

**XU** Congresso  
Fluminense  
de Iniciação  
Científica e Tecnológica

**28<sup>o</sup>**  
Encontro de  
Iniciação  
Científica  
da UENF

**20<sup>o</sup>**  
Circuito de  
Iniciação  
Científica do  
IFFluminense

**16<sup>o</sup>**  
Jornada de  
Iniciação  
Científica  
da UFF



**U III** Congresso  
Fluminense de  
Pós-Graduação

**23<sup>a</sup>**  
Mostra de  
Pós-Graduação  
da UENF

**8<sup>a</sup>**  
Mostra de  
Pós-Graduação  
do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**  
Mostra de  
Pós-Graduação  
da UFF

## Regulação da atividade inflamatória de macrófagos por fosfatidilserina exposta em amastigotas de *Leishmania amazonensis*: iNOS, ROS e inflamassomo NLRP3.

Eliane Irani Barbosa Pegado · Renato Augusto DaMatta, João Luiz Mendes Wanderley

As leishmanioses são um conjunto de doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. A transmissão ocorre por meio da picada das fêmeas de flebotomíneos que, durante o repasto sanguíneo, infectam o hospedeiro mamífero com o parasito. As formas amastigotas do parasito têm preferência por macrófagos, onde se estabelecem como amastigotas e se multiplicam dentro de vacúolos parasitóforos. A resposta microbicida dos macrófagos envolve a produção de citocinas inflamatórias que induzem a expressão de óxido nítrico (NO) sintase induzida (iNOS) levando à produção de NO e da NADPH oxidase (NOX2) gerando espécies reativas de oxigênio (ROS). Além disso, os receptores citosólicos TLRs e NLRs (sendo o NLRP3 o principal) fazem parte do inflamassoma que ativa a caspase 1, clivando a pro-IL-1 $\beta$  em IL-1 $\beta$  para controlar os parasitos. O reconhecimento da fosfatidilserina (PS) exposta por amastigotas de *Leishmania* pode regular a atividade microbicida dos macrófagos, permitindo a sobrevivência e a multiplicação intracelular do parasito. Objetiva-se determinar se o bloqueio de PS de amastigotas de *L. amazonensis* interfere na expressão da iNOS, produção de ROS, e ativação do inflamassomo NLRP3 em macrófagos ativado e infectado. Macrófagos serão diferenciados da medula óssea (BMMo) de camundongos BALB/c. Para bloqueio da PS, será utilizado anexina V e anticorpo monoclonal em formas amastigotas de *L. amazonensis*, cepa LV78 (MPRP/BR/72/M1845). A produção de NO e ROS em BMMo ativado e infectado será avaliada por citometria de fluxo utilizando sondas fluorescentes. A atividade de NOX2 será avaliada por ensaio colorimétrico por espectrofotometria. A atividade do inflamassoma será analisada através de ensaio fluorimétrico de ativação de caspase 1 e quantificação por citometria de fluxo e a produção de IL-1 $\beta$  por ELISA. Até o momento, foram realizados experimentos para avaliar a produção de NO em macrófagos ativado e infectado por amastigotas por um período de 24h. Observou-se uma tendência de menor produção de NO em macrófagos ativado infectado com amastigotas comparado com a produção de NO de macrófagos não infectado. A possível menor produção de NO após a infecção de macrófagos sugere que o parasito modula a resposta dessas células como mecanismo evasivo. O resultado contribui para o entendimento dos mecanismos envolvidos na interação parasito-hospedeiro. Contudo, são necessários estudos adicionais para confirmar o resultado obtido e investigar outros mecanismos envolvidos na interação entre o parasito e macrófagos ativado.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: UENF  
Eixo temático: PPG Biociências e Biotecnologia  
Fomento da bolsa: CAPES

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



**XU** Congresso  
Fluminense  
de Iniciação  
Científica e Tecnológica

**28<sup>o</sup>**  
Encontro de  
Iniciação  
Científica  
da UENF

**20<sup>o</sup>**  
Circuito de  
Iniciação  
Científica do  
IFFluminense

**16<sup>a</sup>**  
Jornada de  
Iniciação  
Científica  
da UFF



**U III** Congresso  
Fluminense de  
Pós-Graduação

**23<sup>a</sup>**  
Mostra de  
Pós-Graduação  
da UENF

**8<sup>a</sup>**  
Mostra de  
Pós-Graduação  
do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**  
Mostra de  
Pós-Graduação  
da UFF

## Regulation of macrophage inflammatory activity by phosphatidylserine exposed by *Leishmania amazonensis* amastigotes: iNOS, ROS and NLRP3 inflammasome.

Eliane Irani Barbosa Pegado · Renato Augusto DaMatta, João Luiz Mendes Wanderley

Leishmaniasis are a group of diseases caused by the protozoa of the genus *Leishmania*. Transmission occurs through the bite of female sand flies that infect the mammalian host with the parasite during blood meals. The amastigote form of the parasite has a preference for macrophages, where it establishes itself as amastigotes and multiplies within parasitophorous vacuoles. The microbicidal response of macrophages involves the production of inflammatory cytokines that induce the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS), leading to the production of NO and NADPH oxidase (NOX2), generating reactive oxygen species (ROS). In addition, cytosolic TLRs and NLRs receptors (with NLRP3 being the main one) are part of the inflammasome that activates caspase 1, cleaving pro-IL-1 $\beta$  into IL-1 $\beta$  to control the parasites. Recognition of phosphatidylserine (PS) exposed by *Leishmania* amastigotes may regulate the microbicidal activity of macrophages, allowing the survival and intracellular multiplication of the parasite. The objective is to determine whether blocking PS from *L. amazonensis* amastigotes interferes with iNOS expression, ROS production, and NLRP3 inflammasome activation in activated and infected macrophages. Macrophages will be differentiated from the bone marrow (BMMo) of BALB/c mice. Annexin V and monoclonal antibodies will be used to block PS in *L. amazonensis* amastigotes, LV78 strain (MPRP/BR/72/M1845). NO and ROS production in activated and infected BMMo will be evaluated by flow cytometry using fluorescent probes. NOX2 activity will be assessed by colorimetric assay by spectrophotometry. Inflammasome activity will be analyzed by fluorometric assay of caspase 1 activation and quantified by flow cytometry, and IL-1 $\beta$  production will be measured by ELISA. So far, experiments have been performed to evaluate NO production in activated macrophages infected with amastigotes for a period of 24h. A trend of lower NO production was observed in activated macrophages infected with amastigotes compared to NO production in uninfected macrophages. The possible lower NO production after macrophage infection suggests that the parasite modulates the response of these cells as an evasive mechanism. The result contributes to the understanding of the mechanisms involved in the parasite-host interaction. However, additional studies are needed to confirm the result obtained and investigate other mechanisms involved in the interaction between the parasite and activated macrophages.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

