

Participação da GP43 de *Paracoccidioides brasiliensis* na indução de redes extracelulares (ETs) de neutrófilos e monócitos humanos

Ana Laura Ortega Dezen, Larissa de Carvalho, Kaio Shu Tsy Yu, Yohan Ricci Zonta, Luciane Alarcão Dias-Melicio. Botucatu, Faculdade de Medicina e Instituto de Biociências, Ciências Biomédicas, analaura2194@hotmail.com, Bolsista FAPESP (2019/03181-2).

Palavras Chave: *Extracellular Traps (ETs)*, *P. brasiliensis*, *gp43*.

Introdução

O *Paracoccidioides brasiliensis* é um dos agentes causadores da paracoccidioidomicose (PCM), uma micose sistêmica granulomatosa, causada pela inalação de conídios ou propágulos micelianos (forma infectante) ou inoculada através de traumas na pele do hospedeiro. Dentro do organismo do hospedeiro, o fungo transforma-se em levedura (forma patogênica), induzindo uma resposta imunológica inicial, com a ação predominante de neutrófilos (PMN), que são capazes de produzir as redes extracelulares (NETs) como mecanismo inato, a partir da liberação de seu conteúdo nuclear complexado a enzimas e histonas, visando o aprisionamento e eliminação de microrganismos¹. Sabe-se que o fungo possui uma proteína imunodominante, a glicoproteína de 43kD (GP43), que participa da adesão deste na superfície celular, sendo um importante fator de virulência fúngico². No entanto, a ação da GP43 sobre a indução de NETs e MoETs liberadas por neutrófilos e monócitos humanos, respectivamente, ainda não havia sido identificado.

Objetivo

Avaliar a liberação e quantificação de NETs e MoETs de neutrófilos e monócitos humanos, respectivamente, após a interação com a glicoproteína GP43 de *Paracoccidioides brasiliensis*.

Material e Métodos

Foram obtidos 60mL de sangue das veias braquiais de 10 indivíduos saudáveis para o isolamento e cultura de neutrófilos e monócitos humanos, posteriormente tratados com diferentes concentrações de GP43 *in vitro*. As células foram marcadas com DAPI, e com anticorpos primários anti-elastase e anti-histona, e secundários conjugados com diferentes fluorocromos, para visualização dos componentes das NETs e MoETs por Microscopia Confocal^{1,3}.

Resultados e Discussão

Os resultados demonstram que a GP43 foi capaz de induzir a liberação de redes extracelulares tanto por neutrófilos (NETs), quanto por monócitos (MoETs)

(figuras 1 e 2). Pelas imagens, é possível observar uma maior liberação de NETs em resposta à GP43, do que MoETs. Ensaios para quantificação das redes estão sendo conduzidos.

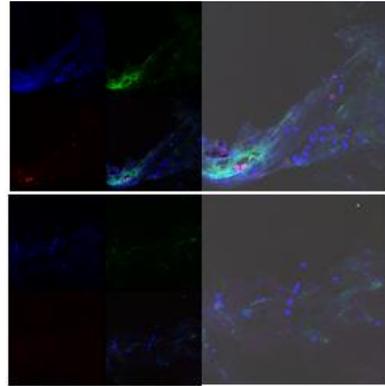


Figura 1. NETs induzidas por gp43 na concentração de 10ug/mL (sequência superior) e na concentração de 100ug/mL (sequência inferior).

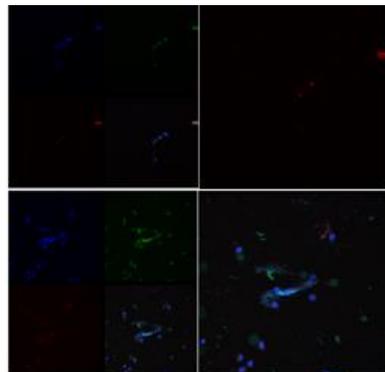


Figura 2. MoETs induzidas por gp43 na concentração de 10ug/mL (sequência superior) e na concentração de 100ug/mL (sequência inferior).

Conclusões

Concluimos que a GP43 do fungo *Paracoccidioides brasiliensis* é capaz de induzir a liberação NETs e MoETs *in vitro*, um importante mecanismo inato de defesa contra o fungo.

Agradecimentos

À minha orientadora, ao LIAI – Laboratório de Imunopatologia de Agentes Infecciosos e aos alunos e funcionários da UNIPLEX, assim como FAPESP.

¹Della Coletta, A. M., et al. Neutrophil extracellular traps identification in tegumentar lesions of patients with paracoccidioidomycosis and different patterns of NETs generation *in vitro*. PLoS Negl Trop Dis. 2015;9(9):e0004037.

² Saraiva, E. C., et al. Paracoccidioides brasiliensis-gp43 used as paracoccidioidin. J Med Vet Mycol. 1996; 34(3):155-61.

³Granger, V. et al. Human blood monocytes are able to form extracellular traps. Journal of Leukocyte Biology, v. 102, ed. 3, p. 775-781. 09 Sep 2017.