



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RAQUEL PINHEIRO DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LEISHMANICIDA IN VITRO DE LECTINAS DE
ALGAS MARINHAS CONTRA *Leishmania braziliensis***

FORTALEZA
2021

RAQUEL PINHEIRO DO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LEISHMANICIDA IN VITRO DE LECTINAS DE ALGAS
MARINHAS CONTRA *Leishmania braziliensis*

Monografia apresentada ao curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Ticiane Monteiro Abreu.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

N198a Nascimento, Raquel Pinheiro do.
Avaliação do potencial leishmanicida in vitro de lectinas de algas marinhas contra leishmania braziliensis / Raquel Pinheiro do Nascimento. – 2021.
47 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências,
Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2021.
Orientação: Profa. Dra. Ticiano Monteiro Abreu.

1. Algas marinhas. 2. Lectina. 3. Leishmania braziliensis. I. Título.

CDD 570

RAQUEL PINHEIRO DO NASCIMENTO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL LEISHMANICIDA IN VITRO DE LECTINAS DE ALGAS
MARINHAS CONTRA *Leishmania braziliensis*

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 31/08/2021.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Ticiania Monteiro Abreu (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Naya Lúcia de Castro Rodrigues

Me. Anderson Gomes Agostinho
Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

Ao meu avô, Francisco Amadeu (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

A mim, primeiramente, por ter conseguido chegar até aqui, apesar de todos os obstáculos e dificuldades. Pela coragem de seguir em frente e dar mais um passo em direção ao futuro.

Aos meus pais, Francileuda Pinheiro e Carlos Alberto, por sempre me oferecerem todo suporte e estarem presentes quando preciso de ajuda. Por sempre me apoiarem em minhas decisões, me aconselharem, torcerem e acreditarem em mim. À minha irmã e melhor amiga, Clarissa Pinheiro, por sempre estar ao meu lado, seja nos momentos bons ou ruins, por me ajudar em tudo que pode, por todos os momentos de felicidade e por ser essa irmã e amiga que sempre posso confiar.

Ao meu amor, Davi Lima, por esses sete anos de muito amadurecimento, respeito, paciência, carinho, amizade e apoio. Por estar ao meu lado durante esse período lindo e complicado que foi a graduação, por sempre me ouvir falar da faculdade por horas, apesar de muitas vezes não entender do que eu estou falando, e por me dar suporte e força sempre que eu pensei em desistir.

Às minhas amigas, Alessandra Franco, Amanda Carneiro e Joyce Félix por todo o apoio que nos damos desde o primeiro semestre. Por tudo que já passamos juntas durante esses anos difíceis e maravilhosos, todas as tardes de estudo, todas as conversas, todos os desabafos, as noites de jogos e todos os momentos difíceis e que pensamos em desistir, mas que enfrentamos graças ao apoio que nos demos. Tenho certeza de que não teria chegado até aqui sem o apoio, a amizade e os momentos que passamos juntas.

À Profa. Dra. Maria Jânia Teixeira, por ter confiado e me recebido de braços abertos no Laboratório de Parasitologia. Pelo carinho, compreensão, empatia e por sempre oferecer sua ajuda. Por ser essa professora e profissional inspiradora que fez toda diferença no rumo da minha vida acadêmica e como futura profissional.

À Profa. Dra. Ticiane Monteiro Abreu, pela excelente orientação, por confiar em mim, pelas valiosas sugestões e por me oferecer todo o suporte na realização do trabalho. Pelo conhecimento transmitido, pela paciência, disponibilidade, empatia e compreensão. Por ser essa profissional dedicada e responsável, uma grande inspiração na minha vida acadêmica e como futura profissional.

À Profa. Dra. Norma Maria Barros Benevides do Laboratório de Carboidratos e Lectinas (CARBOLEC) – UFC, por ter disponibilizado as lectinas para a realização dos experimentos.

À Dra. Naya Lúcia de Castro Rodrigues e ao Me. Anderson Gomes Agostinho, por terem aceitado o convite para participar da banca examinadora e pelas valiosas colaborações.

Ao Charles Matias, por toda a assistência nos experimentos, por tudo que me ensinou, tanto na teoria como na prática, pela disponibilidade em me ajudar, me esclarecer dúvidas, me corrigir quando erro e me incentivar quando acerto. Pelas conversas, amizade, paciência e ensinamentos. À Naya Rodrigues e ao Rafael Marciano por toda a ajuda, explicações, ensinamentos valiosos, sugestões e suporte sempre que foi preciso. À Dorotheia Teixeira e ao Thayllan Bezerra, por tudo que me ensinaram e auxiliaram.

A todos os profissionais e estudantes que fazem parte do Setor de Parasitologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal, pelo acolhimento, convívio diário, suporte nos experimentos e disponibilidade em ajudar sempre que necessário.

Ao grupo de estudos inFLORA, pelas tardes de estudos, excursões, debaixo de sol ou de chuva, por ter tido a oportunidade de ser organizadora e por todo conhecimento adquirido e compartilhado.

À Universidade Federal do Ceará, pelo ensino público de qualidade, e aos professores do curso de Ciências Biológicas, por tudo que aprendi, dentro e fora da sala de aula, o que me permitiu amadurecimento como profissional e como ser humano. À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) em convênio com a UFC, pelo fornecimento de bolsas de estudos para o desenvolvimento dos projetos durante a graduação.

“A ciência, para mim, explica parte da vida. Até onde chega, se baseia em acontecimentos, experiências e experimentos”

Rosalind Franklin.

RESUMO

A leishmaniose tegumentar está presente em quase todos os países da América e apresenta diversas formas clínico-epidemiológicas. É uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por diversas espécies do gênero *Leishmania*, sendo a *L. braziliensis* o principal causador dessa zoonose no Brasil. Essa doença acomete pele e mucosas e seu agente etiológico é um parasito celular obrigatório que apresenta as formas promastigota e amastigota. Ela afeta, principalmente, populações de baixa renda e, por conta disso, o conhecimento produzido por pesquisas não se reverte em avanços terapêuticos, já que o reduzido potencial lucrativo reflete em um baixo interesse da indústria farmacêutica. O tratamento atual da leishmaniose é restrito a drogas com graves efeitos colaterais e, cada vez mais, apresentando casos de resistência do parasita. Dessa forma, novos compostos eficazes de origem natural, com menos efeitos adversos, têm sido alvo de pesquisas. Dentre esses compostos destacam-se as lectinas, que são proteínas com capacidade de se ligarem reversivelmente a carboidratos e que têm apresentado diversas atividades farmacológicas, como antioxidantes, anti-inflamatórias, antiparasitárias e imunomoduladoras. Diante do exposto, avaliou-se a citotoxicidade e o efeito leishmanicida *in vitro* das lectinas das algas *Solieria filiformis* (LSf) e *Caulerpa cupressoides* (LCc) contra promastigotas de *L. braziliensis*. A citotoxicidade das lectinas nas concentrações de 5, 10, 25, 50 e 100 µg/mL foi avaliada por teste de MTT em macrófagos da linhagem J774, por 24 e 48 h. O efeito leishmanicida foi avaliado após a incubação das lectinas (5, 10, 25, 50 e 100 µg/mL) com a *L. braziliensis* (10^7 promastigotas/mL), por 24 e 48 h. Os resultados dos testes foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) e foi considerado significativo $p < 0,05$ (ANOVA; Teste de Tukey). Nenhuma das concentrações testadas das lectinas apresentou citotoxicidade relevante, após 24 e 48 h. Além disso, foi demonstrada atividade leishmanicida de ambas as lectinas em todas as concentrações testadas, principalmente, após 48 h. Portanto, tanto a LSf como a LCc demonstraram ser moléculas não citotóxicas e com grande potencial contra parasitas de *L. braziliensis*. Esses resultados apontam o efeito promissor dessas lectinas para o desenvolvimento de novos medicamentos que possam ser utilizados no tratamento da leishmaniose tegumentar.

Palavras-chave: algas marinhas; lectinas; *Leishmania braziliensis*.

ABSTRACT

Tegumentary leishmaniasis is present in almost every country in America and has different clinical and epidemiological forms. It is an infectious and non-contagious disease caused by several species of the genus *Leishmania*, with *L. braziliensis* being the main cause of this zoonosis in Brazil. This disease affects the skin and mucous membranes and its etiological agent is an obligatory cellular parasite that presents the promastigote and amastigote forms. It mainly affects low-income populations and, because of that, the knowledge produced by researches does not revert to therapeutic advances, since the reduced profit potential reflects in a low interest of the pharmaceutical industry. The current treatment for leishmaniasis is restricted to drugs with serious side effects and, increasingly, presenting cases of parasite resistance. Thus, new effective compounds of natural origin, with fewer adverse effects, have been the subject of research. Among these compounds, lectins stand out, which are proteins capable of reversibly binding to carbohydrates and which have shown several pharmacological activities, such as antioxidants, anti-inflammatory, antiparasitic and immunomodulatory. Given the above, the in vitro cytotoxicity and leishmanicidal effect of the lectins from the algae *Solieria filiformis* (SfL) and *Caulerpa cupressoides* (CcL) against *L. braziliensis* promastigotes were evaluated. The lectins cytotoxicity at concentrations of 5, 10, 25, 50 and 100 µg/mL was evaluated by MTT test in macrophages of the J774 lineage for 24 and 48 h. The leishmanicidal effect was evaluated after incubation of these lectins (5, 10, 25, 50 and 100 µg/mL) with *L. braziliensis* (10^7 promastigotes/mL) for 24 and 48 h. Test results were expressed as mean \pm standard error of the mean (S.E.M.) and $p < 0.05$ was considered significant (ANOVA; Tukey's test). None of the tested concentrations of the lectins showed relevant cytotoxicity after 24 and 48 h. Furthermore, leishmanicidal activity of both lectins was demonstrated at all concentrations tested, mainly after 48 h. Therefore, both SfL and CcL showed to be non-cytotoxic molecules and with great potential against *L. braziliensis* parasites. These results point to the promising effect of these lectins for the development of new drugs that can be used in the treatment of tegumentary leishmaniasis.

Keywords: lectins; marine algae; *Leishmania braziliensis*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Ciclo de vida de <i>Leishmania</i> sp.	18
Figura 2	– Avaliação da citotoxicidade das lectinas em macrófagos.	34
Figura 3	– Avaliação da atividade leishmanicida das lectinas contra formas promastigotas de <i>L. braziliensis</i>	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANF B	Anfotericina B
CG	Carragenina
COX-2	Ciclooxigenase-2
DMSO	Dimetilsulfóxido
GLU	Glucantime
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPV	Papilomavírus Humano
HSV-2	Herpes simplex vírus tipo 2
IFN	Interferon
IL	Interleucina
KM +	Lectina de <i>Artocarpus integrifolia</i>
LC	Leishmaniose cutânea
LD	Leishmaniose cutânea disseminada
LM	Leishmaniose mucosa
LT	Leishmaniose tegumentar
LV	Leishmaniose visceral
LTA	Leishmaniose tegumentar americana
LCc	Lectina da <i>Caulerpa cupressoides</i>
LCD	Leishmaniose cutânea difusa
LCL	Leishmaniose cutânea localizada
LSf	Lectina da <i>Solieria filiformis</i>
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PBS	Tampão Fosfato Salino
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RPMI	Roswell Park memorial Institute
SBF	Soro Bovino Fetal
Th	Célula T auxiliar
TNF	Fator de Necrose Tumoral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Leishmanioses	14
1.2	Leishmaniose tegumentar	15
1.3	Lectinas de algas marinhas	20
2	JUSTIFICATIVA	25
3	OBJETIVOS	27
3.1	Objetivo geral	27
3.2	Objetivos específicos	27
4	METODOLOGIA	28
4.1	Materiais	28
4.1.1	<i>Algas marinhas</i>	28
4.1.2	<i>Parasitas</i>	28
4.1.3	<i>Drogas, reagentes e meios de cultura</i>	28
4.2	Métodos	29
4.2.1	<i>Extração e isolamento das lectinas</i>	29
4.2.2	<i>Avaliação da citotoxicidade das lectinas</i>	31
4.2.3	<i>Avaliação do efeito leishmanicida em promastigotas</i>	31
4.2.4	<i>Análises estatísticas</i>	32
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1	Avaliação da citotoxicidade das lectinas	33
5.2	Avaliação do efeito leishmanicida em promastigotas	35
6	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

1.1 Leishmanioses

As leishmanioses representam um grupo de doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania* que são transmitidos por insetos vetores denominados flebotomíneos, em que cada espécie desse parasita tem coevoluído para transmissão por uma ou mais espécies do vetor (ASHWIN *et al.*, 2021). Atualmente, estima-se que mais de 1 bilhão de pessoas estão sob risco de infecção, por residirem em áreas endêmicas para leishmaniose, e que ocorram de 700.000 a 1 milhão de novos casos anualmente (WHO, 2019, 2021).

