

**A Ciência e os caminhos do desenvolvimento**

**Avaliação dos efeitos imunomodulatórios das células-tronco mesenquimais pulmonares intrínsecas em modelos de co-cultivo com células imunes ativadas por produtos micobacterianos**

*Nina Aguiar Mothé, Fabrício Moreira Almeida, Gislane Almeida Santos, Elena Lassounskaia*

Foi demonstrado que durante a fase aguda de infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), agente causador da tuberculose, ocorre um recrutamento de células-tronco mesenquimais intrínsecas (CTMI) que se acumulam no local da lesão granulomatosa no pulmão. Entretanto, o papel das CTMI na modulação da resposta inflamatória causada por Mtb ainda não foi bem estabelecido. Desta forma, o objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos imunomoduladores das CTMI pulmonares utilizando modelos de co-cultivo com células do sistema imune ativadas por produtos micobacterianos. Para o isolamento das CTMI, os pulmões obtidos de camundongos C57BL/6 foram fragmentados e mantidos em cultura para que as células migrassem dos fragmentos de tecido para a placa de cultura, formando monocamada celular. Após a quinta passagem, as células foram caracterizadas por citometria de fluxo. As células isoladas expressam positivamente os marcadores mesenquimais CD105, CD106, CD29 e baixa expressão do marcador hematopoiético CD45, demonstrando a eficácia da metodologia utilizada para o isolamento de células-tronco pulmonares. Para padronização dos testes de ativação dos macrófagos, células RAW 264.7 foram plaqueadas  $2 \times 10^5$  células/poço e estimuladas com diferentes concentrações de lisado de BCG e LPS. Após 24h e 48h de estímulo, os níveis de óxido nítrico no sobrenadante das culturas foram quantificados através de reação de Griess. A concentração mínima de BCG para induzir a produção de NO foi  $1,0 \mu\text{g/mL}$ , sendo esta concentração foi escolhida para experimentos de co-cultivo com CTMI que será o próximo passo deste trabalho. Serão avaliados os efeitos das CTMI na produção de NO e citocinas pro-inflamatórias por macrófagos. Também serão realizados testes de co-cultivo das CTMI com os linfócitos de baço dos camundongos infectados por BCG e estimulados com lisado de BCG *ex vivo*, analisando a resposta dos linfócitos (proliferação e produção de IFN- $\gamma$ ). Assim, pretendemos entender os efeitos das CTMI pulmonares intrínsecas na modulação da atividade de células imunes que participam da resposta inflamatória a micobactéria.

Palavras-chave: CTMs, Imunomodulação, Tuberculose.

Instituição de fomento: UENF, FAPERJ.