

RESUMO APRESENTAÇÃO ORAL PADRÃO - CENTRO DE CIÊNCIAS DA  
SAÚDE (CCS)/IMUNOLOGIA

**LIBERAÇÃO DE REDES EXTRACELULARES DE MASTÓCITOS  
INDUZIDAS POR LEISHMANIA**

*Sergio Antonio Souza Jr (sergioantoniosouza@gmail.com)*

*Caroline Moutinho (carolineamoutinho@gmail.com)*

*Elvira Maria Saraiva Chequer Bou Habib (esaraiva@micro.ufrj.br)*

Durante a infecção por *Leishmania amazonensis*, agente causador da leishmaniose cutânea, o inseto vetor inocula formas promastigotas em uma poça de sangue, onde o parasita entra em contato com diferentes células do sistema imune inato. Os mastócitos são granulócitos residentes em tecidos que modulam a resposta imune através da liberação de vários mediadores. Já foi demonstrado que os mastócitos, pelo mecanismo de etose, liberam redes extracelulares de DNA compostas por cromatina, histonas e proteínas granulares (MCETs), que são capazes de capturar bactérias e ainda possuem atividade bactericida (von Kockritz-Blickwede et al., 2008) Já foi mostrado que promastigotas são fagocitados por macrófagos onde se replicam, e mantém a infecção no hospedeiro vertebrado. Vários estudos implicam os mastócitos na primeira linha de defesa contra *Leishmania*, mas a indução e o papel das MCETs ainda precisam ser melhor elucidados. O objetivo do nosso trabalho é avaliar se promastigotas de *L. amazonensis* induzem a liberação de MCETs, e o papel dessas redes durante a infecção pelo parasito. Nesse estudo utilizamos a linhagem de mastócitos humanos, HMC-1, mantida em meio de cultura DMEM suplementado com 20% de soro fetal bovino, glutamina 2 mM, 40 µg/ml

de gentamicina a 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Para o ensaio de liberação de MCETs, HMC-1 foi incubada em meio RPMI sem soro com promastigotas e a liberação de MCETs foi quantificada nos sobrenadantes das culturas com Quant-it™PicoGreen®. Nossos resultados mostraram que os promastigotas induzem a liberação de MCETs em HMC-1 por dois mecanismos: etose clássica e rápida. Para avaliar o papel das MCETs na infecção por Leishmania, foi realizado um ensaio de sobrevivência onde o parasito foi incubado ou não com sobrenadante rico em MCETs, previamente preparado, em diferentes concentrações. Após 4 h a 35°C, foi adicionado iodeto de propídio (PI – 10 µg/ml) e as amostras analisadas no FACScalibur. Nossos resultados mostraram que nas concentrações testadas as MCETs não demonstraram atividade leishmanicida. Estudos mostram que as MCETs, são capazes de prender e matar bactérias e também prender fungos (Lopes et al., 2015). Por esses motivos investigamos o papel das MCETs em macrófagos infectados por *L. amazonensis*. Para esse estudo foi utilizada a linhagem de monócito humano, THP-1, cultivadas em meio RPMI suplementado com 10% de soro fetal bovino e 0,1% de penicilina e estreptomicina, diferenciada em macrófagos com PMA. Promastigotas (1:5) foram pré-incubados com diferentes concentrações de sobrenadante rico em MCETs (100, 200 e 300 ng/ml) por 20 minutos e em seguida incubados com macrófagos diferenciados de THP-1, por 4 horas a 35°C, 5% CO<sub>2</sub>. Nossos resultados mostraram MCETs são capazes de influenciar na infecção dos macrófagos.

## Referências Bibliográficas

Lopes JP, Stylianou M, Nilsson G, Urban CF. 2015. Opportunistic pathogens *Candida albicans* elicits a temporal response in primary human mast cells. *Scientific Reports – Nature*. 5:12287

von Köckritz-Blickwede, Maren Goldmann, Oliver Thulin, Pontus P, Heinemann K, Norrby-Teglund A, Rohde M, Medina E. 2008. Phagocytosis-independent antimicrobial activity of mast cells by means of extracellular trap formation. *Blood*. 111; 6. 3070-80.