

ACT. SELEÇÃO DE FAGO-PEPTÍDEO COM CAPACIDADE DE INTERAÇÃO COM *Leishmania amazonensis* E *Leishmania infantum* E POTENCIAL PARA AFETAR A INTERNALIZAÇÃO DE FORMAS PROMASTIGOTAS EM MACRÓFAGOS

Túlio Custódio Reis¹, Juliane Buzzon Meneghesso Verga¹, Ana Clara Lunardi Yagi¹, Marcelo Jacobs-Lorena², Sung-Jae Cha², Márcia Aparecida Silva Graminha¹

¹ Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

² Malaria Research Institute, Bloomberg School of Public Health, Johns Hopkins University

INTRODUÇÃO: *Leishmania* é um parasita intracelular obrigatório principalmente de células do sistema fagocítico mononuclear. A internalização de promastigotas ocorre através da interação entre ligantes de superfície e receptores de membrana da célula hospedeira. **OBJETIVOS:** Identificar peptídeos recombinantes derivados de uma biblioteca combinatória de fagos, que interagem com *Leishmania amazonensis* e *Leishmania infantum* capazes de interferir na internalização de formas promastigotas em macrófagos. **METODOLOGIAS:** Foram utilizadas cepas de *L. amazonensis* (MPRO/BR/1972/M1841-LV-79) e *L. infantum* (MHOM/MA/67/ITMA-263). Foi utilizada uma biblioteca composta de bacteriófagos filamentosos M13 geneticamente modificados para expressar aleatoriamente peptídeos - complexidade de $1,5 \times 10^9$ - contendo 12 aminoácidos fusionados à região N-terminal da proteína de superfície pVIII. Um fago recombinante, denominado A9 foi selecionado por *Biopanning* e amplificado em *Escherichia coli* (K91), seguido de sequenciamento. O peptídeo A9 foi sintetizado com biotina com base na sequência do clone recombinante. Foi realizado o teste de imunofluorescência “*Binding Assay*” com clone de fago A9 recombinante e com o peptídeo A9 sintético biotilado. Em seguida foi avaliado o potencial de inibição do clone de fago recombinante A9 e do peptídeo A9 recombinante frente à infecção por *L. amazonensis* e *L. infantum* em macrófagos diferenciados de células THP-1. Para isto, promastigotas de *L. amazonensis* e *L. infantum* na fase estacionária foram incubadas com o fago recombinante A9 e, em seguida, incubados com macrófagos por 2 horas a 37°C em 5% de CO₂. Em consequente, formas promastigotas enriquecidas foram incubadas com o peptídeo A9 recombinante seguindo o método descrito anteriormente. Avaliou-se, adicionalmente, a atividade anti-promastigota (100µg a 3,12µg) do peptídeo A9, bem como a citotoxicidade (300µg a 4,68µg) frente a macrófagos. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** O fago recombinante A9 e seu análogo biotilado foram capazes de reduzir em 51,5% e 40%, respectivamente, a taxa de infecção da espécie *L. amazonensis* frente a macrófagos. Da mesma forma, esta redução foi de 53,6% e 42% quando avaliados em ensaios de infecção com *L. infantum*. Resultados preliminares apontam que o peptídeo não possui atividade anti-promastigota frente às duas espécies avaliadas e não é citotóxico frente a macrófagos. **CONCLUSÃO:** O fago recombinante A9 e o peptídeo A9 biotilado podem estar reduzindo a taxa de infecção de *L. amazonensis* e *L. infantum* em macrófagos devido a interações com ligantes presentes na superfície do parasita, importantes para a interação com o macrófago e, conseqüentemente, para a internalização. Contudo, novos estudos moleculares devem ser realizados para identificar os possíveis ligantes de superfície que poderão se constituir como novos alvos terapêuticos para a *Leishmania*.

Palavras-chave: bacteriófago, infecção, ligantes.

Apoio Financeiro: FAPESP, CAPES e CNPq.