

^{CB}A hiperglicemia prejudica a remoção de neutrófilos apoptóticos e a ativação de células dendríticas durante a infecção por MRSA

Fernanda Ragonese¹, Letícia de Aquino Penteado^{1,2}, Breno Vilas Boas Raimundo¹, Karen Cristina Oliveira¹, Diego Messale Ribeiro¹, Victor Hugo Nascimento¹, Mariana Carames Fidelis Lopes¹, Alexandra Ivo de Medeiros¹.

¹Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP.

²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Introdução: A apoptose é um tipo de morte celular que contribui para a homeostase e resolução de uma resposta imune. Na pele, as células dendríticas (CDs), células de Langerhans e macrófagos são fagócitos profissionais na eliminação das células apoptóticas, denominado eferocitose. Durante a infecção cutânea por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), os neutrófilos recrutados fagocitam a bactéria e formam um abscesso importante para conter a disseminação. Esses neutrófilos infectados entram em processo de morte celular e, durante sua eferocitose, CDs ativam-se e tornam-se capazes de migrar para os linfonodos e ativarem linfócitos Th17, processo dependente da expressão de CCR7. Pacientes diabéticos são mais susceptíveis a infecções cutâneas pela MRSA. Prévios estudos demonstram que a hiperglicemia em camundongos diabéticos prejudica a ativação de células de Langerhans, tornando-as menos hábeis em migrar para os linfonodos. No entanto, pouco se sabe sobre o impacto da hiperglicemia na função das CDs residentes da pele durante a eferocitose de neutrófilos infectados por MRSA. **Objetivos:** O objetivo deste estudo foi caracterizar a morte celular de neutrófilos e a função de CDs durante a eferocitose em camundongos diabéticos e não diabéticos em modelo de infecção cutânea pela MRSA. **Metodologia:** Camundongos C57BL/6 foram tratados com injeções (i.p.) de STZ (40mg/kg) durante 5 dias. Os animais foram considerados diabéticos com glicemia > 250mg/dL sem jejum. Para a infecção, foram inoculados $\sim 5 \times 10^6$ CFU de MRSA (s.c.) e, após 18h, as biópsias da pele foram coletadas, digeridas e as CDs foram isoladas por separação magnética com *microbeads* de CD11c. Essas células foram permeabilizadas e marcadas com anticorpos anti-Sirp1 α e anti-Ly6G para identificação de neutrófilos, e com anti-CD86, anti-MHC-II e anti-CCR7 na superfície celular, e então analisadas por citometria de fluxo. A fração negativa foi marcada com Ly6G, FVS e caspase-3 clivada para determinar o perfil de morte celular. **Resultados e discussão:** Observamos que o recrutamento de neutrófilos foi semelhante ($\sim 85\%$) entre os animais normoglicêmicos e hiperglicêmicos, porém o grupo STZ obteve maior taxa de neutrófilos necróticos (20% e 35% de células FVS⁺Caspase3⁻). Detectamos também menor taxa de eferocitose pelo grupo STZ em relação ao grupo controle ($\sim 35\%$ e 45% de células Sirp1 α +Ly6G⁺). O grupo STZ acumulou maior quantidade de CDs convencionais do tipo 2 na pele (cDC2) (Sirp1 α ⁺), as quais expressaram menos CD86, MHC-II e CCR7, sugerindo uma menor capacidade de migração e apresentação de antígenos, comparado ao grupo normoglicêmico. **Conclusão:** A população cDC2 apresentou menor expressão de moléculas importantes para a resposta imune contra MRSA, em ambiente hiperglicêmico. Além disso, as cDC2s foram menos hábeis em eferocitar do que no grupo controle, possivelmente explicando o aumento de neutrófilos infectados necróticos no grupo diabético.

Palavras-chave: Células dendríticas, Hiperglicemia, MRSA