

EFEITO DE UMA FOSFOLIPASE A₂ BÁSICA ISOLADA DA PEÇONHA DE *BOTHROPS PAULOENSIS* EM *LEISHMANIA (LEISHMANIA) AMAZONENSIS*

Débora C. O. Nunes¹, Márcia M. N. R. Figueira¹,
Daiana S. Lopes¹, Dayane L. N. Souza¹,
Eloísa A. V. Ferro², Maria A. Souza³, Renata S. Rodrigues¹,
Veridiana M. Rodrigues^{1,4}, Kelly A. G. Yoneyama¹

A leishmaniose é uma típica doença tropical negligenciável, prevalente em países em desenvolvimento, e que apresenta pouco interesse para o mercado farmacêutico mundial, visto que assim como outras doenças tropicais negligenciadas, a leishmaniose atinge principalmente a população mais pobre. Assim, a maioria dos pacientes acometidos pela leishmaniose tem pouco ou nenhum acesso à pequena quantidade de drogas disponíveis para a terapêutica. É importante salientar que o cenário atual de drogas disponíveis para o tratamento da leishmaniose mostra a eminente necessidade de desenvolvimento de novas drogas, com ênfase em drogas mais eficazes, de baixo custo e com esquema terapêutico simplificado. Nesse sentido, o desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento da leishmaniose torna-se indispensável, e as peçonhas de serpente aparecem como importante fonte natural de biomoléculas farmacologicamente ativas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de uma fosfolipase A₂ (BnSP-7) cataliticamente inativa, da serpente *Bothrops pauloensis*, sobre *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Formas promastigotas foram cultivadas em meio LIT suplementado com 10% de soro fetal bovino, penicilina, estreptomicina e concentrações crescentes de toxina por um período de 96 horas. Diariamente alíquotas

da cultura foram coletadas para determinar a concentração de parasitos. A toxina BnSP-7 inibiu a proliferação do parasito, causando reduções que variaram de 60%-70% na proliferação do parasito nas concentrações de 50 µg/mL-200µg/mL da toxina, após 96 horas de tratamento. Para o ensaio de viabilidade celular, formas promastigota do parasito cultivadas por 72 horas em presença da toxina foram submetidas ao ensaio do MTT. A análise dos resultados mostrou redução na viabilidade de formas promastigota, com valor de IC₅₀ de 58,7µg/mL. Interessantemente, a toxina BnSP-7 também apresentou efeito sobre formas amastigota de *L. (L.) amazonensis*, causando redução de 50% na viabilidade do parasito na concentração de 28,1µg/mL e atraso no processo de diferenciação do amastigota em promastigota. Estudos ultraestruturais realizados por microscopia óptica e eletrônica mostraram que a toxina BnSP-7 causou alterações severas na morfologia parasitária. Após 72 horas de cultivo em presença da toxina, os promastigotas apresentaram inchaço mitocondrial, alteração nuclear, vacuolização, presença de acidocalcisomas, aspecto multiflagelar e efeito de “blebbing” na membrana plasmática. Tais alterações morfológicas são sugestivas de apoptose; entretanto, mais estudos deverão ser realizados para confirmar essa via de morte

¹ Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

² Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia

³ Departamento de Patologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia

⁴ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Nano-Biofarmacêutica (N-Biofar)

kellyagy@ingeb.ufu.br

veridiana@ingeb.ufu.br

celular. A toxina BnSP-7 também interferiu com a capacidade infectiva do promastigota em macrófagos peritoneais murinos, causando reduções estatisticamente significativas ($p < 0.05$) de aproximadamente 20%-30% para as concentrações de toxina ensaiadas (25µg/mL-200µg/mL). Em conjunto, os dados apresentados mostram que a toxina BnSP-7, uma fosfolipase A₂ isolada da peçonha de *B. pauloensis*, apresenta atividade anti-*Leishmania* contra promastigota e amastigota de *L. (L.) amazonensis*, uma vez que foi capaz de reduzir a viabilidade do parasito, a capacidade proliferativa e de diferenciação do amastigota em promastigota, além de causar danos severos a sua morfologia e interferir com o estabelecimento da infecção em macrófagos peritoneais. Dessa forma, a BnSP-7 é uma importante ferramenta para a descoberta de novos alvos terapêuticos no parasito, bem como para estudos que buscam maior

entendimento da biologia do parasito e que possam ser explorados para o desenvolvimento de novas drogas para o tratamento da leishmaniose. Estudos mais detalhados deverão ser desenvolvidos para melhor entender os efeitos biológicos e moleculares dessa toxina em *L. (L.) amazonensis*. Futuras perspectivas incluem estudos que investiguem a via de morte envolvida na ação de tal toxina, estudos de proteômica direcionados para a descoberta de moléculas alvos que possam ser exploradas para o design de novas drogas e estudo da ação de peptídeos sintéticos derivados da toxina BnSP-7, na tentativa não somente de encontrar novos alvos no parasita, mas também de vislumbrar uma possível droga utilizando o próprio peptídeo ou outra droga concebida a partir de peptídeo citotóxico. ■

Apoio: Fapemig, CAPES e UFU