A leishmaniose é considerada uma das doenças negligenciadas (DNs), que são condições infecciosas altamente prevalentes com uma mortalidade relativamente baixa, mas com alto grau de morbidade (SOUSA *et al.*, 2020). Essas doenças se concentram em regiões do mundo marcadas pela pobreza e pelo subdesenvolvimento, e afetam, principalmente, pessoas que vivem em áreas remotas de ambientes urbanos e rurais. São consideradas negligenciadas devido ao baixo financiamento em estudos e pela falta de interesse da indústria farmacêutica, por conta do baixo potencial lucrativo, visto que a população atingida é, majoritariamente, de baixa renda (ROSÁRIO *et al.*, 2017).

A ocorrência das leishmanioses envolve uma relação estreita entre as condições microecológicas e a cadeia epidemiológica. Dessa forma, alterações ambientais, naturais ou por ações antrópicas, podem influenciar na sua incidência e expansão, devido à aproximação do ser humano com os ciclos zoonóticos silvestres. A transmissão em várias localidades brasileiras ocorre, comumente, em regiões praticamente desmatadas, já que, dessa forma, o ser humano se insere no ciclo epidemiológico da leishmaniose, favorecendo a ação do vetor em áreas periurbanas. Dessa maneira, os insetos vetores que estão infectados pelo protozoário causador da leishmaniose encontram um ambiente propício para realizar a transmissão da doença (AMARO; COSTA, 2017).

O agente etiológico da leishmaniose é um parasito intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear, como macrófagos, que apresenta duas formas principais: promastigota, que é encontrada no tubo digestivo do inseto vetor, e amastigota, que é observada nos tecidos dos hospedeiros vertebrados (BRASIL, 2017). As manifestações clínicas da leishmaniose dependem da complexidade da interação entre o tipo de protozoário, ou seja, a espécie de *Leishmania* e o sistema imunológico do hospedeiro (BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017). Essas manifestações podem se apresentar como forma

visceral (LV), considerada a mais fatal, quando não tratada, ou formas tegumentares (LT), que são as mais comuns (XAVIER; MENDES; ROSSI-BARBOSA, 2016).

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença sistêmica, crônica e potencialmente fatal. Nas Américas, a *Leishmania (Leishmania) infantum* é a espécie envolvida na transmissão dessa doença. Reservatórios urbanos (como cães), silvestres (como raposas e marsupiais) e vetores (*Lutzomyia longipalpis*) estão presentes no ciclo de transmissão, sendo, dessa forma, caracterizada como uma antroponose (BRASIL, 2021). É endêmica em 13 países das Américas e, em 2019, 97% dos casos registrados foram notificados no Brasil (OPAS, 2020). Acomete, principalmente, adultos jovens de 20 a 49 anos. Ademais, a taxa de letalidade por LV no país, em 2019, foi de 9%, considerada a mais alta dos últimos 10 anos (BRASIL, 2021).

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é subdividida nas formas cutânea localizada (LCL), mucosa (LM), cutânea difusa (LCD) e cutânea disseminada (LD) (SCORZA; CARVALHO; WILSON, 2017). Inicialmente, a LTA era considerada uma zoonose de animais silvestres que acometia ocasionalmente pessoas em contato com florestas, mas passou a ser notificada em zonas rurais e regiões periurbanas (BRASIL, 2017). A LTA está presente em todo o território brasileiro, e, em 2019, apresentou maiores percentuais de casos registrados na Região Norte (42,8%). Neste mesmo ano, os adultos jovens de 20 a 49 anos foram os mais acometidos no Brasil (54,9%). Ademais, em 2019, do total de casos notificados, 5,3% apresentavam a forma mucosa e em 0,9% houve coinfeção com HIV (BRASIL, 2021). A leishmaniose tegumentar no Brasil apresenta uma diversidade de agentes, reservatórios e vetores, além de exibir diferentes padrões de transmissão e um conhecimento, até então, limitado sobre alguns aspectos, o que dificulta seu controle (BRASIL, 2017).

De 2001 a 2019, 1.028.054 novos casos de LTA foram notificados à Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) por países endêmicos das Américas. Dos 18 países endêmicos das Américas, o Brasil, em 2019, foi o país com maior número de casos notificados à OPAS (15.484) (OPAS, 2020).

1.2 Leishmaniose tegumentar

A LT constitui um problema de saúde pública em 85 países e é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) uma das seis mais importantes doenças infecciosas, pelo seu alto coeficiente de detecção e capacidade de produzir deformidades (BRASIL, 2017). Essa doença, nos últimos 20 anos, tem apresentado grande crescimento, tanto em número de casos como em disposição geográfica, em todas as regiões brasileiras (VASCONCELOS *et al.*, 2018).

É uma das afecções dermatológicas que mais merece atenção no Brasil, pela sua magnitude e pelo risco de ocorrência de deformidades, além do envolvimento psicológico, com reflexos no campo social e econômico, já que pode, na maioria dos casos, ser considerada uma doença ocupacional (BRASIL, 2017). É uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por diversas espécies do gênero *Leishmania*, sendo, no Brasil, a *L. braziliensis* de maior abrangência e o principal causador dessa zoonose (VASCONCELOS; ARAÚJO; ROCHA, 2017).

Os vetores da LT são insetos denominados flebotomíneos, conhecidos como mosquito-palha, tatuquira, birigui entre outros, dependendo da região geográfica, e que pertencem à Ordem *Diptera*, Família *Psychodidae*, Subfamília *Phlebotominae*, Gênero *Lutzomyia* (BRASIL, 2017). No Brasil, *Lutzomyia whitmani* tem sido o vetor mais comum de *L. braziliensis* (SILVA *et al.*, 2019).

A LT é descrita em quase todos os países americanos, desde o sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina, exceto no Chile e Uruguai, apresentando diversas formas clínico-epidemiológicas com estreita relação a condições florísticas e faunísticas (PEZENTE; BENEDETTI, 2019). Afetando populações vulneráveis do ponto de vista socioeconômico e atingindo principalmente a população de baixa renda, apresentando coeficiente de detecção entre indígenas e negros 18 e 3,4 vezes maior, respectivamente, do que o apresentado pela população de raça/cor branca. Más condições de moradia e mobilidade, analfabetismo, deficiências no sistema imunológico e a desnutrição são ainda alguns dos aspectos que estão relacionados à LT. A população afetada, em sua maioria, vive em áreas de difícil acesso e o estigma social ocasionado pelas deformidades e cicatrizes desfigurantes, a mantém privada do devido acolhimento (BRASIL, 2021).

A LT é uma doença que acomete pele e mucosas e as manifestações clínicas dependem de alguns fatores, como a espécie de *Leishmania* envolvida e a relação do parasita com seu hospedeiro (GONTIJO; CARVALHO, 2003).

A forma cutânea localizada (LCL) se manifesta através de uma lesão geralmente do tipo úlcera, podendo ser única ou múltipla, com tendência à cura espontânea e apresenta uma boa resposta ao tratamento. Todas as espécies de *Leishmania* que estão relacionadas ao comprometimento tegumentar podem ocasionar a LCL, podendo haver diferentes prevalências entre as espécies, dependendo da região geográfica (COSTA *et al.*, 2009).

A forma cutânea disseminada (LD) é uma forma de expressão clínica relativamente rara que pode ser observada em até 2% dos casos de LT. As duas espécies reconhecidas como causadoras são a *L. braziliensis* e a *L. amazonensis*. É caracterizada pelo aparecimento de

múltiplas lesões papulares e de aparência acneiforme que acometem vários segmentos corporais, envolvendo com frequência a face e o tronco. Inicialmente o paciente apresenta uma ou várias lesões localizadas com características clássicas de úlceras de fundo granuloso e bordas elevadas. Após o desenvolvimento das lesões primárias ocorre um fenômeno mais ou menos agudo provavelmente por disseminação do parasito por via hemática ou linfática, que se estabelece em poucos dias, causando lesões distantes do local da picada (COSTA *et al.*, 2009).

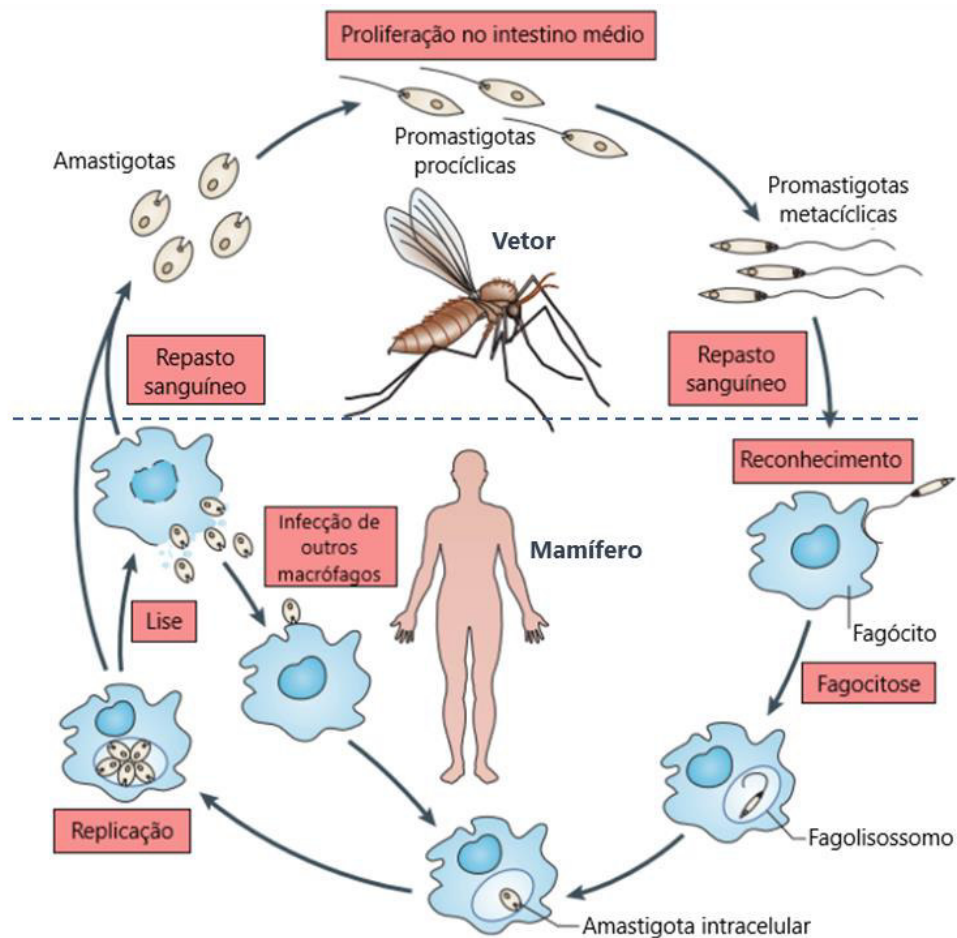
A forma cutânea difusa (LCD) representa uma forma clínica mais rara, estando diretamente ligada a pacientes com uma deficiência imunológica a antígenos de *Leishmania*. Surge com apenas uma lesão e evolui de forma lenta, com a formação de placas e várias nodulações não ulceradas, abrangendo grandes superfícies cutâneas (VASCONCELOS *et al.*, 2018). Nas Américas, está associada à *L. amazonensis*, podendo ser causada também pela *L. mexicana* (BARROSO *et al.*, 2018).

