativo. Nesse mesmo intervalo, foi observada quantificação diferenciada de TLR7 entre os grupos desafiados, onde somente o grupo desafiado com o isolado F3736 apresentou “down-regulation” para esse transcrito (aproximadamente 3,5 vezes). No 5dpi, a expressão de todos os genes avaliados apresentaram aumentos significativos em relação ao controle negativo, exceto

para iNOS, cuja expressão foi significativamente regulada negativamente no grupo desafiado com F3735.

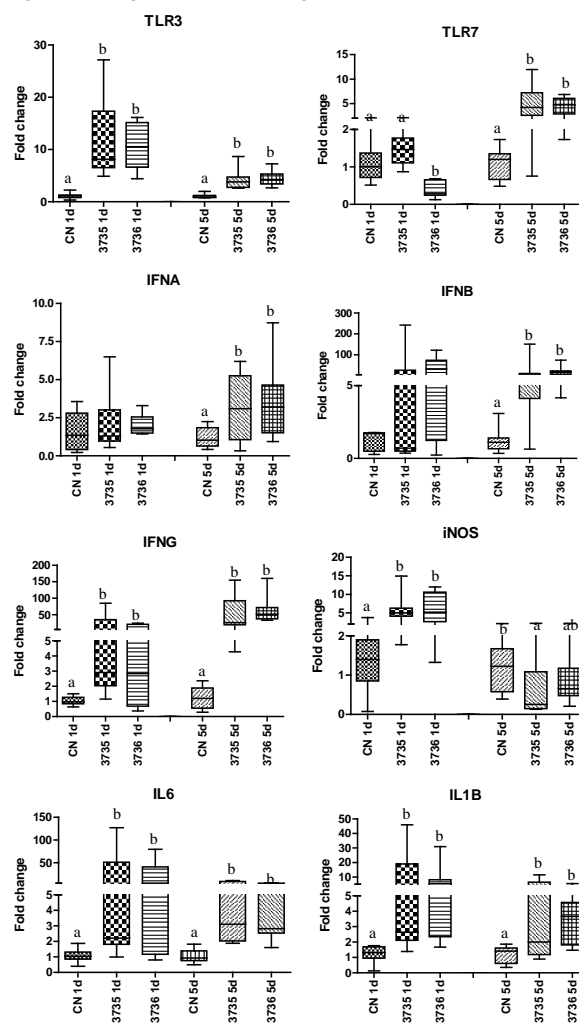


Figura 1. Resultados de quantificação da expressão dos diferentes genes avaliados nos intervalos de 1 e 5 dpi. *grupos identificados com letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Wilcoxon ($P < 0,05$).

Conclusões

A expressão diferencial do gene codificador do TLR7, regulada negativamente, observada somente no grupo desafiado com F3736, coincide com os maiores níveis de carga viral observados nesse grupo, enquanto a quantificação dos demais genes não apresentaram diferenças significativas entre os grupos desafiados. Portanto, nesse estudo podemos apontar uma possível interação entre um mecanismo de indução de supressão da expressão de TLR7 por determinadas estirpes de VBI, que podem estar corroborando com maior sucesso na taxa de multiplicação viral. Embora, investigações adicionais devam ser realizadas para melhor caracterização desses resultados.

Bibliografia

1. Kameka, A.M. et al, Virol. 450-451:114-121. 2014.
2. Okino, C.H. et al, Viral Immunol. 26(4):1-9. 2013