

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES TLR2, TLR4, TLR9 E DA MOLÉCULA  
ADAPTADORA MYD88 NA INFECÇÃO POR *Brucella ovis* EM  
CAMUNDONGOS C57/BL6 E A PROTEÍNA TcpB COMO FATOR DE  
VIRULÊNCIA PARA *Brucella ovis*

(Dissertação)

Ana Luiza Sarkis Vieira

Belo Horizonte  
2012

Ana Luiza Sarkis Vieira

PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES TLR2, TLR4, TLR9 E DA MOLÉCULA  
ADAPTADORA MYD88 NA INFECÇÃO POR *Brucella ovis* EM  
CAMUNDONGOS C57/BL6 E A PROTEÍNA *TcpB* COMO FATOR DE  
VIRULÊNCIA PARA *Brucella ovis*

Dissertação apresentada à Universidade Federal  
de Minas Gerais como requisito parcial para  
obtenção do título de mestre

Curso: Mestrado em Patologia

Orientadora: Profa. Tatiane Alves da Paixão

Co-orientador: Prof. Renato de Lima Santos

Belo Horizonte  
2012

*Dedico à minha família, pelo apoio durante todo o período de pós-graduação.*

*“O esforço dos filósofos tende a compreender o que os contemporâneos se contentam em viver”*

Friedrich Nietzsche

## Agradecimentos

Agradeço aos meus pais, Alexander e Yesmin, que não mediram esforços para que eu tivesse uma boa formação;

Ao Prof. Renato, pelos ensinamentos em patologia durante todo o período de pós-graduação e pela confiança;

À Profa Tatiane, pela confiança, orientação e ensinamentos;

Ao Prof. Ernane, sempre muito querido comigo e com todos os alunos da pós-graduação;

À Denise pelo apoio psicológico;

Às amigas Silvia, Ana Flávia, Juliana Saes, Eliana e Stella, que foram grandes companheiras durante todo este trajeto;

Aos meus gatos, Camille, Tarsila e Corujito, pela fofura;

Aos familiares por todo amor, paciência e compreensão nos momentos em que não pude estar presente;

Ao trekking, que me proporcionou conhecer belas paisagens em Minas Gerais;

Aos colegas Teane, Valéria, Luciana, Érica, Juliana Mol, Ana Patrícia, Auricélio e Andréia, pela ajuda fundamental para a realização deste trabalho;

À Adriana, Taciana e Marliete, pelo apoio técnico;

Aos animais utilizados neste trabalho, espero que seu sacrifício não tenha sido em vão;

Ao Prof. Sérgio Costa e Prof. Ricardo Gazzinelli por gentilmente concederem os animais utilizados neste trabalho;

Ao CNPq, por me conceder bolsa de estudos durante o mestrado.

---

## SUMÁRIO

---

<b>RESUMO</b>	8
<b>ABSTRACT</b>	9
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	10
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	12
2.1 Brucelose	12
2.2 <i>Brucella ovis</i>	14
2.3 Patogênese e fatores de virulência de <i>Brucella</i> spp	17
2.4 Mecanismos de evasão do sistema imunológico do gênero <i>Brucella</i>	22
<b>3. OBJETIVOS</b>	27
<b>4. CAPÍTULO I</b>	28
4.1 Introdução	28
4.2 Material e métodos	28
4.3 Resultados	33
4.4 Discussão	43
4.5 Conclusão	48
<b>5. CAPÍTULO II</b>	49
5.1 Introdução	49
5.2 Material e métodos	49
5.3 Resultados	53
5.4 Discussão	58
5.5 Conclusão	60
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	61
<b>ANEXOS</b>	75

---

---

## LISTA DE TABELAS

---

<b>Tabela 1.</b> Espécies de <i>Brucella</i> e seus hospedeiros preferenciais	13
<b>Tabela 2.</b> Função, localização e molécula adaptadora dos TLR.	23
<b>Tabela 3.</b> Primers utilizados para a RT-PCR.	32
<b>Tabela 4.</b> Peso relativo do baço (%) de camundongos infectados com <i>B. ovis</i> em diferentes tempos de infecção	34
<b>Tabela 5.</b> Escore de lesão em camundongos infectados com <i>Brucella ovis</i> em diferentes tempos de infecção	34
<b>Tabela 6.</b> Escore de inflamação em órgãos de camundongos infectados por <i>Brucella ovis</i> aos sete dpi	40
<b>Tabela 7.</b> Escore de lesão de camundongos infectados com <i>Brucella. ovis</i> aos 30dpi	40
<b>Tabela 8.</b> Primers utilizados neste estudo.	52
<b>Tabela 9.</b> Peso relativo do baço (%) de camundongos infectados com diferentes amostras de <i>Brucella ovis</i> em diferentes tempos de infecção	57
<b>Tabela 10.</b> Escore de lesão para o baço e fígado de animais infectados com diferentes amostras de <i>Brucella ovis</i> em diferentes tempos de infecção	57

---

---

## LISTA DE FIGURAS

---

<b>Figura 1.</b> Cinética de infecção de camundongos C57/BL6 machos (n=4) e fêmeas (n=5).	33
<b>Figura 2.</b> Susceptibilidade dos camundongos <i>Knockout</i> MyD88 (n=10) aos sete dpi.	35
<b>Figura 3.</b> Susceptibilidade dos camundongos <i>Knockout</i> para TLR2 (n=8), TLR4 (n=9) e TLR9 (n=6) à infecção por <i>Brucella ovis</i> aos sete dpi.	37
<b>Figura 4.</b> Susceptibilidade dos camundongos <i>Knockout</i> para TLR9 (n=5) aos 30dpi.	38
<b>Figura 5.</b> Esplenomegalia em camundongos <i>Knockout</i> para TLR2 (n=8), TLR4 (n=9), TLR9 (n=6) e MyD88 (n=10) infectados com <i>Brucella ovis</i> após sete dpi.	39
<b>Figura 6.</b> Histopatologia e imunomarcção de fígado de animais <i>knockout</i> MyD88 após sete dpi com <i>Brucella ovis</i> .	41
<b>Figura 7.</b> Histopatologia de camundongos <i>Knockout</i> para TLR9 infectados com <i>Brucella ovis</i> após sete dpi.	41
<b>Figura 8.</b> Transcrição de moléculas pró-inflamatórias e citocinas em baço de camundongos MyD88 <sup>-/-</sup> (A) e TLR9 <sup>-/-</sup> (B) aos sete dpi.	42
<b>Figura 9.</b> Cinética de infecção <i>in vitro</i> das amostras de <i>Brucella ovis</i> .	54
<b>Figura 10.</b> Cinética <i>in vivo</i> de infecção da amostra mutante de $\Delta tcpB$ de <i>Brucella ovis</i> .	55
<b>Figura 11.</b> Infecção de camundongos com a amostra $\Delta tcpB$ de <i>Brucella abortus</i> .	56
<b>Figura 12.</b> Índice competitivo (log UFC amostra virulenta/log UFC amostra mutante) de <i>B. ovis</i> e $\Delta tcpB$ de <i>Brucella ovis</i> .	57
<b>Figura 13.</b> Histopatologia de fígado de animais infectados com amostra WT e $\Delta tcpB$ de <i>Brucella ovis</i> .	58

---