A forma mucosa (LM) é considerada a forma mais grave de LTA que pode causar destruição progressiva de cartilagens e estruturas ósseas da face, faringe e laringe. Caracterizada por lesões na mucosa de nasofaringe e de septo, culminando muitas vezes na perfuração do mesmo. Tem como principal agente causador a *L. braziliensis*, podendo também ser causada pela *L. amazonensis* (SANTOS, 2018).

A *L. (Viannia) braziliensis* foi a primeira espécie de *Leishmania* descrita e incriminada como agente etiológico da LT no continente americano. É a mais importante, não só no Brasil, mas em toda a América Latina. Tem ampla distribuição, desde a América Central até o norte da Argentina e está distribuída em todo Brasil (BRASIL, 2017). Os parasitos intracelulares do subgênero *Viannia* têm tamanho relativamente pequeno (em torno de 2-4 µm, no maior diâmetro da forma amastigota) e não apresentam tropismo visceral (REY, 2008).

Os protozoários do gênero *Leishmania* apresentam um ciclo de vida heteroxênico, vivendo alternadamente em hospedeiros vertebrados e insetos vetores, estes responsáveis pela transmissão dos parasitas, a qual ocorre durante o repasto sanguíneo das fêmeas. No hospedeiro mamífero, as formas promastigotas metacíclicas (formas infecciosas) são introduzidas na pele pela picada do flebotomíneo. Estas formas são fagocitadas por neutrófilos e macrófagos e se transformam em amastigotas intracelulares que se replicam em fagolisossomos, até serem liberadas para infectar novas células. O ciclo se completa quando o flebotomíneo se infecta com as amastigotas circulantes no sangue do mamífero, ao realizar o repasto sanguíneo, e as promastigotas procíclicas, de crescimento exponencial, se diferenciam, dentro do intestino do vetor, em promastigotas metacíclicas, de fase estacionária, sendo estas as formas infectantes (FIGURA 1) (GONTIJO; CARVALHO, 2003; GOSSAGE; ROGERS; BATES, 2003).

Figura 1 - Ciclo de vida de *Leishmania* sp.



Fonte: KAYE; SCOTT, 2011. Adaptado.

No trato digestivo do vetor, os parasitas do subgênero *Viannia* apresentam desenvolvimento peripilar, o qual, além do intestino médio e anterior, inclui uma fase de desenvolvimento no intestino posterior. Dessa forma, o parasito, em seu ciclo de vida, apresenta três estágios principais: amastigotas, formas que possuem o flagelo internalizado, e promastigotas procíclicas e metacíclicas, formas que possuem o flagelo externo, na porção anterior do corpo (GOSSAGE; ROGERS; BATES, 2003).

Apesar dos macrófagos serem células fagocitárias especializadas no combate a agentes infecciosos, esses parasitos desenvolvem mecanismos de defesa capazes de subverter sua capacidade microbicida e, dessa forma, conseguem sobreviver e multiplicar-se nesse ambiente potencialmente tóxico. Essa multiplicação ocorre até a ruptura da célula, sendo liberados para infectar outros macrófagos e propagar a infecção, processo que leva à liberação de partículas antigênicas que serão apresentadas ao sistema imune, gerando uma resposta específica. As formas promastigotas que não forem internalizadas serão destruídas no meio

extracelular pela resposta inata, e as partículas antigênicas produzidas nesse processo também serão utilizadas pelas células apresentadoras de antígeno no processo de reconhecimento antigênico. É provavelmente nesse momento em que características como intensidade e qualidade da resposta imune são definidas, influenciando a evolução da doença para cura espontânea, formas autolimitadas ou formas progressivas (BRASIL, 2017).

A resposta imune mediada por células T tem um papel fundamental no controle ou desenvolvimento da infecção e depende das citocinas secretadas pelas células da imunidade inata no início da infecção. Dependendo do estímulo recebido, as células T CD4+ *naïve* podem se diferenciar em células T auxiliares do tipo 1 (Th1) ou tipo 2 (Th2), caracterizadas pelo perfil de citocinas que produzem. As células do tipo Th1 são produtoras de citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon-gama (IFN- γ), capazes de aumentar a produção de óxido nítrico sintase (NOS) 2 e, conseqüentemente, a produção de óxido nítrico (NO), o que pode levar à destruição do parasito. O estímulo para a diferenciação das células T em Th1 na infecção por *Leishmania* é a interleucina (IL) 12, produzida pelos macrófagos e células dendríticas, que aumenta a expressão de outras citocinas, como IL-1 α , IL-18, IL-23 e IL-27. Já as células Th2 produzem as citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, que induzem a produção de imunoglobulinas e a inibição da inflamação, promovendo o desenvolvimento da infecção (OZAKY, 2018).

Diversas evidências apontam que as citocinas IFN- γ e TNF- α são importantes não somente para o controle da leishmaniose, controlando a multiplicação do parasito, como também podem estar envolvidas na patogênese da doença. A magnitude da resposta imune na LTA depende, sobretudo, da duração da doença, espécie do parasito, espécie do vetor envolvido e do hospedeiro (PASSOS, 2006). Na LCL existe uma quantidade abundante de ambos os padrões de citocinas, embora nos monócitos coletados de sangue periférico apresentem um padrão de secreção de citocinas Th1. O processo imune gera um infiltrado inflamatório que promove a formação ulcerosa cutânea, explicando o aspecto da lesão. Na forma cutânea difusa existe uma predominância de resposta Th2 durante toda a doença, o que leva ao processo crônico não-ulceroso (NETO, 2011). Indivíduos com leishmaniose mucosa apresentam altos níveis de TNF- α e IFN- γ , resposta linfoproliferativa e resposta ao teste de intradermorreação de Montenegro maiores do que aqueles encontrados nos pacientes com LCL (PASSOS, 2006).

Apesar da LT não causar risco de vida, as lesões desfigurantes causadas podem ter como consequência a estigmatização das pessoas afetadas, podendo resultar na exclusão, educação precária e perdas econômicas, tudo isso, em populações com recursos limitados. Pode, também, tornar-se disseminada e debilitante em pessoas imunodeprimidas (como pacientes

afetados pelo vírus da imunodeficiência humana - HIV). Ademais, dentre os novos casos relatados anualmente, poucos recebem tratamento (CAETANO *et al.*, 2019).

A terapia medicamentosa para a leishmaniose visa a garantia da adesão ao tratamento, o alívio dos sintomas, a administração dos fármacos com segurança e a minimização de efeitos adversos (SANTIAGO; PITA; GUIMARÃES, 2021).

O medicamento de primeira escolha é o antimonial pentavalente, sendo Glucantime® o usado no Brasil, entretanto, ele apresenta a uma alta toxicidade e um crescente registro de casos de resistência dos parasitos. Os efeitos adversos desse medicamento incluem: mialgia, vômito, febre, dor abdominal, hepatite, pancreatite, insuficiência renal aguda etc. Quando o paciente não responde ao tratamento com o antimonial pentavalente ou apresenta alguma contraindicação, como pacientes que apresentam cardiopatias, hepatopatias, nefropatias ou durante a gravidez, a Anfotericina B é recomendada como medicamento de segunda escolha. Apesar de sua alta eficiência, a Anfotericina B apresenta efeitos adversos importantes, como nefrotoxicidade, febre alta, entre outros, e formulações menos tóxicas apresentam um custo maior. Além disso, a via de administração desse medicamento requer hospitalização do paciente, tornando o tratamento mais caro (FERREIRA, 2019; LIMA *et al.*, 2007).

Nesse contexto, o tratamento da leishmaniose é restrito a algumas drogas extremamente tóxicas, bastante caras e cada vez mais desafiadas pelo desenvolvimento de resistência do parasito às drogas. Além disso, o tratamento é complicado por diferenças específicas dependendo da espécie de *Leishmania*, resultando em suscetibilidades variáveis aos medicamentos em determinadas localizações geográficas. Por isso, a pesquisa e o desenvolvimento de drogas menos tóxicas, mais eficientes, menos caras e mais fáceis de administrar são fundamentais para o tratamento da leishmaniose em países endêmicos, como o Brasil (COSTA *et al.*, 2014). Diante do exposto, novos compostos de origem natural, que se mostrem eficazes no tratamento e apresentem menos efeitos adversos, têm sido de grande importância. Dentre esses compostos destacam-se as lectinas, que apresentam diversas atividades farmacológicas e um amplo potencial terapêutico.

1.3 Lectinas de algas marinhas

As algas marinhas são seres fotossintetizantes que habitam os ambientes aquáticos e possuem grande importância ecológica no meio marinho, sendo uma das principais responsáveis pela produtividade primária nas regiões costeiras. Podem ser microscópicas ou macroscópicas, que são classificadas com base na sua coloração, característica que as

distinguem em algas vermelhas (Filo Rhodophyta), algas verdes (Filo Chlorophyta) e algas pardas (Filo Ochrophyta) (BASÍLIO, 2020). São usadas, em muitos países, na indústria de alimentos e servem como fonte de fibras, minerais, vitaminas e antioxidantes. Adicionalmente, elas contêm numerosos compostos químicos que mostraram ter importantes aplicações biológicas, como as lectinas (ABREU *et al.*, 2016).

Lectinas são proteínas ou glicoproteínas de origem não imune, contendo pelo menos um domínio não catalítico que se liga reversivelmente a mono ou oligossacarídeos específicos (PEUMANS; VAN DAMME, 1995). São classificadas de acordo com sua capacidade para se ligar reversivelmente a açúcares simples ou carboidratos complexos. A capacidade das lectinas de interagir com carboidratos permite diversas aplicações biológicas, tais como antivirais, antitumorais, anti e pró-inflamatórias e inseticidas (CARNEIRO *et al.*, 2020; CAVADA *et al.*, 2020).

As lectinas já foram isoladas de uma diversidade de organismos, como plantas, animais, fungos, bactérias e protozoários (SINGH; WALIA; KENNEDY, 2019). Nas plantas, as lectinas estão envolvidas em funções relacionadas à defesa e seus papéis na resposta da planta a estresses bióticos e abióticos têm sido bem estabelecidos (MORADI *et al.*, 2021). Nos vertebrados, essas proteínas desempenham papel na defesa inata, como as lectinas do tipo C (TAKAHASHI; EZEKOWITZ, 2005). Também desempenham um papel crucial no reconhecimento e na comunicação das células imunológicas, sendo importantes na imunorregulação (KÉRY, 1991). Além disso, apresentam grande importância na interação patógeno-hospedeiro e no desenvolvimento e sinalização celular (SHARON; LIS, 2004). Nos últimos anos, as algas marinhas têm sido consideradas importantes novas fontes de lectinas e uma grande quantidade de lectinas desses organismos tem sido isolada e caracterizada (WU *et al.*, 2016).

A literatura tem relatado que as lectinas de algas marinhas apresentam diversas atividades biológicas e farmacológicas. As lectinas das algas marinhas vermelhas *Pterocladia capillacea* e *Hypnea cervicornis* apresentaram propriedades anti-inflamatórias e antinoceptivas (BITENCOURT *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2010), sendo esta capaz de inibir a hipernocepção inflamatória, aparentemente envolvendo a inibição da migração de neutrófilos e o aumento da produção de NO (FIGUEIREDO *et al.*, 2010). E a lectina da alga vermelha *Bryothamnion triquetrum* apresentou ação anti-inflamatória pela inibição da migração de neutrófilos através da supressão da produção de TNF- α e IL-1 β (FONTENELLE *et al.*, 2018). As lectinas da alga vermelha *B. seaforthii* e da alga marrom *Hizikia fusiformis* apresentaram atividades antioxidantes (ALVES *et al.*, 2020; WU *et al.*, 2016).

