

RESUMO - CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - IMUNOLOGIA

**OPSONIZAÇÃO DE LEVEDURAS DE CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS
COM ANTICORPO MONOCLONAL 18B7 AUMENTA A EFICIÊNCIA DA
FAGOCITOSE DE MACRÓFAGOS FELINOS FCWF-4**

Letícia Seabra Abrantes (Leticiasseabra7@gmail.com)

Beatriz Da Silva Dias Lima (beatrizdias@ufrj.br)

Renata Quintanilha Dos Santos (renataquintanilha@ufrj.br)

Milena Torres Chaves (milenatchaves@hotmail.com)

Letícia Paixão Gemieski (leticiagemiesk@gmail.com)

Afonso Santine Magalhães Mesquita Velez (afonsosv30@gmail.com)

Elias Barbosa Da Silva Junior (eliasbarbosa@biof.ufrj.br)

Lúcia Helena Pinto Da Silva (lpintoda@ufrj.br)

Celio Geraldo Freire De Lima (celio@biof.ufrj.br)

Debora Decote Ricardo De Lima (decoter Ricardo@ufrj.br)

Cryptococcus neoformans é um fungo oportunista, que atinge principalmente o sistema respiratório e o sistema nervoso central. Um dos seus principais fatores de virulência é a cápsula, composta principalmente pelos polissacarídeos glucuronoxilomanana (GXM) e galactoxilomanogalactana (GXMGal). Esses polissacarídeos, quando liberados possuem a capacidade de modular o sistema imunitário do hospedeiro, com os macrófagos sendo uma das principais células-alvo dessa modulação. Os macrófagos fazem parte da

primeira linha de defesa, desempenhando um papel crucial na imunidade inata e sendo fundamentais para a imunidade adaptativa. Apesar de terem a capacidade de matar o patógeno, o fungo consegue modular essas células, fazendo com que elas atuem como “cavalo de Tróia”, levando leveduras fagocitadas a locais estratégicos ou tendo sua ativação prejudicada. A carência de informação sobre a criptococose felina nos levou a avaliar a capacidade dos macrófagos Fcwf-4 em fagocitar leveduras de *C. neoformans* e se o anticorpo monoclonal murino 18B7, que opsoniza o polissacarídeo GXM, seria capaz de modular a ação fagocítica desses macrófagos na presença de leveduras de *C. neoformans* opsonizadas. Nesse trabalho, foi estabelecido o cultivo da linhagem de macrófagos felinos Fcwf-4 em meio DMEM (1 mL/L de gentamicina, 3,7 g/L de bicarbonato de sódio, 2,383 g/L de HEPES, pH 7.0 - Gibco) suplementado com L-glutamina, aminoácidos não-essenciais, piruvato de sódio (10 mL/L), β -mercaptoetanol e soro fetal bovino (10%) mantidas na estufa a 37 °C e 5% de CO₂. Realizamos também o ensaio de fagocitose, onde os macrófagos Fcwf-4 foram plaqueados sobre lamínulas de vidro (2x10⁵ células/poço). Leveduras de *C. neoformans* foram incubadas com 10 µg/mL do anticorpo monoclonal 18B7 (Mouse IgG). Após 10 minutos, as leveduras opsonizadas foram adicionadas às culturas de Fcwf-4 e incubadas a 37°C e 5% CO₂, durante um período de 4 h e 24 h. Após a incubação, as lamínulas foram retiradas e coradas, pelo método Panótico e através da contagem de 100 macrófagos, avaliamos o número de leveduras que foram fagocitadas pelos macrófagos. Nossos resultados mostraram que os macrófagos felinos Fcwf-4 em cultura apresentam a proliferação máxima entre 3 e 4 dias de cultivo, sendo esse o melhor momento para o repique das culturas. Após 5 dias de cultivo observamos um declínio numérico das culturas e após 6 dias o surgimento de células mortas. No ensaio de fagocitose, observamos que os macrófagos felinos Fcwf-4 são capazes de fagocitar leveduras de *C. neoformans* e que a fagocitose de leveduras opsonizadas é significativamente aumentada. Indicando que o anticorpo 18B7 ligado especificamente a GXM da cápsula da levedura de *C. neoformans* teve sua porção Fc ligada ao receptor de Fc presente na superfície dos macrófagos felinos promovendo uma fagocitose facilitada. Com base em nossos resultados, concluímos que os macrófagos felinos Fcwf-4 são capazes de fagocitar leveduras de *C. neoformans* e que após a opsonização com o anticorpo monoclonal 18B7 a fagocitose é aumentada. Esse é um dado inédito mostrando a capacidade opsonizante de um anticorpo monoclonal murino sendo capaz promover a interação com o

receptor Fc de células felinas, abrindo possibilidades para o estudo dos mecanismos de fagocitose e interação do fungo com macrófagos felinos.

Palavras-chave: *Cryptococcus neoformans*; macrófagos felinos fcwf-4; fagocitose; opsonização.