

Área: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Projeto: Avaliação da NTPDase 1 de *Leishmania infantum* como um novo alvo terapêutico contra a leishmaniose visceral

Autores: LAURA LAVORATO SOLDATI (BIC/UFJF); WAGNER FARIA MESSIAS (BIC/UFJF); DANIELLE GOMES MARCONATO; NAYARA BRAGA EMÍDIO; ANA CAROLINA RIBEIRO GOMES MAIA; GABRIANE NASCIMENTO PORCINO; MICHELLE DE LIMA DETONI; LEONARDO RAMOS QUELLIS; PRISCILA DE FARIA PINTO; EVELINE GOMES VASCONCELOS (ORIENTADOR)

Resumo: INTRODUÇÃO: A isoforma NTPDase1 (50 kDa) que hidrolisa nucleosídeos di- e trifosfatados sob a ativação de cátions bivalentes foi caracterizada em promastigotas de *Leishmania infantum*. Esta proteína é encontrada na superfície do parasito e tem ampla distribuição subcelular, sugerindo sua participação em distintas vias metabólicas. OBJETIVO: Purificar a NTPDase1 de *L. infantum* por meio de gel não desnaturante e verificar sua susceptibilidade à pentamidina, usada no tratamento de leishmanioses. MÉTODOS: A atividade fosfohidrolítica de preparação de promastigotas pré-incubada por 60 min com pentamidina (1-1000 μM) foi medida usando meio de reação padrão e os substratos ATP e ADP. O fosfato inorgânico liberado foi quantificado pelo método de Taussky. A proteína pura foi obtida por solubilização de promastigotas em DOC(0,2%)/TritonX-100(0,2%) e fracionamento por eletroforese em gel de poliacrilamida contendo os mesmos detergentes. A NTPDase1 foi localizada *in situ* por depósito de fosfato de cálcio sobre a banda ativa. As bandas de mesma mobilidade, paralelas, foram removidas do gel, lavadas em tampão de reação contendo C12E9 e pré-incubadas com pentamidina (1-10 μM). A atividade fosfohidrolítica foi medida. Cortes de outras áreas do gel foram usados como controle. O experimento foi repetido duas vezes, usando triplicatas. RESULTADOS: As atividades ATPásica ($13 \pm 2 \text{ nmol Pi.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) e ADPásica ($12 \pm 3 \text{ nmol Pi.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$) da preparação de promastigotas foram progressivamente inibidas e dependentes de concentração, sugerindo $K_i \sim 100 \mu\text{M}$. As atividades ATPásica ($45 \pm 7 \text{ nmol Pi.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$) e ADPásica ($60 \pm 9 \text{ nmol Pi.ml}^{-1}.\text{min}^{-1}$) da NTPDase1 pura foram inibidas de 30-90% na presença de 1-10 μM de pentamidina. CONCLUSÃO: A NTPDase1 de *L. infantum* é susceptível à pentamidina, e a inibição de sua atividade catalítica pode ser um dos mecanismos de ação deste composto leishmanicida. Estudos adicionais estão sendo efetuados com a NTPDase1 de amastigotas, usando 2 cepas diferentes. Apoio: FAPEMIG; CNPq; CAPES; IOC/FIOCRUZ; PROQUALI/BIC/UFJF.