As lectinas das algas marinhas vermelhas *B. triquetrum* e *B. seaforthii* foram eficazes na diferenciação de variantes de células de carcinoma do cólon humano em relação aos seus glicorreceptores de membrana e apresentaram propriedades importantes para entrega de medicamentos (PINTO *et al.*, 2009). A lectina da alga marinha vermelha *Euchema serra* demonstrou ser uma droga anticâncer eficaz em células de adenocarcinoma do cólon de camundongos BALB/c *in vitro* e *in vivo* (FUKUDA *et al.*, 2006).

A lectina da alga vermelha *Griffithsia* sp. apresentou ação antiviral contra HIV, com baixa citotoxicidade *in vitro* (EMAU *et al.*, 2007; MORI *et al.*, 2005), e apresentou atividade antiviral *in vitro*, quando combinada com carragenina (CG), contra o vírus herpes simplex 2 (HSV-2) e o papilomavírus humano (HPV) (LEVENDOSKY *et al.*, 2015). A lectina da alga verde *Boodlea coacta* demonstrou potente atividade anti-HIV *in vitro* e anti-influenza contra diversas cepas (SATO *et al.*, 2011). A lectina da alga vermelha *H. musciformis* apresentou atividade antifúngica contra o fungo dermatófito *Trichophyton rubrum* e o fitopatógeno *Colletotrichum lindemuthianum* (MELO *et al.*, 1997), e contra os patógenos humanos *Candida albicans* e *C. guilliermondii* (CORDEIRO *et al.*, 2006). As lectinas também apresentaram atividade antibacteriana (HOLANDA *et al.*, 2005; LIAO *et al.*, 2003) e imunomoduladora (ABREU *et al.*, 2012).

Estudos sobre o efeito de lectinas de plantas contra protozoários de *Leishmania* estão mais avançados. A lectina de *Parkia pendula* apresentou efeito leishmanicida e inibiu significativamente o crescimento de promastigotas de *L. infantum* (CARNEIRO *et al.*, 2020). Além disso, um estudo demonstrou que camundongos imunizados com lectina KM+ de *Artocarpus integrifolia* foram capazes de controlar a infecção por *L. amazonensis*. Neste estudo, as lectinas de *Canavalia brasiliensis*, *Pisum arvense* e *A. integrifolia* foram capazes de induzir a produção de IFN- γ . No mesmo estudo, foi demonstrado que a lectina de *A. integrifolia* induziu a produção de IL-12p40 por macrófagos e as lectinas de *C. brasiliensis* e *P. arvense* foram capazes de estimular diretamente macrófagos e linfócitos murinos *in vitro* e *in vivo* a produzir NO (TEIXEIRA *et al.*, 2006). A lectina de *C. brasiliensis* reduziu as lesões em camundongos BALB/c infectados por *L. amazonensis* (BARRAL-NETTO *et al.*, 1996) e a lectina de *Synadenium carinatum* reduziu a proliferação de *L. amazonensis* (AFONSO-CARDOSO *et al.*, 2011). O tratamento de neutrófilos humanos com a lectina ArtinM de *Artocarpus heterophyllus* facilitou a eliminação de *L. major* por essas células (RICCI-AZEVEDO *et al.*, 2016).

A lectina de alga vermelha *Solieria filiformis* (Kützinger) P.W. Gabrielson foi purificada inicialmente por Benevides *et al.* (1996), apresentando atividade hemaglutinante não dependente de cátions divalentes, foi inibida por manana, avidina, ovoalbumina e *egg-white* e

o peso molecular foi estimado em 29 kDa, por eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de SDS e β -mercaptoetanol, sendo uma lectina monomérica. Além disso, apresentou teor de carboidrato de 1,5%, o que sugeriu que a lectina seria uma glicoproteína. Chaves *et al.* (2018) determinou a estrutura primária de duas isoformas dessa lectina (LSf-1 e LSf-2), com 4 domínios de repetição em tandem com aproximadamente 67 aminoácidos cada. Ambas as isoformas apresentaram especificidade a oligossacarídeos de alta manose, assim como as lectinas pertencentes à família de lectinas homólogas à aglutinina *Oscillatoria agardhii* (OAAH), além de características estruturais semelhantes a essa família.

A lectina da *S. filiformis* (LSf) apresenta atividades farmacológicas comprovadas. Apresentou efeito anticâncer em células de câncer de mama da linhagem MCF-7, induzindo apoptose dependente de caspase (CHAVES *et al.*, 2018) e efeito antibacteriano, sendo capaz de inibir o crescimento das bactérias patogênicas gram-negativas: *Serratia marcescens*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus* sp. e *Pseudomonas aeruginosa* (HOLANDA *et al.*, 2005). Além de demonstrar efeitos anti-inflamatórios, por induzir respostas imunes Th2 em esplenócitos de camundongo BALB/c, com a produção de altos níveis de IL-6 e IL-10 (ABREU *et al.*, 2012), e ter apresentado importantes efeitos antinoceptivos e antidepressivos (ABREU *et al.*, 2016, 2018).

A lectina da alga verde *Caulerpa cupressoides* var. *lycopodium* (LCc) foi purificada por Benevides *et al.* (2001), apresentando atividade hemaglutinante não dependente de cátions divalentes e sendo inibida pela galactose e alguns de seus derivados, além de ser fortemente inibida pela glicoproteína mucina do estômago de suínos. O peso molecular da LCc foi estimado em 44,7 kDa. Por eletroforese em gel de poliacrilamida na presença de SDS e β -mercaptoetanol, exibiu uma única banda de proteína com peso molecular de 23,158 kDa, sugerindo que é uma lectina dimérica. A estrutura primária da LCc ainda não foi determinada, entretanto Queiroz (2013) observou que a lectina apresenta 31 resíduos de aminoácidos na extremidade amino-terminal com a sequência: KGTCALDDRLEPGFARAGEAFRQTTAKDATS.

A LCc apresenta atividades farmacológicas comprovadas. Testes *in vivo* mostraram que a LCc exibiu importantes efeitos antinoceptivos e anti-inflamatórios (VANDERLEI *et al.*, 2010). Em testes *in vitro*, induziu respostas imunes Th2 em esplenócitos de camundongo, levando à produção de altos níveis de citocinas IL-10 e IL-6 e de NO (ABREU *et al.*, 2012). Foi demonstrado, ainda, que a LCc apresenta a ação anti-inflamatória envolvendo a inibição da expressão de IL-1 β , TNF- α , IL-6 e ciclooxigenase-2 (COX-2) e da inibição dos receptores H1 de histamina. Apresenta também ações pró-inflamatórias, quando administrada localmente

(QUEIROZ *et al.*, 2015). Além disso, se mostrou uma ferramenta promissora para diagnóstico de câncer em estudo com células cancerígenas da linhagem HL-60 (QUEIROZ *et al.*, 2016). E se mostrou eficaz na redução da nocicepção e da inflamação na articulação temporomandibular de ratos (RIVANOR *et al.*, 2014, 2018).

Apesar do potencial das lectinas LSf e da LCc como moléculas que apresentam diversas atividades farmacológicas não há relatos na literatura sobre o efeito dessas lectinas contra protozoários do gênero *Leishmania*.

2 JUSTIFICATIVA

A leishmaniose é uma doença tropical causada pelo parasita intracelular do gênero *Leishmania*, transmitido pelo vetor flebotomíneo, inseto pequeno pertencente à ordem *Diptera*. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que ela seja a segunda doença transmitida por insetos que mais mata no mundo. É considerada uma doença negligenciada com a grande maioria dos casos registrados em países subdesenvolvidos e possui baixos investimentos em pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos, geralmente, por atingir população de baixa renda (BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017).

O tratamento é realizado desde o início do século XX, mas ainda existem poucas drogas disponíveis. Os antimoniais pentavalentes são os medicamentos de primeira escolha, mas já não são tão eficazes visto que casos de resistência dos parasitos a essas drogas têm sido relatados. Além disso, existem relatos de diversos efeitos colaterais resultantes do tratamento e isso constitui a principal limitação dos pacientes na adesão à terapia antileishmania. Somada às severas consequências ocasionadas pela leishmaniose, os indivíduos podem desenvolver pancreatite, falência renal, doenças hepática e cardíaca, em virtude da alta toxicidade das drogas disponíveis (HOLANDA *et al.*, 2018).

Nesse contexto, a pesquisa por novos fármacos, principalmente de origem natural, que sejam menos tóxicos e mais eficientes tem sido de grande importância. As lectinas são exemplos desses compostos e podem ser encontradas em diversos organismos, como plantas, algas marinhas e invertebrados (QUEIROZ *et al.*, 2016). Diversos estudos comprovam que as lectinas apresentam diversas atividades biológicas, como a capacidade para modular a nocicepção e inflamação ou promover a inflamação (CAMPOS *et al.*, 2016; ROCHA *et al.*, 2011), inibir o crescimento de bactérias (CORIOLANO *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2019), além de apresentar efeitos cicatrizantes (CORIOLANO *et al.*, 2014) e como ferramenta diagnóstica promissora para o câncer (SILVA *et al.*, 2011). Em relação às propriedades antileishmania, as lectinas de plantas apresentaram efeitos relatados contra promastigotas de *L. infantum* (CARNEIRO *et al.*, 2020) e controlou a infecção por *L. amazonensis*, através da indução da produção de IFN- γ e NO (TEIXEIRA *et al.*, 2006).

Além disso, lectinas de algas também se mostram compostos promissores, apresentando diversas atividades farmacológicas. Estudos comprovaram, por exemplo, propriedades pró-cicatrizantes (NASCIMENTO-NETO *et al.*, 2012), antioxidantes (ALVES *et al.*, 2020) e larvicidas (CAVALCANTI *et al.*, 2021; LEITE *et al.*, 2005). A lectina da alga vermelha *Solieria filiformis* apresentou propriedades anti-inflamatórias (ABREU *et al.*, 2012),

anticâncer (CHAVES *et al.*, 2018) e antibacterianas (HOLANDA *et al.*, 2005). Já a lectina da alga verde *Caulerpa cupressoides* apresentou efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios (VANDERLEI *et al.*, 2010), além de potencial para o diagnóstico de câncer (QUEIROZ *et al.*, 2016). O que demonstra o grande potencial farmacológico dessas lectinas. Dessa forma, considerando o potencial leishmanicida das lectinas de plantas, ainda há muito a ser explorado em relação ao potencial das lectinas de algas, que têm sido pouco estudadas em comparação às lectinas de plantas. Uma vez que as lectinas das algas *Solieria filiformis* e *Caulerpa cupressoides* mostraram potencial imunomodulador e por não haver relatos na literatura sobre o efeito dessas lectinas contra *L. braziliensis*, este estudo pode evidenciar o potencial leishmanicida dessas lectinas contra esse parasito e pode fornecer subsídios para pesquisas com o intuito de formular novos medicamentos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar o potencial leishmanicida *in vitro* contra formas promastigota de *Leishmania braziliensis* e citotóxico das lectinas das algas marinhas *Solieria filiformis* (Kützing) P.W. Gabrielson e *Caulerpa cupressoides* var. *lycopodium*.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a citotoxicidade em macrófagos das lectinas das algas *S. filiformis* e *C. cupressoides*;
- Analisar o potencial leishmanicida *in vitro* das lectinas das algas *S. filiformis* e *C. cupressoides* contra as formas promastigotas de *L. braziliensis*.

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

4.1.1 Algas marinhas

A alga marinha vermelha *Solieria filiformis* (Kützing) P.W. Gabrielson foi coletada da área de cultivo situada na praia de Fleicheiras (3°13'06'' S; 39°16'47'' W), localizada no município de Trairí, a 130 km de Fortaleza, no litoral Oeste do Estado do Ceará, Brasil. Essa área tem, aproximadamente, 0,5 ha, com 3-5 m de profundidade e está a 200 m da costa. Essa espécie está depositada na forma de exsicata (n° 35.682) no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará - UFC.

A alga marinha verde *Caulerpa cupressoides* var. *lycopodium* foi coletada em rochas do meso-litoral, durante maré baixa (-0,2 a 0,2 m) na praia do Pacheco, localizada no município de Caucaia-Ceará. Essa espécie está depositada na forma de exsicata (n° 4.977) no Herbário Prisco Bezerra da UFC.

