



Efecto del antígeno excretor-secretor de *Leishmania braziliensis* sobre la fagocitosis en macrófagos.

A. Bastier^{1,2}, D.E. Cargnelutti^{1,2,3}, F. Espeche¹, M. Gómez², G.N. Arenas^{1,2}, C.G. Borremans^{1,2}, R. Tonelli^{1,2}, M.C. Salomón^{1,2}

1--Facultad de Ciencias Médicas, Universidad del Aconcagua, Mendoza, Argentina

2-Área de Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina,

3-Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo (IMBECU), CCT-Mendoza, CONICET, Argentina.

csalomon@fcm.uncu.edu.ar

Introducción: *Leishmania braziliensis* es un flagelado digénico que causa patología en mamíferos. El insecto vector inocula formas promastigotes del parásito en el torrente circulatorio del hospedador. Los parásitos deben ser endocitados rápidamente por los macrófagos u otros fagocitos, en los que se reproduce como amastigote dentro de una vacuola parasitófora; los promastigotes que no son internalizados mueren. Se sabe que la activación de los macrófagos, por moléculas como los lipopolisacáridos (LPS) por ejemplo, producen mediadores químicos que regulan la respuesta inmune humoral y determinan la producción de interleuquinas Th1 o Th2, pero se desconoce el efecto de la activación de los macrófagos sobre el proceso de fagocitosis. Por otra parte, se ha visto que el antígeno excretor-secretor producido por promastigotes (AESPL) de *L. donovani* activa a macrófagos murinos para la producción de interleuquinas pero no se conoce su efecto sobre el proceso de fagocitosis. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto del AESPL sobre la fagocitosis de promastigotes de *L. braziliensis* en macrófagos Raw. Materiales y Métodos: se cultivaron los promastigotes de *L. braziliensis* en medio RPMI suplementado con 10% de suero fetal bovino, 2 μ M de glutamina y antibióticos, a 26 °C hasta la fase de crecimiento estacionario. Para obtener el antígeno excretor-secretor se preparó una suspensión de 2×10^5 promastigotes/ml en RPMI libre de suero. Se incubó 72 horas, se centrifugó y el sobrenadante que contiene los AESPL se filtró y congeló a -20°C hasta su uso. Los macrófagos se cultivaron sobre cubreobjetos circulares, se estimularon con 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de AESPL y infectaron con promastigotes a razón de 20 parásitos por macrófago. Sobre los cubreobjetos se realizó una inmunofluorescencia utilizando un anticuerpo policlonal de ratón anti *Leishmania* y un antirratón Alexa Fluor 488®. Se determinó el porcentaje de macrófagos infectados sobre el total de células y el número de parásitos por macrófago a las 2 y 24 horas post infección. Se usó como control la fagocitosis de promastigotes por macrófagos sin estimular con AESPL. Resultados: se observó una disminución en el porcentaje de fagocitosis de 10,3% para el control a 8,7% en los macrófagos estimulados a las 2 horas post infección en tanto se duplicó el número de parásitos endocitados por célula. A las 24 horas post infección se observó 10,8% en el control y 7,50% en los macrófagos estimulados sin que se modificara el número de parásitos por macrófago respecto del control. Conclusión: la estimulación de macrófagos Raw con AESPL de *L. braziliensis* produce una disminución de la endocitosis de promastigotes tanto a las 2 como a las 24 horas postinfección. Este efecto inhibitorio de la fagocitosis podría indicar protección frente al establecimiento de la infección en el hospedador. Por otra parte, los macrófagos estimulados con AESPL fueron capaces de endocitar dos veces más parásitos que el control a las 2 horas post infección en tanto 24 horas después de la estimulación el número de parásitos por macrófagos no mostró modificaciones, resultado que sugiere algún rol de AESPL en la reproducción del parásito dentro del macrófago.