

Avaliação do papel de inibidores de FABP4 de macrófagos em infecções por Leishmania

Vivian Midori Maruyama*, Danilo Ciccone Miguel

Resumo

A proteína ligante de ácidos graxos do tipo 4 (FABP4; "Fatty Acid-Binding Protein 4") está presente no citosol de macrófagos e adipócitos e participa do tráfego de ácidos graxos para diferentes compartimentos celulares. A investigação do seu papel no curso da infecção de macrófagos por protozoários do gênero *Leishmania* (agente etiológico da leishmaniose) é o principal objetivo do trabalho em questão.

Palavras-chave:

Leishmania, FABP4, macrófago.

Introdução

Considerada uma doença negligenciada, a leishmaniose é uma infecção causada por cerca de 20 diferentes espécies de protozoários flagelados do gênero *Leishmania*¹. As principais manifestações da doença se dão a partir do acometimento da pele (forma cutânea) que pode evoluir para manifestações mais complexas denominadas mucocutânea, disseminada e difusa; e a forma visceral, sendo esta potencialmente fatal. No Brasil, a ocorrência de leishmaniose cutânea relaciona-se principalmente às espécies *L. (V.) braziliensis*, *L. (L.) amazonensis* e *L. (V.) guyanensis*². Já para a forma visceral, caracterizada por quadros de pancitopenia, anemia, febre e hepato- e esplenomegalia, a infecção é atribuída à *L. (L.) infantum chagasi*. Quanto à terapêutica, é evidente que ainda não existem alternativas medicamentosas eficientes, o que torna a pesquisa de novos fármacos altamente necessária. Em macrófagos, principais células hospedeiras de *Leishmania*, a proteína ligante de ácidos graxos do tipo 4 (FABP4; "Fatty Acid-Binding Protein 4") atua na regulação do tráfego de ácidos graxos³. Assim, pretendemos investigar se estas proteínas participam do processo de infecção por *Leishmania* exercendo algum papel importante na sobrevivência do parasita na célula hospedeira. Para essa investigação, foram estabelecidos perfis de toxicidade de inibidores desta proteína frente a formas promastigotas e amastigotas intracelulares de diferentes espécies de *Leishmania*, além de macrófagos diferenciados de medula de camundongos BALB/c.

Resultados e Discussão

Inicialmente, foram realizados experimentos para avaliação da atividade do inibidor específico da FABP4, que, quando adicionado a culturas de macrófagos mostram que estas células ainda permanecem viáveis após incubação com concentrações crescentes do inibidor (1, 5, 15, 45 μ M). Além disso, para estas mesmas concentrações, verificou-se que culturas de macrófagos não apresentaram permeabilidade ao iodeto de propídio, provando que o inibidor não levou a alterações de permeabilidade na membrana plasmática macrofágica.

Culturas de promastigotas de fase logarítmica de *L. (L.) amazonensis*, *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) infantum chagasi* foram mantidas em diferentes tempos para avaliação da atividade deste inibidor. Os valores das concentrações inibitórias para 50% das culturas serão estabelecidos com base nas curvas dose-respostas obtidas a partir das densidades óticas determinadas após leitura de

absorbância utilizando-se o método colorimétrico de ensaio de redução de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio). A seguir, serão conduzidos experimentos para avaliarmos a atividade leishmanicida deste inibidor frente aos amastigotas intracelulares, após períodos de 2, 24 e 48h de infecção, por meio de contagem de parasitos/células infectadas.

Conclusões

Com base nos resultados obtidos ao longo do projeto, será avaliado o potencial leishmanicida de uma molécula capaz de interferir na via de sinalização celular mediada pelas FABPs, com o objetivo de se identificar um potencial candidato a fármaco para o tratamento da leishmaniose.

Agradecimentos

V.M.M. é bolsista de Iniciação Científica FAPESP (2015/26408-1). D.C.M. possui auxílio Jovem Pesquisador FAPESP (2014/21129-4) e auxílio PRP-UNICAMP. Agradecemos à disponibilidade do Prof. Dr. Marco Aurélio R. Vinolo por ceder o leitor de placas para análise dos ensaios de viabilidade.

¹ Lainson, R. e Shaw, J. J. The leishmaniasis in Biology and Medicine. *Acad. Press*, p. 1-120, 1987.

² Rey, L. Parasitologia. *Guanabara Koogan*. 2008

³ Furuhashi, M.; Saitoh, S.; Shimamoto, K.; Miura, T. Fatty Acid-Binding Protein 4 (FABP4): Pathophysiological Insights and Potent Clinical Biomarker of Metabolic and Cardiovascular Diseases. *Clin. Med. Insights Cardiol*, 23-33, 2014.