Após as coletas, as algas foram acondicionadas em sacos plásticos e transportadas em recipientes isotérmicos para o Laboratório de Carboidratos e Lectinas (CarboLec) do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFC. No laboratório, as algas foram lavadas, para retirada de epífitas e/ou organismos incrustantes, e estocadas a -20 °C, para posterior utilização.

4.1.2 Parasitos

A cepa de *L. braziliensis* (MHOM/BR/94/H3227) foi obtida de paciente com leishmaniose tegumentar americana (LTA) e sua caracterização foi feita por reação em cadeia da polimerase - PCR (CASTILHO et al., 2003). As promastigotas foram mantidas em meio Schneider (Aldrich-Sigma) suplementado com 10% de soro bovino fetal (SBF) inativado, 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomicina e 20 mM de HEPES (Gibco). Para os experimentos, os parasitos foram utilizados até a 5ª passagem *in vitro*.

4.1.3 Drogas, reagentes e meios de cultura

Foram utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho as seguintes drogas e

reagentes: Para o isolamento da LSf e da LCc: sulfato de amônio, tris (hidroximetil) aminometano e cloreto de sódio P.A., que foram obtidos da Merck (Darmstadt, Alemanha). DEAE-Celulose, tripsina, heparina, manana, mucina e Sephadex G-100, que foram obtidos da Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, U.S.A.).

Para a avaliação do efeito leishmanicida: meios Schneider e RPMI 1640, os antibióticos penicilina e estreptomicina, 2-mercaptoetanol, trypan blue e L-glutamina que foram obtidos da Sigma-Aldrich Co. (St Louis, U.S.A.); SBF, que foi obtido da Gibco (Grand Island, NY); meio ágar base sangue, que foi obtido da KASVI (Paraná, Brasil).

Todos os demais reagentes utilizados no decorrer do trabalho são de grau analítico.

Para os respectivos experimentos, os meios de cultura foram utilizados puros ou suplementados, como descrito a seguir:

- a) meio Schneider suplementado com 20% de SBF, urina humana estéril a 2% e antibióticos (100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina). Será mencionado como ‘Schneider suplementado’ o meio contendo os componentes conforme descrito acima, e como Schneider aquele utilizado sem suplementos;
- b) meio RPMI 1640 suplementado com 10% de SBF, 50 µM de 2-mercaptoetanol, 2 mM L-glutamina, e antibióticos (100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina). Será mencionado como ‘RPMI suplementado’ o meio contendo todos os componentes acima e como ‘RPMI’ aquele utilizado sem suplementos;
- c) meio Neal, Novy & Nicolle (N.N.N.): meio ágar sangue a 10% em meio Schneider e suplementado com antibióticos (100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina).

4.2 Métodos

4.2.1 Extração e isolamento das lectinas

Inicialmente, para as extrações, as algas foram descongeladas, secas e maceradas em nitrogênio líquido.

A lectina da alga marinha *Solieria filiformis* (LSf) foi obtida utilizando a metodologia previamente descrita por Benevides *et al.* (1996) e modificada por Abreu *et al.* (2012). Após a maceração, essa alga foi colocada em contato com tampão Tris-HCl 25 mM, pH 7,5 (TB), na proporção de 1:3 (m/v), por 4 h sob agitação, e filtrada em membrana de nylon. O filtrado foi centrifugado a 6.000 x g por 30 min, a 4 °C. O precipitado foi, então, desprezado e

o sobrenadante obtido, denominado de extrato total. Esse extrato total foi, então, submetido à precipitação com sulfato de amônio até 70% de saturação, durante 4 h, à temperatura ambiente. Após centrifugação (6.000 x g, por 30 min, a 4 °C), o sobrenadante foi ressuspenso com TB e dialisado contra água destilada (por 72 h) e TB (por 24 h), sendo denominado F0/70.

A fração F0/70 foi submetida à cromatografia de troca iônica em coluna de DEAE-celulose, previamente equilibrada com TB. A fração ativa (PI-DEAE), eluída isocraticamente, foi, então, dialisada contra água destilada, por 48 h, e liofilizada. Durante esse procedimento cromatográfico, foi mantido um fluxo constante de 60 mL/hora, coletando frações de 5 mL/tubo. A absorbância a 280 nm e a atividade hemaglutinante foram determinadas para cada tubo. Finalmente, a fração oriunda da cromatografia de troca iônica (PI-DEAE) foi aplicada em cromatografia de filtração em gel em coluna de Sephadex G-100, previamente equilibrada com TB. As frações foram eluídas com o mesmo tampão de equilíbrio. Durante esse procedimento cromatográfico, foi mantido um fluxo constante de 38 mL/hora, coletando frações de 2 mL/tubo. A fração ativa (PII-Sephadex) foi dialisada contra água destilada, por 48 h, liofilizada e denominada LSf.

A lectina da alga marinha *Caulerpa cupressoides* (LCc) foi obtida utilizando a metodologia descrita por Benevides *et al.* (2001) com modificações realizadas por Rivanor *et al.* (2014). Após a maceração, essa alga foi colocada em contato com tampão Tris-HCl 25 mM, pH 7,5 (TB), na proporção de 1:4 (m/v). Após agitação constante por 4 horas, o homogenato foi filtrado em tecido de nylon e, em seguida, centrifugado a 6.000 x g por 30 min a 4 °C. O precipitado foi, então, descartado e o sobrenadante, dialisado contra água destilada (por 72 h) e liofilizado, sendo denominado extrato total.

O extrato total obtido foi submetido à cromatografia de troca iônica em coluna de DEAE-Celulose, previamente equilibrada com TB. Após a completa eluição da fração não retida na coluna com TB, foi realizada a eluição da fração adsorvida na matriz por adição de NaCl 0,5 M ao tampão de equilíbrio. Durante o procedimento cromatográfico foi mantido um fluxo constante de 3 mL/tubo/min. A absorbância a 280 nm e a atividade hemaglutinante foram determinadas para cada tubo. A fração ativa (PII-DEAE) foi reunida, dialisada contra água destilada (por 72 h), liofilizada e denominada LCc.

A absorbância a 280 nm em espectrofotômetro (Biosciences Ultraspec 1100 pro) e a atividade hemaglutinante foram determinadas para checagem de presença lectínica.

4.2.2 Avaliação da citotoxicidade das lectinas

Para avaliação da citotoxicidade, foram utilizados macrófagos da linhagem J774, obtidos da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) da Bahia (Brasil). Para os experimentos, foram utilizados 200 μL /poço de uma suspensão de 5×10^5 macrófagos/mL em meio RPMI suplementado, em placas estéreis de 96 poços.

Inicialmente, essa placa foi incubada em estufa a 37°C e 5% de CO_2 , por 12 h. Posteriormente, foram removidos 20 μL de meio dos poços, com exceção dos controles de viabilidade, e foram adicionados 20 μL das lectinas LSf e LCc, para as concentrações finais de 5, 10, 25, 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$ e de Glucantime[®] para as concentrações finais de 4, 8, 16 e 32 $\mu\text{g/mL}$. Em seguida, a placa foi incubada a 37°C e 5% de CO_2 , por 24 e 48 h. Após esse período, as placas foram lavadas com 200 μL /poço de tampão fosfato salino (PBS) estéril, a 37°C , e foram adicionados 200 μL /poço de RPMI suplementado e a placa, incubada a 37°C e 5% de CO_2 , por 90 min. Em seguida, foram removidos 100 μL /poço e adicionados 100 μL /poço de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium brometo), na concentração de 1 mg/mL em PBS estéril, e a placa foi incubada em estufa a 37°C e 5% de CO_2 , por 4 h. Por fim, o MTT foi removido, foram adicionados 150 μL /poço de DMSO puro (para solubilização dos cristais de formazan) e a placa foi envolvida em papel alumínio, submetida à agitação, por 10 min, e a repouso, por 3 min. A leitura das absorbâncias foi realizada em leitor de microplaca (Armstrong Biosciences, modelo BIOTRAK II) a 570 nm. Como controle, foram utilizados RPMI suplementado, DMSO puro e salina (NaCl 0,9%) estéril, diluente no qual as lectinas foram dissolvidas. Os experimentos foram realizados em triplicata.

A viabilidade celular das amostras foi calculada pela equação: % inibição = $(\text{OD}_{\text{controle}} - \text{OD}_{\text{substância}} / \text{OD}_{\text{controle}} \times 100)$, no qual OD representa a absorbância das amostras.

4.2.3 Avaliação do efeito leishmanicida em promastigotas

Para a avaliação desse efeito, a cultura contendo as formas promastigotas de *L. braziliensis* foi centrifugada (3000 rpm; 15 min; 4°C), ressuspensa em meio Schneider, contada em câmara de Neubauer e diluída em meio Schneider suplementado, para obter a concentração de 10^7 promastigotas/mL.

Posteriormente, as promastigotas foram distribuídas em placas de 48 poços no volume de 160 μL /poço e foram adicionados 40 μL das lectinas, para as concentrações finais de 5, 10, 25, 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$. Para controle, foram utilizados salina estéril, diluente no qual as

lectinas foram dissolvidas, anfotericina B, na concentração de 16 µg/mL, e meio Schneider não suplementado. Em seguida, as placas foram incubadas por 24 e 48 h em estufa BOD Mod. 347F a 25°C. Após o tempo determinado, as formas promastigotas viáveis foram fixadas e coradas em solução de Trypan blue a 0,2% e, em seguida, contadas em câmara de Neubauer. Os experimentos foram realizados em triplicata.

4.2.4 Análises estatísticas

Para as comparações entre múltiplos grupos foi realizado o teste *one-way* ANOVA, seguido pelo Teste de Tukey (*post hoc*). As análises foram realizadas utilizando o programa GraphPad Prism 6.0 Version for Windows, GraphPad Software (San Diego, CA, USA). Os resultados dos testes foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) e foi considerado significativo $p < 0,05$.

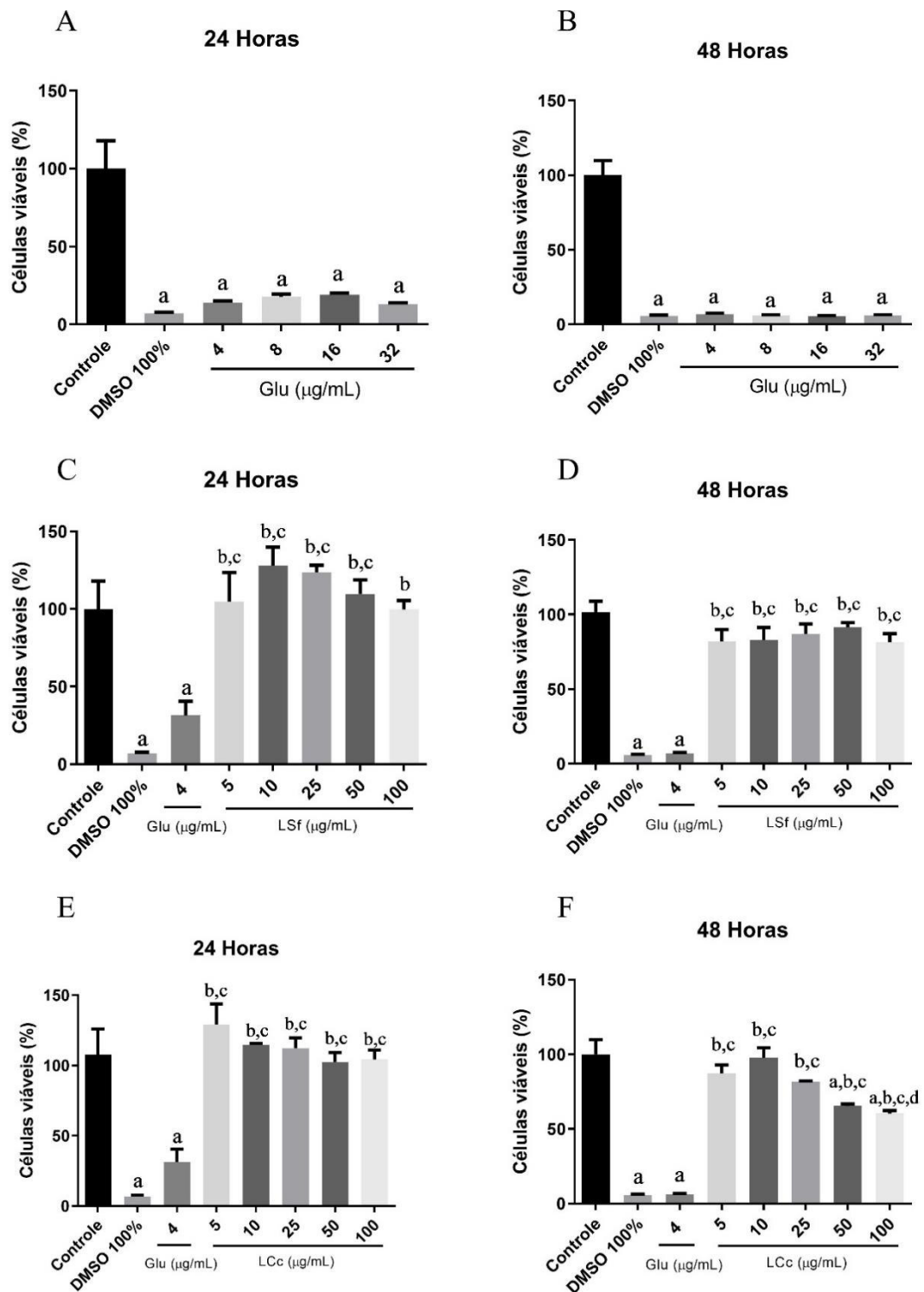
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da citotoxicidade das lectinas

