

SAU-22

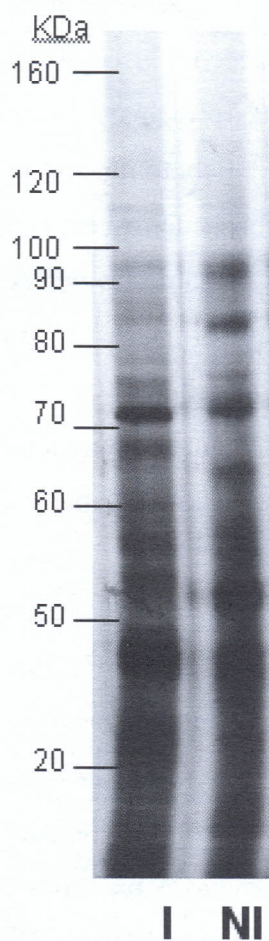
**ESTUDO DA INFECTIVIDADE DE CEPAS DE *LEISHMANIA* SPP.
UTILIZANDO ANIMAIS DE LABORATÓRIO**

Michele de Souza Maciel⁽¹⁾, Maricleide de Farias Naiff⁽²⁾, Liliane Coelho R. Nery³, Luanda de Paula Figueira⁽³⁾, Francimeire G. Pinheiro⁽³⁾, Antonia M R Franco & Flávia R. A.C.N. Moreira³

⁽¹⁾Bolsista PIBIC/FAPEAM. ⁽²⁾Orientador CPCS/INPA. ⁽³⁾Co-Orientadores CPCS/INPA

Os protozoários do gênero *Leishmania* são os agentes causadores de um amplo espectro de doenças abrangendo desde lesões de pele que podem se curar espontaneamente até infecções viscerais letais quando não tratadas (WHO, 2004). As *Leishmania* ocorrem em duas formas principais distintas: promastigotas, encontradas no trato digestivo do inseto vetor (fêmeas de flebotomíneos) e as amastigotas encontradas em células do sistema mononuclear fagocítico do hospedeiro vertebrado. Durante sua migração pelo trato digestivo do inseto vetor, as promastigotas passam por uma série de transformações morfológicas e moleculares que culminam em sua transformação da forma procíclica (não-infectiva) na forma metacíclica, infectiva para o hospedeiro vertebrado. Observou-se que durante o cultivo *in vitro*, as promastigotas em fase estacionária apresentam-se diferenciadas em sua forma metacíclica (Sacks & Perkins, 1984; Bates, 1994). Outra observação relevante é que promastigotas mantidas *in vitro* por sucessivas passagens perdem a capacidade de infectar o hospedeiro vertebrado. Esta perda de infectividade está associada a alteração da expressão de uma série de proteínas e carboidratos de superfície (De T & Roy, 1999; Beetham *et al.*, 2003). Para a realização de estudos torna-se necessária a obtenção de amostras infectivas e não infectivas. Assim, a proposta do presente trabalho é avaliar a perda de infectividade de amostras de *Leishmania amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8) por sucessivas passagens *in vitro*. Para isto, promastigotas de *L. amazonensis* foram semeadas em meio RPMI com 10 % de soro fetal bovino e mantidas por sucessivas passagens *in vitro*. A cada cinco passagens, 10^6 parasitas eram coletados do meio RPMI e inoculados na pata esquerda traseira de hamsters. A infectividade das amostras foi acompanhada semanalmente por medição das patas utilizando-se paquímetro. Observou-se que a amostra *L. amazonensis* infectiva (obtida da cultura duas passagens após o isolamento) causou lesão duas semanas após a infecção. Com as amostras mantidas em cultivo por dez passagens não foi observada lesão até 32 semanas após a infecção. Esses resultados indicam que a manutenção dos parasitas em cultivo *in vitro* por 10 passagens já é suficiente para que ocorra a perda de infectividade em *L. amazonensis*. Foram também coletadas amostras de parasitas infectivos e não

infectivos para avaliação do perfil eletroforético em SDS-PAGE. Para isso, 2×10^9 parasitas foram ressuspendidos em 1 mL de PBS com 0,4% de CHAPS na presença de inibidores de proteases e a amostra incubada por 1h no gelo, sendo em seguida, centrifugada a 14000 rpm por 1h. O extrato obtido foi aplicado em eletroforese desnaturante em géis de poliacrilamida 10%. Observou-se que os perfis protéicos de promastigotas infectivas e não infectivas são bastante diferentes, com aumento e diminuição na expressão de várias proteínas, conforme observado na figura abaixo. É possível que muitas dessas proteínas estejam envolvidas com a infectividade dos parasitas.



Desenho 1: Perfil eletroforético de extratos de promastigotas de *L. amazonensis* infectivas (I) e não-infectivas (NI).

← proteínas cuja expressão aumentou nas amostras não-infectivas.

←* proteínas cuja expressão diminuiu nas amostras não-infectivas. KDa= padrão de peso molecular.

Referências bibliográficas:

Bates, P.A. 1994. The developmental biology of *Leishmania* promastigotes. *Experimental Parasitology*, 79(2): 215-8.

Beetham, J.K.; Donelson, J.E.; Dahlin, R.R. 2003. Surface glycoprotein PSA (GP46) expression during short - and long-term culture of *Leishmania chagasi*. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 131(2):109-17.

Sacks, Perkins. 1984. Identification of an infective stage of *Leishmania* promastigotes. *Science*, 30; 223 (4643):1417-9.

WHO, 2004. Página da Organização Mundial de Saúde <http://www.who.int/en/>