

PAPÉL DO RECEPTOR DE CD200 (CD200R) NA INFECÇÃO POR
LEISHMANIA (LEISHMANIA) AMAZONENSIS

KATERINE GRECE MADRID SOTOMAYOR

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Biologia da Relação Patógeno Hospedeiro do Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título
de Mestre em Ciências.

São Paulo

2019

RESUMO

Madrid K.G. Papel do receptor de CD200 (CD200R) na infecção por *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, [dissertação (Mestrado em Ciências)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Parasitologia, Universidade de São Paulo 2019.

Parasitas do gênero *Leishmania* são capazes de manipular a resposta imune para sobreviver intracelularmente e assim em alguns casos causar um grupo de doenças tropicais chamadas de leishmaniose. Uns dos mecanismos inibitórios usados por *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (espécie associada a leishmaniose cutânea) é a indução da expressão da glicoproteína CD200 o qual mediante a sua ligação a CD200R inibe o mecanismo leishmanicida mediado por iNOS/NO. Ainda que a interação entre CD200-CD200R tem um papel essencial em diferentes processos imunes, nenhum dado há sido descrito em relação à ativação (fosforilação) de CD200R ao longo do processo de infecção com *L. (L.) amazonensis*. Assim, o principal objetivo deste trabalho foi estudar a cinética de ativação de CD200R em macrófagos infectados. Para isto, macrófagos diferenciados de medula óssea de camundongos C57BL/6 foram infectados com amastigotas de *L. (L.) amazonensis* durante diferentes tempos e as amostras foram analisadas usando imunoprecipitação/*western blot* e ensaios de imunofluorescência para detectar fosforilação de CD200R. Nossos resultados indicam que os níveis de expressão de CD200R incrementam na primeira hora de infecção com *L. (L.) amazonensis*. Mais importante, observamos que CD200R mostrou sinal de fosforilação às 4 h após infecção, dado que foi confirmado pela co-localização de CD200R e fosfotirosina às 4 e 6 h de infecção. A via de sinalização mediada por ERK foi relacionada à ativação de CD200R, mostrando uma inibição correlacionada de ERK fosforilada em 3 a 4 h.

Assim, a indução de CD200 no hospedeiro durante a infecção com *Leishmania* permite a ativação de CD200R pelo menos 3 h após infecção, mostrando que a inibição de macrófagos é dependente da ativação da via inibitória CD200-CD200R o que pode ter várias implicações na infecção celular e na doença.

Palavras-Chaves: Amastigota, CD200, CD200R, fosforilação, *L. (L.) amazonensis*, macrófagos, via de sinalização.

ABSTRACT

Madrid K.G Role of the CD200 receptor (CD200R) in the infection by *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, [dissertation (Master of Sciences)]. São Paulo: Institute of Biomedical Science, Department of Parasitology, University of São Paulo; 2019.

Parasites of the genus *Leishmania* are able to manipulate the host immune response to survive inside macrophages, causing in some cases the tropical disease called leishmaniasis. One of the inhibitory mechanisms used by *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (species associated with cutaneous and diffuse leishmaniasis) is the induction of the host ligand CD200, which by binding CD200R, inhibits the leishmanicidal mechanism mediated by iNOS/NO. Although the interaction between CD200 and CD200R plays an essential role in the different immune process, no data have been reported regarding the activation (phosphorylation) of CD200R during infection by amastigotes of *L. (L.) amazonensis*. The main purpose of this work was to study the kinetic of CD200R activation in infected macrophages. For this, bone marrow macrophages from C57BL/6 mice were infected with amastigotes of *L. (L.) amazonensis*, over several time points, and the samples analyzed by immunoprecipitation/western blot and immunofluorescence assays. Our results indicate that CD200R expression levels increase in the first hour of *L. (L.) amazonensis* infection. More importantly, we observed that CD200R showed signals of phosphorylation at 4 h post-infection, data confirmed by the co-localization of CD200R and phosphotyrosine at 4 and 6 h of infection. The signaling pathway mediated by ERK was related to the activation of CD200R, showing a correlated inhibition of phosphorylated ERK at 3 to 4 h.

Thus, the induction of CD200 in the cell host during infection of *Leishmania* follows the activation of CD200R after at least 3 h post-infection, showing that the inhibition of macrophages is dependent on the immune checkpoint molecules CD200/CD200R inhibitory pathway activation, which could have several implications on the cellular infection and the disease.

Keywords: Amastigotes, CD200, CD200R, *L. (L.) amazonensis*, macrophage, phosphorylation, signaling pathways.