O Glucantime® (GLU), em todas as concentrações testadas, apresentou toxicidade em todos os tempos analisados (FIGURA 2A e 2B). A Lsf não apresentou diminuição da viabilidade celular nas concentrações testadas em nenhum dos tempos analisados, quando comparada ao grupo controle (RPMI suplementado). Vale ressaltar que a referida lectina apresentou diferença estatística, quando comparada ao GLU ($p < 0,05$), exceto na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$, nas 24 h iniciais (FIGURA 2C e 2D).

A LCc não apresentou toxicidade nas concentrações testadas nas 24 h iniciais, sendo todas as concentrações significativamente menos citotóxicas em relação ao GLU (FIGURA 2E). As concentrações de 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$ ocasionaram uma diminuição de 34% e 39%, respectivamente, da viabilidade dos macrófagos após 48 h ($p < 0,001$), sendo ainda significativamente inferior à diminuição ocasionada pelo GLU ($p < 0,0001$), que foi de 93%. Além disso, a concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ ocasionou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) da viabilidade em relação à concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$ (FIGURA 2F).

Figura 2 - Avaliação da citotoxicidade das lectinas em macrófagos.



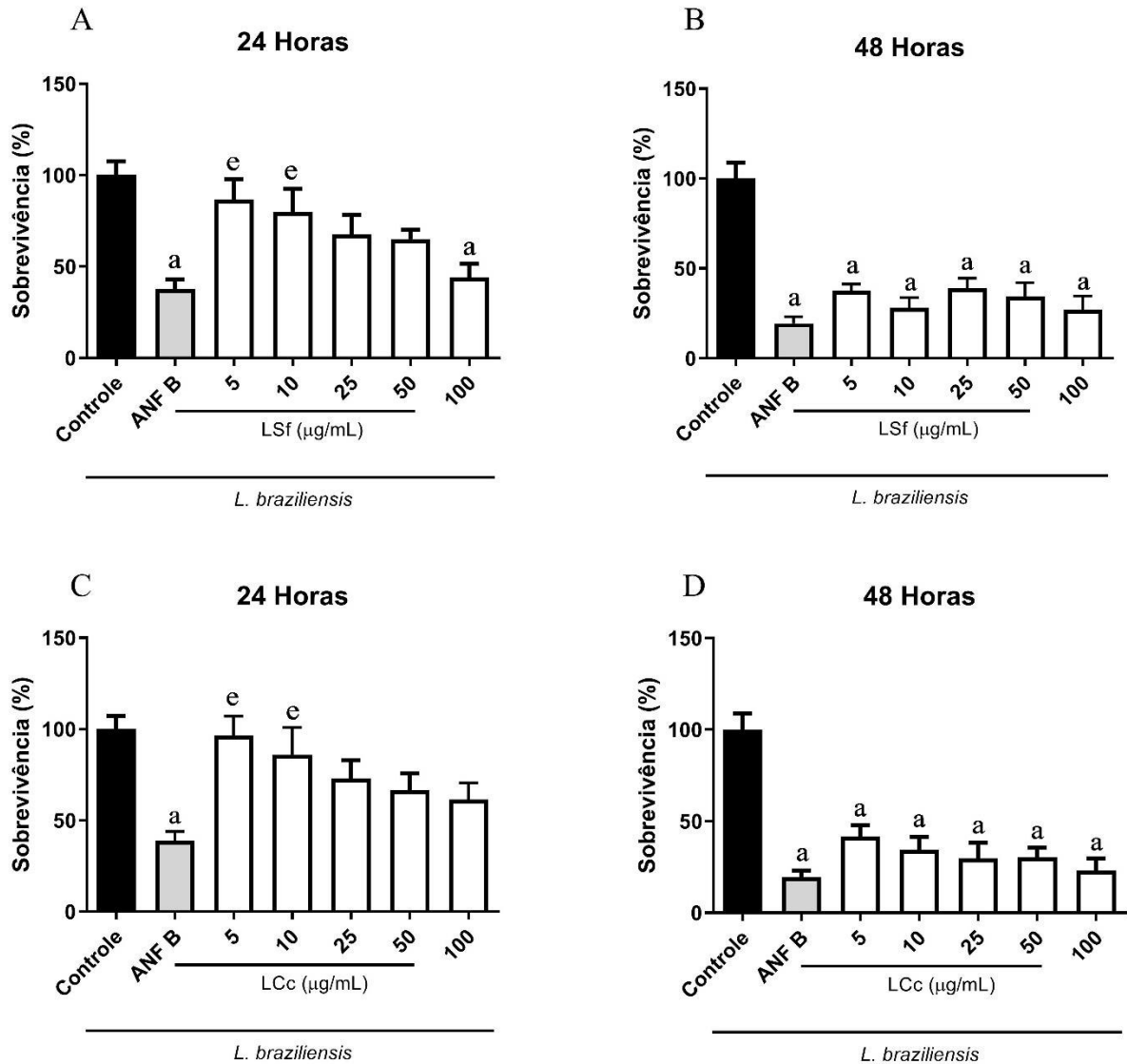
Fonte: Elaborado pela autora. A citotoxicidade das substâncias foi avaliada pelo teste MTT, no qual os macrófagos foram incubados com GLU (4, 8, 16 e 32 µg/mL) ou LSf ou LCc (5, 10, 25, 50 e 100 µg/mL), sendo avaliada a viabilidade celular após 24 e 48 h. Controle: RPMI suplementado; DMSO 100%: padrão citotóxico. Realizado em triplicata e os resultados foram expressos como média ± E.P.M. Significância estatística ($p < 0,05$) vs (a- Controle, b - DMSO 100%, c- GLU [4 µg/mL], d- LCc [10 µg/mL]) (ANOVA; Teste de Tukey).

5.2 Avaliação do efeito leishmanicida em promastigotas

A LSf, nas 24 h iniciais, ocasionou redução significativa na sobrevivência das promastigotas, na concentração de 100 µg/mL, com relação ao controle ($p < 0,001$) (FIGURA 3A). Após o tempo de 48 h, todas as concentrações testadas da LSf apresentaram redução significativa da sobrevivência das promastigotas em relação ao controle ($p < 0,0001$), apresentando redução da sobrevivência acima de 50% (FIGURA 3B), não havendo diferença estatística entre as diferentes concentrações dessa proteína. Vale ressaltar que, neste tempo, a LSf não apresentou diferença estatística, quando comparada ao controle anfotericina B.

A LCc, nas 24 h iniciais, não reduziu significativamente a sobrevivência das promastigotas nas concentrações testadas (FIGURA 3C). No entanto, após as 48 h, todas as concentrações testadas apresentaram redução significativa da sobrevivência das promastigotas em relação ao controle ($p < 0,0001$), apresentando redução da sobrevivência acima de 50% (FIGURA 3D). Assim como a LSf, a LCc, neste tempo, não apresentou diferença estatística, quando comparada ao controle anfotericina B. Vale ressaltar que não houve diferença significativa entre as concentrações das lectinas após 48 h, dessa forma, todas apresentaram efeito semelhante na redução da sobrevivência das promastigotas, independente da concentração.

Figura 3 – Avaliação da atividade leishmanicida das lectinas contra formas promastigotas de *L. braziliensis*.



Fonte: Elaborado pela autora. O efeito leishmanicida das substâncias foi avaliado, após a incubação das promastigotas (10^7 parasitos/mL) com LSF ou LCc (5, 10, 25, 50 e 100 µg/mL) ou Anfotericina B (16 µg/mL) por 24 e 48 h. Controle: meio Schneider não suplementado; ANF B: Anfotericina B. Realizado em triplicata e os resultados foram expressos como média \pm E.P.M. Significância estatística ($p < 0,05$) vs (a- Controle, e- ANF B [16 µg/mL]) (ANOVA; Teste de Tukey).

As lectinas são especializadas no reconhecimento de carboidratos e os eventos de comunicação celular são mediados pela sua interação com os carboidratos da superfície celular. Essas interações constituem uma parte das vias de sinalização mais eficientes que ocorrem nos organismos vivos ou entre eles e o ambiente (SILVA *et al.*, 2019).

Lectinas de ligação à manose já demonstraram ligação a diversos patógenos, iniciando mecanismos de defesa potentes do hospedeiro por indução da inibição do crescimento ou morte desses organismos. Resíduos de manose presentes em oligo ou polissacarídeos, como manana, podem estar disponíveis em organismos para ligação de lectinas específicas. Dessa forma, a purificação de lectinas visa, por exemplo, a identificação de moléculas contendo manose em sua estrutura que podem estar relacionadas a patógenos (SILVA *et al.*, 2019). A manose é um monossacarídeo que apresenta a fórmula molecular: $C_6H_{12}O_6$, e é amplamente distribuído em fluidos corporais e tecidos, como a pele (WEI *et al.*, 2020).

Parasitas do gênero *Leishmania* sintetizam um grande número de glicoconjugados contendo manose que são secretados ou formam um glicocálice espesso na sua superfície celular (DAVIS *et al.*, 2004). Foi demonstrado que promastigotas procíclicas e metacíclicas de *Leishmania* sp. apresentaram diferenças nas características de ligação das lectinas. Promastigotas metacíclicas ligaram mais à Concanavalina A (Con A) e à lectina de lentilha, ambas com afinidade à manose e α -metil-D-manosídeo, do que promastigotas procíclicas, o que indica um maior número de resíduos de manose em suas superfícies (GROGL, *et al.*, 1987). Além disso, também foram demonstradas frações aumentadas de manose em promastigotas de cepas patogênicas. Promastigotas de uma cepa patogênica (NR) de *L. braziliensis* apresentaram aglutinação com baixas concentrações de Con A e a cepa apresentou marcação abundante de ligação à lectina. Já as promastigotas de uma cepa não patogênica (LBY) não apresentaram aglutinação (AYESTA; ARGUELLO; HERNANDEZ, 1985).

Foi relatada ainda a aglutinação de promastigotas de *L. braziliensis* promovida pela lectina Con A, sugerindo que na membrana celular dessas promastigotas estão presentes ligantes terminais semelhantes ou idênticos a α -D-manose e α -D-glicose (especificidade da Con A) (DAWIDOWICZ; HERNANDEZ; INFANTE; CONVIT, 1975; NOJIMOTO, 1989). Outros estudos também demonstraram que promastigotas de *L. major* e *L. donovani* se ligaram à Con A, apresentando, dessa forma, α -D-glicose e α -D-manose em suas membranas, e que ligantes semelhantes ou idênticos a α -D-glicose, N-acetilgalactosamina, N-acetilglicosamina, α -L-fucose e a um ácido neuramínico N-acetilado são constituintes da membrana plasmática e flagelar de *L. donovani* (BANDYOPADHYAY *et al.*, 1991; DWYER, 1977).

