



Óxido nítrico sintase induzida é degradada via proteassomo após infecção de macrófagos ativados pelo toxoplasma gondii

Gabriel Rabello de Abreu Cabral, Juliana da Cruz Padrão, Renato Augusto DaMatta.

RESUMO

Macrófagos são células do sistema mononuclear fagocítico e assumem papel essencial na fagocitose de diversos parasitas. Quando ativados com interferona-gama ($\text{IFN-}\gamma$) e lipopolissacarídeos (LPS) produzem óxido nítrico (NO), reação catalisada pela enzima Óxido Nítrico Sintase induzida (iNOS). Porém, *Toxoplasma gondii* inibe a produção de NO em macrófagos ativados, pois a iNOS é degradada. Este trabalho tem como objetivo confirmar a participação do proteassomo como via de degradação da iNOS e averiguar se o lisossomo e a calpaína participam na degradação desta enzima após infecção com *T. gondii*. Para tal, a linhagem de macrófago murino J774-A1 foi cultivada em garrafas de 25 cm² com meio Dulbecco's Modified Eagle Medium suplementado com 5% de soro. *Toxoplasma gondii*, cepa RH, foi mantido por passagens de 2-3 dias na cavidade peritoneal de camundongos suíços e em cultura de células Vero. As células foram ativadas por 24h com LPS (0,1µg/ml) e $\text{INF-}\gamma$ (100u/ml), tratadas por 1h com inibidor de lisossomo, concanamicina A; inibidor de proteassomo, clasto lactocistina β lactona ou inibidor de calpaína, calpeptina; e infectadas na proporção de 10 parasitas para cada macrófago. Macrófagos ativados, tratados com concanamicina A e infectados com *T. gondii* não apresentaram iNOS em seu citoplasma. Após tratamento dos macrófagos ativados com inibidor de calpaína e infecção com *T. gondii*, iNOS também desapareceu do citoplasma. Porém, macrófagos ativados, tratados com inibidor de proteassomo e infectados com *T. gondii* expressaram iNOS no citoplasma. Macrófagos ativados, tratados com concanamicina A ou com calpeptina e infectados com *T. gondii* produziram quantidades de NO similares aos macrófagos ativados e infectados com *T. gondii*. Todavia, macrófagos ativados infectados com *T. gondii* e tratados com inibidor de proteassomo produziram mais NO do que os macrófagos ativados e infectados com *T. gondii*. Conclui-se que o proteassomo é a principal via de degradação da iNOS em macrófagos ativados e infectados pelo *T. gondii*.

PALAVRAS CHAVE: *Toxoplasma gondii*, Óxido Nítrico Sintase induzida, Proteassomo.

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

17º Encontro de IC da UENF
9º Circuito de IC da IFF
5ª Jornada de IC da UFF



Parasitologia