

camundongos dessa estirpe não apresentaram disfunção pulmonar, provavelmente devido a menor produção de mediadores pró-fibróticos provenientes das respostas Th2/Th17. Quanto à participação da IL-4, evidenciamos ser fundamental na resposta inicial contra larvas de *A. suum*, contudo, após múltiplas exposições, a proteção observada se dá independente da resposta induzida por Th2. Além disso, foi evidenciado que camundongos reinfectados tanto dos grupos IL-4-/- como os selvagens apresentaram os mesmos níveis de peroxidase eosinófila no tecido pulmonar e, alto número de eosinófilos circulantes, o que indica que os eosinófilos são fundamentais após múltiplas exposições. Portanto, foi possível concluir que a deficiência em Th1 levou ao aumento do perfil Th17, com consequente redução da carga parasitária. A deficiência em Th17 gerou o aumento da resposta de perfil Th1, com o aumento da inflamação tecidual e consequente redução da carga parasitária. E, que a deficiência em Th2 contribuiu para o aumento da inflamação Th1/Th17, impactando na redução da carga parasitária. Ademais, foi possível constatar que, apesar das lesões agudas serem de extrema importância na fisiopatologia da ascariíase larval, as respostas pró-fibróticas acentuadas contribuem ainda mais para a disfunção pulmonar após múltiplas exposições.

Acetylsalicylic acid and combined therapy with dihydroartemisinin modulate lung injury on experimental malaria-associated ARDS

Autor(es): Helena D'Anunção de Oliveira¹, Camila Nunes Batista¹, Maiara Nascimento de Lima¹, Adriano Yagho da Silva¹, Patricia Rieken Macedo Rocco², Hugo Caire de Castro Faria-Neto¹, Tatiana Maron-Gutierrez¹

Instituição(es): ¹Fiocruz - Fundação Oswaldo Cruz, ²UFRJ

Background: Severe malaria might have respiratory symptoms, which can progress to malaria-associated acute respiratory distress syndrome (MA-ARDS). Although mortality rate varies from 50 to 80% of cases, there is no specific treatment for MA-ARDS. In this context, the effects of acetylsalicylic acid (ASA), a non-steroidal anti-inflammatory widely used by population, including in endemic areas, on MA-ARDS remain unclear. Since combined artemisinin therapies are recommended by the World Health Organization, and dihydroartemisinin (DHA) have antimalarial and immunomodulatory properties, we hypothesized that ASA and combined therapy with DHA might prolong survival rate and modulate the inflammatory process in experimental MA-ARDS. Aim: To evaluate the effects of acetylsalicylic acid (ASA) and combined therapy with dihydroartemisinin (DHA) on experimental MA-ARDS. Methods: C57BL/6 mice were randomly divided in control (C) and infected (Pb) groups, intraperitoneally (ip) inoculated with uninfected erythrocytes or 104 *Plasmodium berghei* NK65 infected erythrocytes, respectively, and treated on day 8 orally with ASA (100mg/kg) or saline, and vehicle (DMSO) or DHA (3mg/kg), ip. Results: This is the first study that describes the functional impairment induced by PbNK65 on experimental MA-ARDS. For that, lung mechanics and pulmonary edema analysis were performed between days 6 to 10 post infection. PbNK65 led to increased lung static elastance (Est,L) on the 9th and 10th dpi ($57 \pm 19 \text{ cmH}_2\text{O} \cdot \text{ml}^{-1}$; $71 \pm 4.8 \text{ cmH}_2\text{O} \cdot \text{ml}^{-1}$, respectively) increased resistive pressure ($\Delta P_{1,L}$) on the 10th dpi ($0.9 \pm 0.3 \text{ cmH}_2\text{O} \cdot \text{ml}$) and higher viscoelastic pressure ($\Delta P_{2,L}$) ($0.9 \pm 0.1 \text{ cmH}_2\text{O} \cdot \text{ml}$; $0.9 \pm 0.1 \text{ cmH}_2\text{O} \cdot \text{ml}$ and $1.1 \pm 0.3 \text{ cmH}_2\text{O} \cdot \text{ml}$, respectively) from the 8th to 10th dpi, compared to C (Est,L= $35 \pm 3 \text{ cmH}_2\text{O} \cdot \text{ml}^{-1}$; $\Delta P_{1,L}$ = $0.3 \pm 0.1 \text{ cmH}_2\text{O} \cdot \text{ml}$; $\Delta P_{2,L}$ = $0.6 \pm 0.1 \text{ cmH}_2\text{O} \cdot \text{ml}$). PbNK65 infected mice showed a significant increase in lung edema on day 8 [$5(5.1/4.7)$] and 9 [$4.8(5.1/4.7)$] compared to control [$4.4(4.6/4.2)$]. Diffuse alveolar damage (DAD) score analysis have confirmed that both PbNK65 and Pb+DHA groups presented extravasation of fluid to alveolar space, alveolar septae thickening, edema and areas of microatelectasis compared to C. Lung hemorrhage was also observed in PbNK65 animals but not in Pb+DHA. Pb+DMSO presented thrombocytopenia ($192 \pm 40 \cdot 10^3 / \text{mm}^3$) and leukocytosis ($118 \pm 37 \cdot 10^3 / \text{mm}^3$) on day 15. Seven days after DHA treatment, leukocytosis was reduced on Pb+DHA and Pb+DHA+ASA groups ($11.5 \pm 7.8 \cdot 10^3 / \text{mm}^3$ and $13 \pm 7.8 \cdot 10^3 / \text{mm}^3$, respectively), but platelet count was