A lectina da alga vermelha *Solieria filiformis* (LSf) é uma proteína monomérica, com capacidade de se ligar especificamente aos oligossacarídeos α 3- α 6-manopentose, o que sugere especificidade para oligossacarídeos de alta manose (CHAVES *et al.*, 2018). Assim, sugere-se que o efeito leishmanicida apresentado por essa lectina esteja relacionado à capacidade que essa proteína tem de interagir com os resíduos de manose presentes no

glicocálice do protozoário. Vale ressaltar que esses corroboram com os estudos que demonstram a presença de manose e seus derivados na superfície de promastigotas de *Leishmania*.

Estudos demonstram ainda a presença de galactose e seus derivados na superfície de promastigotas de *Leishmania*. Foi demonstrado que a lectina ricina-120 (RCA120) promoveu aglutinação de promastigotas de *L. braziliensis* e outras espécies do mesmo gênero, constatando a presença de β -D-galactose, açúcar pelo qual essa lectina tem afinidade (SCHOTTELIUS; COSTA, 1982). Além disso, a lectina RCA e a lectina de *Arachis hypogaea* (PNA) promoveram aglutinação de promastigotas de *L. braziliensis* e *L. amazonensis*, demonstrando novamente a presença de galactose e seus derivados na superfície de membrana desses parasitos (NOJIMOTO, 1989).

A lectina da alga verde *Caulerpa cupressoides* var. *lycopodium* (LCc) apresenta especificidade para lactose e alguns de seus derivados, interage fortemente com mucina, além de ter apresentado especificidade por N-acetilgalactosamina, derivado da galactose (BENEVIDES *et al.*, 2001). Diante do exposto, sugere-se, portanto, que o efeito leishmanicida apresentado por essa lectina esteja relacionado à capacidade que essa proteína tem de interagir com os derivados de galactose presentes no glicocálice de *Leishmania*.

Além disso, trabalhos com outros componentes da membrana das promastigotas de *L. braziliensis*, como lipídeos, apontaram um papel desses componentes na indução de macrófagos M2, que apresentam propriedades anti-inflamatórias e são permissivos ao desenvolvimento do parasita (CARFAGNA *et al.*, 2020). Isso mostra a importância dos componentes de membrana de promastigotas de *Leishmania* como alvos em abordagens terapêuticas.

Considerando a toxicidade e os diversos efeitos colaterais dos fármacos disponíveis, além de casos de resistência dos parasitos, a pesquisa por novas drogas mais eficientes e menos tóxicas é de suma importância. A busca por novos compostos, principalmente de origem natural, tem se mostrado promissora e diversos estudos relatam atividades farmacológicas de novas drogas contra parasitos de *Leishmania*. Nesse contexto, as lectinas das algas marinhas *S. filiformis* e *C. cupressoides* mostraram-se promissoras como alternativas, para o tratamento da leishmaniose, uma vez que apresentaram efeito leishmanicida *in vitro* sem citotoxicidade.

O presente trabalho é o primeiro relato da atividade leishmanicida das lectinas das algas *Solieria filiformis* (Kützinger) P.W. Gabrielson e *Caulerpa cupressoides* var. *lycopodium* contra protozoários, como *Leishmania braziliensis*. Considerando-se o efeito promissor dessas lectinas, fazem-se necessárias análises mais detalhadas do mecanismo de ação das referidas lectinas, além do efeito das mesmas contra as formas amastigotas de *L. braziliensis*.

6 CONCLUSÃO

As lectinas das algas marinhas vermelha *Solieria filiformis* (Kützing) P.W. Gabrielson e verde *Caulerpa cupressoides* var. *lycopodium* apresentaram efeito leishmanicida in vitro contra as formas promastigota de *Leishmania braziliensis*, possivelmente, através da interação dos seus sítios lectínicos com carboidratos do glicocálice desses parasitos. Ademais, as referidas lectinas não apresentaram citotoxicidade in vitro contra macrófagos da linhagem J774. Apesar desses estudos serem preliminares, esses resultados apontam o efeito promissor dessas lectinas para o desenvolvimento de novos medicamentos que possam ser utilizados no tratamento da leishmaniose tegumentar.

REFERÊNCIAS

- ABREU, T.M. *et al.* Cytokine Production Induced by Marine Algae Lectins in BALB/c Mice Splenocytes. **Protein & Peptide Letters**, [S.L.], v. 19, n. 9, p. 975-981, 1 jul. 2012. Bentham Science Publishers Ltd. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/092986612802084474>. Acesso em: 08 ago. 2021.
- ABREU, T.M. *et al.* Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of the Lectin from Marine Red Alga *Solieria filiformis*. **Planta Medica**, [S.L.], v. 82, n. 07, p. 596-605, 19 abr. 2016. Georg Thieme Verlag KG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0042-101762>. Acesso em: 08 jul. 2021.
- ABREU, T.M. *et al.* Involvement of the dopaminergic system in the antidepressant-like effect of the lectin isolated from the red marine alga *Solieria filiformis* in mice. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 111, p. 534-541, maio 2018. Elsevier BV. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.132>. Acesso em: 08 ago. 2021.
- AFONSO-CARDOSO, S.R. *et al.* Effect of the *Synadenium carinatum* latex lectin (ScLL) on *Leishmania (Leishmania) amazonensis* infection in murine macrophages. **Experimental Parasitology**, [S.L.], v. 128, n. 1, p. 61-67, maio 2011. Elsevier BV. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2011.02.006>. Acesso em: 08 ago. 2021.
- ALVES, M.F. A. *et al.* Antihyperglycemic and antioxidant activities of a lectin from the marine red algae, *Bryothamnion seaforthii*, in rats with streptozotocin-induced diabetes. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 158, p. 773-780, set. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.238>. Acesso em: 08 ago. 2021.
- AMARO, R.R.; COSTA, W.A. TRANSFORMAÇÕES SOCIOESPACIAIS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO ENQUANTO DETERMINANTE SOCIAL DA SAÚDE: no contexto das leishmanioses. **Hygeia - Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, [S.L.], v. 13, n. 26, p. 198-210, 6 dez. 2017. EDUFU - Editora da Universidade Federal de Uberlândia. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/Hygeia132617>. Acesso em: 24 jun. 2021.
- ASHWIN, H. *et al.* Characterization of a new *Leishmania major* strain for use in a controlled human infection model. **Nature Communications**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-12, 11 jan. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-20569-3>. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20569-3>. Acesso em: 18 jun. 2021.
- AYESTA, C.; ARGUELLO, C.; HERNANDEZ, A.G. *Leishmania braziliensis*: Cell Surface Differences in Promastigotes of Pathogenic and Nonpathogenic Strains. **Experimental Parasitology**, Mexico City, Mexico. 59, 185- 191 (1985).
- BANDYOPADHYAY, P. Metacyclogenesis of *Leishmania* spp: species-specific *in vitro* transformation, complement resistance, and cell surface carbohydrate and protein profiles. **J. Parasitol.**, 77(3), 1991, p. 411-416. Disponível em: http://www.jstor.org/stable/3283129?seq=1&cid=pdf-reference#references_tab_contents. Acesso em: 18 ago. 2021.

- BARRAL-NETTO, M. *et al.* In vivo protective effect of the lectin from *Canavalia brasiliensis* on BALB/c mice infected by *Leishmania amazonensis*. **Acta Tropica**, [S.L.], v. 60, n. 4, p. 237-250, fev. 1996. Elsevier BV. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0001-706X\(95\)00120-4](https://doi.org/10.1016/0001-706X(95)00120-4). Acesso em: 08 ago. 2021.
- BARROSO, D.H. *et al.* PD-L1 May Mediate T-Cell Exhaustion in a Case of Early Diffuse Leishmaniasis Caused by *Leishmania (L.) amazonensis*. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 9, p. 1-7, maio 2018. Frontiers Media SA. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2018.01021>. Acesso em: 04 ago. 2021.
- BASÍLIO, T.H. Biodiversidade e conservação das ilhas costeiras do litoral sul capixaba. São Paulo: Lura Editorial, 2020.
- BENEVIDES, N.M.B.; LEITE, A.M.; FREITAS, A.L.P. Atividade hemaglutinante na alga vermelha *Solieria filiformis*. **R. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 8, p. 117-122, 1996.
- BENEVIDES, N.M.B. *et al.* Purification and Partial Characterization of the Lectin from the Marine Green Alga *Caulerpa cupressoides* (Vahl) C. Agardh. **Bot. Mar.**, v. 44, p.17-22, 2001.
- BITENCOURT, F.S. *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory effects of a mucin-binding agglutinin isolated from the red marine alga *Hypnea cervicornis*. **Naunyn-Schmiedeberg'S Archives Of Pharmacology**, [S.L.], v. 377, n. 2, p. 139-148, 13 fev. 2008. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00210-008-0262-2>. Acesso em: 08 ago. 2021.
- BLANCO, V.R.; NASCIMENTO-JÚNIOR, N.M. Leishmaniasis: general aspects related with the disease, the parasite cycle, available drugs, novel prototypes and vaccines. **Revista Virtual de Química**, [S.L.], v. 9, n. 3, p. 861-876, 2017. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20170055>. Disponível em: <http://rvq.sbq.org.br>. Acesso em: 24 jun. 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Ciência e Tecnologia, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Ministério da Saúde. **Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde**. Brasília, DF, Brasil. Rev Saúde Pública 2010;44(1):200-2. Acesso em: 18 jun. 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, Ministério da Saúde. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar**. Brasília, DF, Brasil. 1ª edição. 189 p. 2017. Acesso em: 24 jun. 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico - Doenças tropicais negligenciadas**. Brasília, DF, Brasil. Número Especial. Mar. 2021. Acesso em: 24 jun. 2021.
- CAETANO, D.C.D.S. *et al.* PARÂMETROS CLÍNICOS, DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR E VISCERAL. **Enciclopédia Biosfera**, [S.L.], v. 16, n. 29, p. 2087-2105, 30 jun. 2019. Centro Científico Conhecer. Disponível em: http://dx.doi.org/10.18677/encibio_2019a161. Acesso em: 05 ago. 2021.

CAMPOS, J.K.L. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Bauhinia monandra* leaf lectin. **Biochimie Open**, [S.L.], v. 2, p. 62-68, jun. 2016. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopen.2016.03.001>. Acesso em: 08 ago. 2021.

CARFAGNA, I.E. *et al.* Involvement of lipids from *Leishmania braziliensis* promastigotes and amastigotes in macrophage activation. **Molecular Immunology**, [S.L.], v. 125, p. 104-114, set. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2020.06.023>. Acesso em: 18 ago. 2021.

CARNEIRO, R.F. *et al.* Elucidation of the primary structure and molecular modeling of *Parkia pendula* lectin and in vitro evaluation of the leishmanicidal activity. **Process Biochemistry**, [S.L.], v. 101, p. 1-10, nov. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.11.004>. Acesso em: 08 jul. 2021.

CASTILHO T.M. *et al.* New PCR assay using glucose-6-phosphate dehydrogenase for identification of *Leishmania* species. **J Clin Microbiol.**, v. 41, p. 540-6, 2003.

CAVALCANTI, V.L.R. *et al.* *Chlorella vulgaris* lectin kills *Aedes aegypti* larvae. **Algal Research**, [S.L.], v. 56, jun. 2021. Elsevier BV. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102290>.

CHAVES, R.P. *et al.* Structural characterization of two isolectins from the marine red alga *Solieria filiformis* (Kützinger) P.W. Gabrielson and their anticancer effect on MCF-7 breast cancer cells. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 107, p. 1320-1329, fev. 2018. Elsevier BV. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.09.116>. Acesso em: 08 ago. 2021.

