



# Ação do azul de metileno associado à luz de emissão vermelha em membrana reconstituída a partir de isolados de membrana de *Leishmania amazonensis*



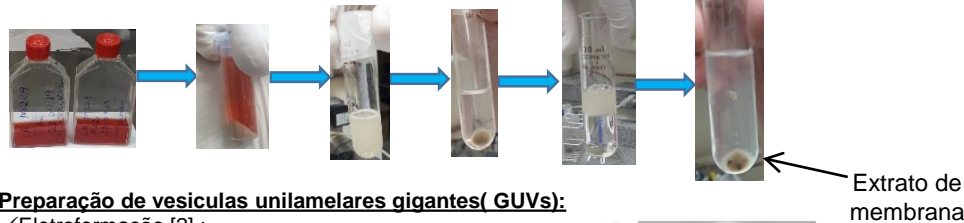
Maressa Donato<sup>1</sup>, Ismael P. Sauter<sup>1</sup>, Bruna R. Casadei<sup>2</sup>, Rosângela Itri<sup>2</sup> e Martha S. Ribeiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Lasers e Aplicações, IPEN-CNEN/SP, São Paulo, SP, Brasil (e-mail: maressa\_donato@usp.br) <sup>2</sup>Departamento de Física Aplicada, Instituto de Física, Universidade de São Paulo, SP, São Paulo, Brasil

A leishmaniose é uma doença negligenciada que está presente em 97 países. Estima-se a ocorrência de mais de 1,3 milhões de novos casos de Leishmaniose no próximo ano, com um total de 30.000 mortes ("WHO," 2020). Apesar do grande número de incidência de casos de infecção, a leishmaniose ainda é uma doença cujo tratamento e diagnóstico são caros (COPELAND; ARONSON, 2015; GILLESPIE et al., 2016). Com isso, a PDT (do inglês *PhotoDynamicTherapy*) vem como uma nova possibilidade de tratamento, já que esta tem se mostrado eficiente na morte de microrganismos, além do baixo efeito colateral e desenvolvimento de resistência pelo parasita (JOHANSEN; JEMEC; FABRICIUS, 2019). Neste trabalho investigamos o efeito da PDT em vesículas reconstituídas com lípidio e proteína de leishmania para compreender a ação de fotossensibilização do azul de metileno que apresenta um baixo custo além de ser solúvel em água (AM).

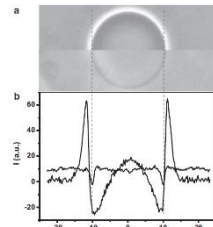
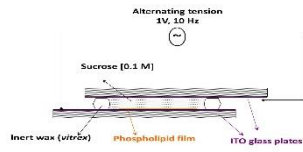
## Materiais e Métodos

### Desenvolvimento de protocolo para isolamento de membrana de *Leishmania*:



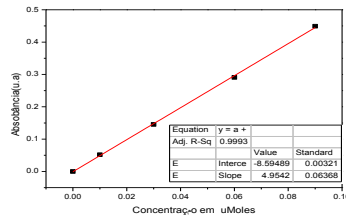
### Preparação de vesículas unilamelares gigantes (GUVs):

- ✓ Eletroformação [2];
- ✓ Observação das GUVs: Zeiss, Axio Observer Z1 – microscópio invertido)



## Resultados e discussão

### Dosagem de fosfato



$$Y_{fosfato} = A + BX$$

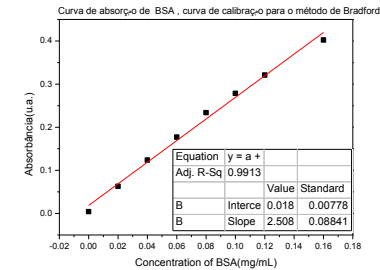
$$0,1633 = 0,0008 + 4,9542X$$

$$0,1633 - 0,0008 = 4,9542X$$

$$0,1625 = 4,9542X$$

$$X = 0,0328 \mu\text{Mol/mL}$$

### Dosagem de Proteína



Amostras	C1	C2
Absorbância	1,190	1,210

$$Y_{proteina} = A + BX$$

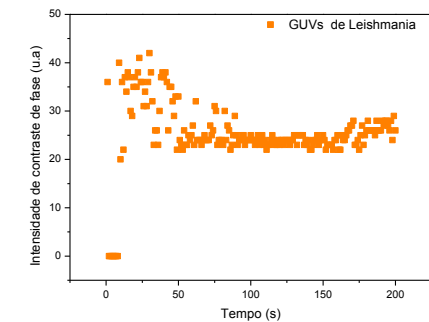
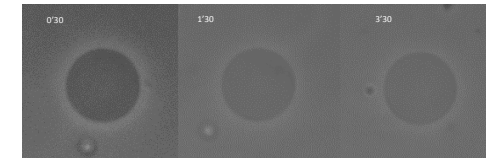
$$1,2055 = 0,018 + 2,508X$$

$$1,2055 - 0,018 = 2,508X$$

$$1,1875 = 2,508X$$

$$X = 0,4734 \text{ mg/mL}$$

### Ação de 50µM de azul de metileno em GUVs preparada com isolado de membrana de *Leishmania*



## Conclusão

Conseguimos isolar a membrana de *Leishmania* sem perda de lípidios ou proteínas como protocolos convencionais e reconstituí-la em GUVs. Também demonstramos que a PDT mediada por MB altera a permeabilidade dos GUVs de *Leishmania* pela formação de poros na membrana, que é a primeira barreira do fotossensibilizador.

### Referências:

- COPELAND, N. K.; ARONSON, N. E. Leishmaniasis : treatment updates and clinical practice guidelines review. v. 28, n. 5, p. 426–437, 2015.  
 GILLESPIE, P. M. et al. Status of vaccine research and development of vaccines for leishmaniasis. *Vaccine*, v. 34, n. 26, p. 2992–2995, 2016.  
 JOHANSEN, M. B.; JEMEC, G. B. E.; FABRICIUS, S. Effective treatment with photodynamic therapy of cutaneous leishmaniasis : A case report. n. July, p. 1–6, 2019.  
 WHO. Disponível em: <https://www.who.int/gho/neglected\_diseases/leishmaniasis/en/>. Acesso em: 2 out. 2019.

### Agradecimentos:

