

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



UIII 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

ARGINASE 1 EM MACRÓFAGOS ATIVADOS M2 CULTIVADOS EM SUBSTRATO RÍGIDO E BIOFILME DE COLÁGENO I INFECTADOS COM *Toxoplasma gondii*

Giullia Madeira Rios, Tâmara Carolina Gomes Ribeiro, Renato Augusto Damatta

A cultura de células é convencionalmente feita em substrato rígido, porém se trata de uma estrutura hidrofóbica e artificial. A utilização de modelos intermediários *in vivo* é crucial para reproduzir um ambiente mais realístico, um exemplo é a cultura em biofilme de colágeno I (COL I). O COL é uma proteína integrante da matriz extracelular que confere suporte, crescimento e modula a ativação celular. Macrófagos são células que sofrem ativação e são classificadas em M1 (mais pró-inflamatórias) envolvidas na defesa imune, e M2 (mais anti-inflamatórias) mantendo a homeostase tecidual. Macrófagos M2 catalisam L-arginina via enzima arginase 1 (ARG1) gerando ureia e citrulina que é utilizada para produção de poliaminas e COL I. *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) é um protozoário intracelular obrigatório causador da toxoplasmose; uma de suas formas infectivas é o taquizoíto. Taquizoítos infectam macrófagos e induzem a expressão de ARG1 permitindo a proliferação e sobrevivência do parasito. É crucial o estudo da interação de macrófagos M2 com *T. gondii* para entender melhor o mecanismo de evasão de *T. gondii* e desenvolver terapias. Objetivamos comparar a ativação M2 de macrófagos não infectados e infectados com *T. gondii* cultivados em biofilme de COL I e substrato rígido. Essa ativação será analisada pela localização de ARG1 e produção de ureia. O COL I será extraído da cauda de ratos Wistar. Macrófagos RAW 264.7 serão ativados por 24 h com interleucina-4 e 8-Bromoadenosina 3,5 AMPc e infectados na proporção de 1:1 macrófagos:taquizoítos. Taquizoítos cepa RH serão obtidos por lavado peritoneal de camundongos swiss. A atividade de ARG 1 será aferida pela produção de ureia no sobrenadante de cultura. Será feita marcação por imunofluorescência com anticorpos primários anti-ARG1 (coelho) e anti-*T. gondii* (camundongo) revelados por anti-coelho-Alexa 488 e anti-camundongo-Alexa 568. A microscopia eletrônica de transmissão será feita caracterizando a ultraestrutura de macrófagos infectados nas diferentes situações. É esperado que o cultivo de células em biofilme de COL I aumente a atividade de ARG 1 comparado com substrato rígido. Além de localizar a ARG 1 e descrever as diferenças ultraestruturais da interação macrófago/taquizoítos com o substrato de cultura. O aumento da atividade de ARG 1 em COL I demonstrará uma modulação do ambiente possivelmente alterando a sobrevivência do parasito, sendo um fator chave na pesquisa.

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

Eixo temático: Ciências Biológicas Biotecnologias

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

ARGINASE 1 IN M2 ACTIVATED MACROPHAGES CULTURED ON RIGID SUBSTRATE AND COLLAGEN I BIOFILM INFECTED WITH *Toxoplasma gondii*

Giullia Madeira Rios, Tâmara Carolina Gomes Ribeiro, Renato Augusto Damatta

Cell culture is conventionally performed on rigid substrates which are hydrophobic and artificial structures. The use of intermediate in vivo models is crucial for reproducing a more realistic environment such as the culture in collagen I (COL I) biofilm. COL I is an extracellular matrix protein that provides support, growth, and modulates cellular activation. Macrophages are cells that activation is classified as M1 (more pro-inflammatory) involved in immune defense, and M2 (more anti-inflammatory) maintaining tissue homeostasis. M2 macrophages catalyze L-arginine via the enzyme arginase 1 (ARG1), generating urea and citrulline that is used for the production of polyamines and COL I. *Toxoplasma gondii* (*T.gondii*) is an obligatory intracellular protozoan that causes toxoplasmosis. Tachyzoites are infective forms which infects macrophages and induces the expression of ARG1, allowing the parasite to proliferate and survive. It is crucial to study the interaction of M2 macrophages with *T. gondii* to better understand the mechanism of *T. gondii* evasion and to develop therapies. We aim to compare M2 activation of non-infected and *T. gondii* infected macrophages cultured on COL I biofilm and rigid substrate. This activation will be analyzed by the location of ARG1 and urea production. COL I will be extracted from the tails of Wistar rats. RAW 264.7 macrophages will be activated for 24 hours with interleukin-4 and 8-Bromoadenosine 3-5 AMPc and infected at a ratio of 1:1 macrophages:tachyzoites. Tachyzoites RH strain will be obtained by peritoneal lavage of Swiss mice. ARG1 activity will be measured by urea production in the culture supernatant. Immunofluorescence labeling will be performed with primary anti-ARG1 (rabbit) and anti-*T. gondii* (mouse) antibodies, revealed by anti-rabbit-Alexa 488 and anti-mouse-Alexa 568. Transmission electron microscopy will be performed to characterize the ultrastructure of infected macrophages in different situations. It is expected that cell culture in COL I biofilm will increase ARG1 activity compared to rigid substrate. Furthermore we want to locating ARG1 and describing the ultrastructural differences in the macrophage/tachyzoite interaction with the culture substrate. The increase in ARG1 activity in COL I will demonstrate modulation of the environment, possibly altering the parasite's survival being crucial in research.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

