

XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28^o
Encontro de Iniciação Científica da UENF

20^o
Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

16^a
Jornada de Iniciação Científica da UFF



U III Congresso Fluminense de Pós-Graduação

23^a
Mostra de Pós-Graduação da UENF

8^a
Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

8^a
Mostra de Pós-Graduação da UFF

ENSAIO DE INVASÃO DE ERITRÓCITOS MURINOS POR MEROZOITOS DE *PLASMODIUM CHABAUDI* E IMPORTÂNCIA DA FOSFALTIDISERINA

Milena de Farias Azeredo, Pedro Souto Rodrigues, Renato Augusto DaMatta

A malária causa a morte de mais de 400 mil pessoas por ano, sendo endêmica na maioria dos países tropicais e subtropicais. Todavia, existem enormes dificuldades em se estudar a malária humana e devido a isso, diversos modelos experimentais são utilizados, sendo um deles, a infecção de camundongos por *Plasmodium chabaudi*. A invasão eritrocitária pelo parasito envolve vários ligantes/receptores, mas esse conhecimento é ainda incipiente, apesar de essencial no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. A exposição de um fosfolípídeo de membrana (fosfatidilserina - PS) por protozoários consiste em um mecanismo de evasão denominado "mimetismo apoptótico". Estima-se que sua exposição pode estar envolvida na ligação inicial entre merozoítos, forma infectiva do *Plasmodium spp.* e eritrócitos. Deste modo, ensaios de invasão eritrocitária foram realizados para melhor compreensão dessa interação. Eritrócitos foram retirados do sangue da cauda de camundongos Balb/c sadios, e ressuspendidos em Dulbeccos Modified Eagle Medium (DMEM). *P. chabaudi* foram mantidos em camundongos da mesma linhagem, em um regime de 12h de luz e 12 h de escuridão, e merozoítos obtidos removendo sangue por punção cardíaca três horas antes da exposição à luz. Sangue foi centrifugado, ressuspendido em Dulbeccos Modified Eagle Medium, incubado por 30 min a 37° C e filtrados (1,2 µm). A interação foi realizada a 37° C em microtubos, em volume de 500 µl, nos intervalos de 10, 30, e 60 min. Após a interação, lâminas foram preparadas pelo método de citospin, coras com panótipo rápido e a infecção analisada em microscopia de campo claro. Eritrócitos foram infectados por merozoítos. A contagem da infecção revelou 1% dos eritrócitos infectados com um merozoíto em cada eritrócito. A infecção também foi analisada pela citometria de fluxo corando os merozoítos intracelulares com brometo de etídio e usando citocalasina D, heparina e formaldeído para evitar a infecção. A citometria de fluxo revelou que os merozoítos são capazes de infectar 2 % dos eritrócitos e citocalasina D, heparina, e merozoítos fixados com formaldeído não infectaram os eritrócitos. O ensaio de citometria está sendo utilizado para estabelecer melhores parâmetros de infecção, para bloquear a PS dos merozoítos utilizando anticorpo anti-PS durante a interação, a fim de verificar seu papel neste processo. Com esses resultados e futuros experimentos, espera-se contribuir com a biologia de invasão de merozoítos em eritrócitos e obtenção de novos métodos terapêuticos contra a doença.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Eixo temático: UENF – PPG Biociências e Biotecnologia

Fomento da bolsa (quando aplicável): CNPq

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de Iniciação Científica da UENF

20^o

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

16^a

Jornada de Iniciação Científica da UFF



U III Congresso Fluminense de Pós-Graduação

23^a

Mostra de Pós-Graduação da UENF

8^a

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

8^a

Mostra de Pós-Graduação da UFF

MURINE ERYTHROCYTE INVASION TEST BY *PLASMODIUM CHABAUDI* MEROZOITES AND THE IMPORTANCE OF PHOSPHALTIDISERINE

Milena de Farias Azeredo, Pedro Souto Rodrigues, Renato Augusto DaMatta

Malaria causes the death of more than 400,000 people a year, being endemic in most tropical and subtropical countries. However, there are enormous difficulties in studying human malaria and due to this, several experimental models is used, one of them being the infection of mice with *Plasmodium chabaudi*. The erythrocyte invasion by the parasite involves several ligands/receptors, but this knowledge is still incipient, although the development of new therapeutic drugs is not essential. The exposure of a membrane phospholipid (phosphatidylserine - PS) by protozoa consists of an evasion mechanism called "apoptotic mimicry". It is estimated that their exposure may be involved in the initial binding between merozoites, the infective form of *Plasmodium* spp. and erythrocytes. Thus, erythrocyte invasion assays were performed to better understand this interaction. Erythrocytes were taken from the tail blood of healthy Balb/c mice and resuspended in Dulbeccos Modified Eagle Medium (DMEM). *P. chabaudi* were ordered in mice of the same strain, in a regime of 12h of light and 12h of darkness, and merozoites obtained by removing blood by cardiac puncture three hours before exposure to light. Blood was centrifuged, resuspended in DMEM, incubated for 30 min at 37°C and filtered (1.2 µm). The interaction was performed at 37° C in microtubes, in a volume of 500 µl, at intervals of 10, 30, and 60 min. After the interaction, slides were prepared by the cytopspin method, fast panotype stains and the infection in bright field microscopy. Erythrocytes were infected by merozoites. The infection count revealed 1% of erythrocytes infected with one merozoite in each erythrocyte. Infection was also protected by flow cytometry staining intracellular merozoites with ethidium bromide and using cytochalasin D, heparin and formaldehyde to prevent an infection. Flow cytometry revealed that merozoites are capable of infecting 2% of erythrocytes and cytochalasin D, heparin and formaldehyde-fixed merozoites did not infect erythrocytes. The cytometry assay is being used to establish the best parameters of infection, to block the PS of the merozoites using anti-PS antibody during the interaction, in order to verify its role in this process. With these results and future experiments, we hope to contribute to the biology of merozoite invasion in erythrocytes and to obtain new therapeutic methods against the disease.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Eixo temático: UENF – PPG Biociências e Biotecnologia

Fomento da bolsa (quando aplicável): CNPq

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

