

# 6.<sup>as</sup> JORNADAS CIENTÍFICAS do IHMT

Instituto de Higiene e Medicina Tropical  
11 dezembro 2015



**Título: Os neutrófilos caninos asseguram a transferência de *Leishmania infantum* para os macrófagos**

**Autores: M. Pereira<sup>1</sup>; G. Alexandre-Pires<sup>2</sup>; C. Margarida<sup>3</sup>; A. Rodrigues<sup>1</sup>; A. Valério-Bolas<sup>1</sup>; C. Martins<sup>4</sup>; A. Tomas<sup>5</sup>, M. Santos<sup>2</sup>; I. Pereira da Fonseca<sup>2</sup> & G. Santos-Gomes<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Global Health and Tropical Medicine, GHTM, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, IHMT, Universidade Nova de Lisboa, UNL, Lisboa, Portugal; <sup>2</sup>CIISA-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal; <sup>3</sup>Câmara Municipal de Évora, Serviço Veterinário Municipal, Portugal; <sup>4</sup>CEDOC, Chronic Diseases Research Center, Immunology, NOVA Medical School, Universidade Nova de Lisboa, Portugal; <sup>5</sup>Instituto de Biologia Molecular e Celular, Universidade do Porto, Porto, Portugal

**Introdução:** A leishmaniose canina é uma doença zoonótica causada pelo parasita *Leishmania infantum* e transmitida no Velho Mundo por insetos do género *Phlebotomus*. As células polimorfonucleares (PMN) desempenham um papel importante na fase inicial da infeção, atingindo rapidamente o local de inoculação e fagocitando o parasita. Os macrófagos (MØ) são considerados as células hospedeiras definitivas deste parasita intracelular obrigatório, suportando a sua multiplicação e disseminação. A interação entre estas células fagocitárias parece ser determinante no estabelecimento da infeção.

**Objetivos:** Este estudo pretende clarificar a interação entre PMN e MØ caninos na fase inicial da infeção por *L. infantum* e determinar a sua contribuição no controlo da infeção ou, pelo contrário, no estabelecimento da doença clínica.

**Métodos:** PMN e MØ diferenciados a partir de monócitos sanguíneos, isolados de cães saudáveis, foram incubados com *L. infantum* expressando a proteína verde fluorescente (GFP) e o nível de internalização/associação ao parasita foi analisado por citometria de fluxo. A viabilidade e a capacidade de multiplicação dos parasitas fagocitados pelos PMN foram avaliadas, após remoção dos promastigotas extracelulares, através de laranja de acridina e observação por microscopia de fluorescência e por isolamento e crescimento em cultura.

Foram estabelecidas co-culturas de MØ e PMN infectados por *L. infantum*-GFP e a transferência do parasita para os MØ analisada por citometria de fluxo. As co-culturas foram acompanhadas por observação de lâminas de *citospin* coradas por Giemsa.

**Resultados:** Os PMN associaram-se e internalizaram rapidamente o parasita. O parasita mantém a viabilidade e a capacidade de multiplicação após contacto com os PMN. Embora a percentagem de MØ infectados após contacto com PMN em associação com *L. infantum* tenha sido significativamente inferior quando comparada com MØ expostos a parasitas que não tiveram contacto prévio com PMN, a transferência do parasita para os MØ parece ser mediada pela fagocitose de PMN infectados apoptóticos. No entanto, a fagocitose de parasitas não completamente internalizados, mas ligados à membrana celular dos PMN não pode ser descartada.

**Conclusões:** Este estudo comprova que PMN caninos internalizam promastigotas de *L. infantum* e que o contacto com PMN não elimina a viabilidade parasitária nem a sua capacidade de multiplicação. Os parasitas ligados ou internalizados por PMN são rapidamente transferidos para MØ. O nível de sucesso da infeção de MØ por parasitas que interagiram previamente com PMN sugere que apenas os parasitas mais virulentos sobrevivem aos PMN e asseguram a infeção dos MØ, podendo vir a causar leishmaniose canina.