maintained on Pb+DHA ($376 \pm 151 \cdot 10^3/\text{mm}^3$) and ASA+DHA ($312 \pm 139 \cdot 10^3/\text{mm}^3$). PbNK65 also led to increase on aspartate transaminase (AST) ($619 \pm 112 \text{U/l}$) and decrease on serum albumin ($2 \pm 0.1 \text{g/dL}$) and alkaline phosphatase (AP) ($62 \pm 10 \text{U/l}$) levels compared to C group (AST= $108 \pm 47 \text{U/l}$; AP= $127 \pm 21 \text{U/l}$; Albumin= $2.5 \pm 0.1 \text{g/dL}$, respectively). Peripheral parasitemia on day 8 was directly correlated to increase on protein levels on bronchoalveolar lavage fluid (BALF) ($r=0.72$; $p=0.0002$). Pb+DMSO ($5.8 \pm 4.2 \text{mg/ml}$), Pb+ASA ($4.4 \pm 3 \text{mg/ml}$) and Pb+DHA+ASA ($3.7 \pm 2.5 \text{mg/ml}$) but not Pb+DHA ($3.1 \pm 2.3 \text{mg/ml}$) showed higher protein levels on BAL compared to C ($0.2 \pm 0.09 \text{mg/ml}$). MCP-1 levels on BAL were higher in Pb+DMSO ($300 \pm 146 \text{pg/ml}$) and Pb+DHA ($221 \pm 189 \text{pg/ml}$) compared to C ($4.9 \pm 2.8 \text{pg/ml}$) and decreased after and Pb+ASA ($136 \pm 53 \text{pg/ml}$) or Pb+DHA+ASA ($144 \pm 109 \text{pg/ml}$) treatment. Moreover, mononuclear cell count on lung tissue were higher on Pb+DMSO (41%) compared to C (30.6%) and decreased after Pb+DHA (35.1%), Pb+ASA (33%) and Pb+DHA+ASA (34%) treatment. On lung mechanics analysis, Pb+DMSO ($72 \pm 10 \text{cmH}_2\text{O} \cdot \text{ml}^{-1}$) and Pb+ASA ($63 \pm 21 \text{cmH}_2\text{O} \cdot \text{ml}^{-1}$) groups showed higher Est,L and DP1 ($0.6 \pm 0.3 \text{cmH}_2\text{O}$; $0.5 \pm 0.3 \text{cmH}_2\text{O}$, respectively) than C (Est $42 \pm 6 \text{cmH}_2\text{O} \cdot \text{ml}^{-1}$; DP1 $0.4 \pm 0.1 \text{cmH}_2\text{O}$); DP2 was higher on Pb+DMSO ($1.1 \pm 0.3 \text{cmH}_2\text{O}$) compared to C ($0.7 \pm 0.1 \text{cmH}_2\text{O}$). Pb+DHA ($0.8 \pm 0.1 \text{cmH}_2\text{O}$) and Pb+ASA ($0.9 \pm 0.1 \text{cmH}_2\text{O}$) groups presented reduced DP2 compared to Pb+DMSO. However, Pb+ASA (25%) presented similar survival rate to Pb+DMSO (27%). 78% of Pb+DHA+ASA and all Pb+DHA group survived until day 15. Conclusions: PbNK65 infection led to impairment on lung mechanics, lung edema and influx of macrophage and plasma proteins to the alveolar space. ASA and combined therapy with DHA reduced leukocytosis, MCP-1 levels on BAL and lung viscoelastic pressure, although did not decrease mortality associated to MA-ARDS.

Análise da dinâmica hematopoética murina durante a infecção por *Schistosoma mansoni* com foco na hematopoese extramedular hepática

Autor(es): Juliane Siqueira Francisco¹, Gabriel Couto Thurler Klein², Marcia Andrea Barge Loução Terra¹, Marcelo Pelajo machado¹

Instituição(es): ¹Fiocruz - Fundação Oswaldo Cruz, ²IFRJ

Observa-se na esquistossomose a reação granulomatosa como a principal forma de expressão patológica no hospedeiro definitivo. O cenário é composto pela presença do ovo de *Schistosoma*, com resposta inflamatória mais proeminente observada no fígado, circundado por células inflamatórias dispostas em uma matriz extracelular organizada e compacta, formando três zonas distintas. Na zona periférica, principalmente entre fibras reticulares, é possível observar hematopoese extramedular, atuando de forma a compensar ou aumentar a resposta hematopoética da inflamação. Estudos anteriores, inclusive de nosso grupo, já demonstraram topologicamente a presença de hematopoese extramedular nos granulomas, bem como diferenças encontradas na resposta hematopoética medular frente à infecção esquistossomótica. No entanto, à luz das novas tecnologias disponíveis hoje, pretendemos detalhar e entender as mudanças do perfil hematopoético na infecção esquistossomótica, com especial atenção ao microambiente da hematopoese perigranulomatosa e perivascular hepática. Para isso, camundongos machos Swiss Webster foram infectados no quinto dia de vida por 70 cercárias via percutânea e eutanaziados no 35º, 40º, 45º, 50º e 60º dia pós infecção (dpi). Fragmentos de fígado foram coletados, fixados em formalina de Millonig de Carson e embebidos em parafina ou criopreservados para serem utilizados nas técnicas histológicas, como hematoxilina e eosina, sirius red pH10,2, picrossirius, alcian blue e Reticulina de Gomori, e de imunofluorescência, com o uso dos anticorpos anti Ki67, MMP9, fibronectina, actina, Sca-1, vWF e CD31. A partir de 40dpi foram observados alguns ovos espaçados e grandes vasos hepáticos circundados por células hematopoéticas, além de células inflamatórias chegando através dos sinusoides. Aos 50dpi, progenitores mielóides, eosinófilos maduros e imaturos e neutrófilos já foram identifica-