

**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>; Rosangela Itri<sup>2</sup>; Martha S. Ribeiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Lasers e Aplicações, IPEN-CNEN/SP, São Paulo, SP, Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Física Aplicada, Instituto de Física, Universidade de São Paulo, SP, São Paulo, Brasil  
e-mail: maressa\_donato@usp.br

**INTRODUÇÃO:** A leishmaniose é uma importante doença negligenciada causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que pode ser transmitida pela picada de flebotomíneos. O tratamento convencional da leishmaniose envolve o uso de fármacos que promovem efeitos clínicos adversos e resistência ao tratamento. Assim, o desenvolvimento de novas técnicas para o tratamento desta doença são cruciais. Recentemente, tem havido um interesse crescente na aplicação de terapia fotodinâmica (PDT) na leishmaniose cutânea, que tem mostrado bons resultados e parece ser bem tolerada pelos pacientes.

**OBJETIVO:** Desenvolver um protocolo para produzir vesículas gigantes de membrana plasmática (GPMVs) a partir da membrana de promastigotas de *Leishmania amazonensis* e verificar os efeitos da PDT mediada por azul de metileno (AM) em GPMVs de *L. amazonensis*. **METODOLOGIA:** A extração da membrana dos parasitas foi feita por centrifugações com diferentes gradientes de sacarose. Dosagem de fosfato e proteína foi realizada para confirmar a extração da membrana. As GPMVs foram então preparadas pela técnica de eletroformação usando diferentes frequências e tensões. As GPMVs reconstituídas foram observadas em microscópio óptico invertido em contraste de fase. Na sequência, as GPMVs foram diluídas em solução de glicose 0,2 M contendo AM para uma concentração final de 50  $\mu$ M. Em seguida, foram acondicionadas em uma câmara de observação e levadas ao microscópio. A irradiação foi feita com a lâmpada de mercúrio de 103 W do microscópio, usando um filtro apropriado para a fotoativação do AM ( $\lambda_{exc}$  = 665 nm).

**RESULTADOS:** Foi observada perda de contraste da GPMV depois de 210 s de exposição à luz devido à troca de solução interna (sacarose) e externa (glicose), indicando formação de poros na vesícula. **CONCLUSÃO:** Nós fomos capazes de desenvolver um protocolo para formação de GPMVs de *L. amazonensis*, que mostraram poros após PDT, sugerindo alterações na permeabilidade da membrana.

Palavras-chave: leishmaniose, microscopia óptica em contraste de fase, terapia fotodinâmica (PDT), vesículas gigantes de membrana plasmática (GPMVs).

Apoio: CAPES, CNEN, CNPq e FAPESP.