

Descoberta de novos marcadores de prognóstico e alvos terapêuticos avaliando a diferente resposta de camundongos a sepse

Guilherme Cesar Martelossi Cebinelli, Paula Barbim Donate, Daniele Carvalho Bernardo Nascimento, Luis Eduardo Alves Damasceno, Amanda Curto Tavares, Antonio Édson Rocha Oliveira, André Nicolau Aquime Gonçalves, Helder Takashi Imoto Nakaya, Thiago Mattar Cunha, José Carlos Farias Alves-Filho, and Fernando de Queiroz Cunha.

Center for Research in Inflammatory Diseases, Departamento de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo – São Paulo – SP, Brasil.

Resumo

Objetivos: A sepse é definida como uma disfunção de órgãos causada por uma resposta desregulada do hospedeiro à uma infecção. Ao induzir modelo de sepse em camundongos isogênicos e que cresceram no mesmo ambiente, observamos diferentes respostas a sepse, na qual metade dos camundongos sobrevivem e a outra metade morre. Dessa forma, nosso estudo tem como objetivo identificar novos alvos terapêuticos analisando o perfil de resposta imunológica entre camundongos sépticos sobreviventes e não sobreviventes.

Métodos: Induzimos intensidade moderada e grave de sepse em camundongos através do modelo de Cecal Ligation and Puncture (CLP) e avaliamos vários aspectos relacionados ao modelo.

Resultados: Após 6 horas da indução de CLP, camundongos sobreviventes e não sobreviventes apresentaram os mesmos níveis séricos de citocinas e quimiocinas. No entanto, às 12h, 24h ou 48h, os animais que sobreviveram à sepse apresentaram níveis reduzidos dessas citocinas, enquanto em camundongos não sobreviventes esses níveis permaneceram mais elevados. Camundongos não sobreviventes também apresentaram aumento da concentração plasmática de biomarcadores de lesão de órgãos, bacteremia e também aumento das concentrações de quimiocinas e citocinas nos em órgãos e também no foco primário de infecção (cavidade peritoneal) em comparação com animais sobreviventes 24h após CLP. Ao avaliar a ativação de neutrófilos, células importantes no controle da infecção, observamos que tanto os animais sobreviventes quanto os não sobreviventes apresentaram expressão diminuída de CXCR2 e expressão aumentada de CD11b às 6h nos neutrófilos sanguíneos. No entanto, após 24h e 48h de CLP, uma vez que os neutrófilos dos camundongos sobreviventes restabeleceram os níveis de expressão de CXCR2 e CD11b semelhantes aos camundongos controle, os neutrófilos dos camundongos não sobreviventes permaneceram com CXCR2 internalizado e alta expressão de CD11b. Como uma possível consequência da internalização de CXCR2, observamos que os neutrófilos de camundongos não sobreviventes migram menos para o foco infeccioso inicial e começam a migrar mais para órgãos.

Conclusão: Animais não sobreviventes apresentaram níveis persistentemente mais elevados de citocinas inflamatórias no plasma e órgãos e ativação persistente de neutrófilos. Atualmente, estamos determinando expressão gênica diferencial de leucócitos de camundongos sépticos sobreviventes e não sobreviventes está usando single cell RNA sequencing.

Comitê de Ética em Pesquisa Animal – número: 151/2019
Apoio Financeiro: FAEPA, FAPESP, CNPq e CAPES.

Palavras-chave: sepse; novos alvos terapêuticos; desfecho sepse; alterações leucocitárias.