CORDEIRO, R.A. *et al.* Effect of proteins from the red seaweed *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux on the growth of human pathogen yeasts. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**, [S.L.], v. 49, n. 6, p. 915-921, nov. 2006. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-89132006000700008>. Acesso em: 08 ago. 2021.

CORIOLANO, M.C. *et al.* *Parkia pendula* Seed Lectin: potential use to treat cutaneous wounds in healthy and immunocompromised mice. **Applied Biochemistry And Biotechnology**, [S.L.], v. 172, n. 5, p. 2682-2693, 15 jan. 2014. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-013-0692-2>. Acesso em: 08 ago. 2021.

CORIOLANO, M.C. *et al.* Antibacterial lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) has differential action on growth, membrane permeability and protease secretory ability of Gram-positive and Gram-negative pathogens. **South African Journal Of Botany**, [S.L.], v. 129, p. 198-205, mar. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2019.06.014>. Acesso em: 08 ago. 2021.

COSTA, J.M.L. *et al.* Modalidades clínicas, diagnóstico e abordagem terapêutica da leishmaniose tegumentar no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**. Bahia, Brasil. 2009;79 (Supl.3):70-83.

COSTA, L. *et al.* Pterocarpanquinone LQB-118 Induces Apoptosis in *Leishmania (Viannia)*

braziliensis and Controls Lesions in Infected Hamsters. Plos One, [S.L.], v. 9, n. 10, p. 1-8, 23 out. 2014. **Public Library of Science (PLoS)**. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109672>. Acesso em: 05 jul. 2021.

CAVADA, B.S. *et al.* Comprehensive review on Caelsalpinioideae lectins: from purification to biological activities. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 162, p. 333-348, nov. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.161>. Acesso em: 08 ago. 2021.

DAVIS, A.J. *et al.* Properties of GDP-mannose Pyrophosphorylase, a Critical Enzyme and Drug Target in *Leishmania mexicana*. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 279, n. 13, p. 12462-12468, mar. 2004. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m312365200>. Acesso em: 17 ago. 2021.

DAWIDOWICZ, K.; HERNANDEZ, A. G.; INFANTE, R. B.; CONVIT, J. The Surface Membrane of *Leishmania*. I. The Effects of Lectins on Different Stages of *Leishmania braziliensis*. **The Journal Of Parasitology**, [S.L.], v. 61, n. 5, p. 950-953, out. 1975. JSTOR. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2307/3279246>. Acesso em: 18 ago. 2021.

DWYER, D.M. *Leishmania donovani*: surface membrane carbohydrates of promastigotes. **Experimental Parasitology**, [S.L.], v. 41, n. 2, p. 341-358, abr. 1977. Elsevier BV. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0014-4894\(77\)90107-2](http://dx.doi.org/10.1016/0014-4894(77)90107-2). Acesso em: 18 ago. 2021.

EMAU, P. *et al.* Griffithsin, a potent HIV entry inhibitor, is an excellent candidate for anti-HIV microbicide. **Journal Of Medical Primatology**, [S.L.], v. 36, n. 4-5, p. 244-253, ago. 2007. Wiley. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0684.2007.00242.x>. Acesso em: 08 ago. 2021.

FERREIRA, V.C.S. **Avaliação de inibidores de enzimas envolvidas no Metabolismo Redox para o tratamento da leishmaniose cutânea**. Tese (Doutorado em Patologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia. Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz. Bahia: p. 77. 2019.

FIGUEIREDO, J.G. *et al.* Agglutinin isolated from the red marine alga *Hypnea cervicornis* J. Agardh reduces inflammatory hypernociception: involvement of nitric oxide. **Pharmacology Biochemistry And Behavior**, [S.L.], v. 96, n. 4, p. 371-377, out. 2010. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2010.06.008>. Acesso em: 08 ago. 2021.

FONTENELLE, Thais Pontes Carvalho *et al.* Lectin obtained from the red seaweed *Bryothamnion triquetrum*: secondary structure and anti-inflammatory activity in mice. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 112, p. 1122-1130, jun. 2018. Elsevier BV. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.058>. Acesso em: 08 ago. 2021.

FUKUDA, Y. *et al.* The anti-tumor effect of *Euchema serra* agglutinin on colon cancer cells in vitro and in vivo. **Anti-Cancer Drugs**, [S.L.], v. 17, n. 8, p. 943-947, set. 2006. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/01.cad.0000224458.13651.b4>. Acesso em: 08 ago. 2021.

GONTIJO, B; CARVALHO, M.L.R. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. 36(1):71-80, jan-fev, 2003. Acesso em: 06 ago. 2021.

GOSSAGE, S.M; ROGERS, M.E; BATES, P.A. Two separate growth phases during the development of *Leishmania* in sand flies: implications for understanding the life cycle. **International Journal For Parasitology**, [S.L.], v. 33, n. 10, p. 1027-1034, set. 2003. Elsevier BV. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s0020-7519\(03\)00142-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0020-7519(03)00142-5). Acesso em: 06 ago. 2021.

GROGL, M. *et al.* *Leishmania braziliensis*: Protein, Carbohydrate, and Antigen Differences between Log Phase and Stationary Phase Promastigotes in Vitro. **Experimental Parasitology**. North Carolina, U.S.A, 63, 352-359 (1987).

HOLANDA, M.L. *et al.* Differential activity of a lectin from *Solieria filiformis* against human pathogenic bacteria. **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**, [S.L.], v. 38, n. 12, p. 1769-1773, dez. 2005. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-879x2005001200005>. Acesso em: 08 ago. 2021.

HOLANDA, V.N. *et al.* Desafios e perspectivas no tratamento da leishmaniose tegumentar: revisão de literatura. **Interfaces: saúde, humanas e tecnologia**, v. 6, n. 17, p. 140-157, 2018. Disponível em: <https://interfaces.leaosampaio.edu.br/index.php/revista-interfaces/issue/view/34>. Acesso em: 08 jul. 2021.

KAYE, P.; SCOTT, P. Leishmaniasis: complexity at the host-pathogen interface. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 9, n. 8, p. 604-615, 11 jul. 2011. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2608>. Acesso em: 28 jun. 2021.

KÉRY, V. Lectin-carbohydrate interactions in immunoregulation. **International Journal Of Biochemistry**, [S.L.], v. 23, n. 7-8, p. 631-640, jan. 1991. Elsevier BV. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0020-711X\(91\)90031-H](https://doi.org/10.1016/0020-711X(91)90031-H). Acesso em: 08 ago. 2021.

LEITE, Y.F.M.M. *et al.* Purification of a lectin from the marine red alga *Gracilaria ornata* and its effect on the development of the cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: bruchidae). **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - General Subjects**, [S.L.], v. 1724, n. 1-2, p. 137-145, jun. 2005. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2005.03.017>. Acesso em: 08 ago. 2021.

LEVENDOSKY, K. *et al.* Griffithsin and Carrageenan Combination To Target Herpes Simplex Virus 2 and Human Papillomavirus. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, [S.L.], v. 59, n. 12, p. 7290-7298, 14 set. 2015. American Society for Microbiology. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/aac.01816-15>. Acesso em: 08 ago. 2021.

LIAO, W.R. *et al.* Antibiotic activity of lectins from marine algae against marine vibrios. **Journal Of Industrial Microbiology And Biotechnology**, [S.L.], v. 30, n. 7, p. 433-439, 1 jul. 2003. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10295-003-0068-7>. Acesso em: 08 ago. 2021.

LIMA, E.B. *et al.* Tratamento da Leishmaniose Tegumentar Americana. **Anais Brasileiros de**

Dermatologia, [S.L.], v. 82, n. 2, p. 111-124, abr. 2007. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962007000200002>. Acesso em: 21 ago. 2021.

MELO, V.M.M. *et al.* Antifungal Properties of Proteins (Agglutinins) from the Red Alga *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux. **Botanica Marina**, [S.L.], v. 40, n. 1-6, p. 281-284, 1997. Walter de Gruyter GmbH. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/botm.1997.40.1-6.281>. Acesso em: 08 ago. 2021.

MORADI, A. *et al.* Expression of a Fungal Lectin in Arabidopsis Enhances Plant Growth and Resistance Toward Microbial Pathogens and a Plant-Parasitic Nematode. **Frontiers In Plant Science**, [S.L.], v. 12, p. 1-13, 9 abr. 2021. Frontiers Media SA. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.657451>. Acesso em: 08 jul. 2021.

MORI, T. *et al.* Isolation and Characterization of Griffithsin, a Novel HIV-inactivating Protein, from the Red Alga *Griffithsia* sp. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 280, n. 10, p. 9345-9353, mar. 2005. Elsevier BV. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.M411122200>. Acesso em: 08 ago. 2021.

NASCIMENTO-NETO, L.G. *et al.* Characterization of Isoforms of the Lectin Isolated from the Red Algae *Bryothamnion seaforthii* and Its Pro-Healing Effect. **Marine Drugs**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 1936-1954, 4 set. 2012. MDPI AG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/md10091936>. Acesso em: 08 ago. 2021.

NETO, V.A. *et al.* Parasitologia: uma Abordagem Clínica. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

NOJIMOTO, I. T. I. *et al.* LECTNAS LEGUMINOSAS NO AUXÍLIO PARA CARACTERIZAÇÃO DE LEISHMANIA. **Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology**, [S. l.], v. 18, n. 2, 2007. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/iptsp/article/view/20222>. Acesso em: 18 ago. 2021.

OPAS - ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Leishmanioses: Informe epidemiológico nas Américas**. Núm. 9, dezembro de 2020. Washington, D.C.: OPAS; 2020. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/53090>. Acesso em: 18 jun. 2021.

OZAKY, C.Y. **Perfil de expressão gênica de célula monocítica humana infectada por *Leishmania (Leishmania) infantum***. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Universidade de São Paulo. São Paulo. p. 199. 2018.

PASSOS, S.T. **Resposta imune a antígenos recombinantes de *Leishmania* e imunomodulação na leishmaniose tegumentar**. Tese (Doutorado em Imunologia) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia. Bahia. p. 77. 2006.

PEUMANS, W.J.; VAN DAMME, E.J.M. Lectins as Plant Defense Proteins. **Plant Physiology**, [S.L.], v. 109, n. 2, p. 347-352, 1 out. 1995. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1104/pp.109.2.347>. Acesso em: 21 ago. 2021.

PEZENTE, L.G.; BENEDETTI, M.S.G. Perfil epidemiológico da leishmaniose Tegumentar Americana no Estado de Roraima, Amazônia, Brasil, entre 2007 e 2016. **Brazilian Journal of health**. Curitiba, v. 2, n. 3, p. 1734-1742, mar./abr. 2019.

PINTO, V.P.T. *et al.* Lectins from the Red Marine Algal Species *Bryothamnion seaforthii* and *Bryothamnion triquetrum* as Tools to Differentiate Human Colon Carcinoma Cells. **Advances In Pharmacological Sciences**, [S.L.], v. 2009, p. 1-6, 2009. Hindawi Limited. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2009/862162>. Acesso em: 08 ago. 2021

QUEIROZ, I. N. L. **Caracterização estrutural preliminar e efeitos na inflamação da lectina da alga marinha verde *Caulerpa cupressoides***. 2013. 115 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Departamento de Bioquímica E Biologia Molecular, Programa de PósGraduação em Bioquímica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

QUEIROZ, I.N.L. *et al.* Dual effects of a lectin from the green seaweed *Caulerpa cupressoides* var. *lycopodium* on inflammatory mediators in classical models of inflammation. **Inflammation Research**, [S.L.], v. 64, n. 12, p. 971-982, 1 out. 2015. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00011-015-0880-3>. Acesso em: 08 ago. 2021.

QUEIROZ, I.N.L. *et al.* In vitro interaction of the native lectin isolated from the green seaweed *Caulerpa cupressoides* var. *lycopodium* (Caulerpaceae, Bryopsidales) against cancer HL60 cells. **Acta Of Fisheries And Aquatic Resources**, [S.I.], p. 117-124, jun. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.2312/Actafish.2016.4.2.117-124>. Acesso em: 08 ago. 2021.

REY, L. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais. 4ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

RICCI-AZEVEDO, R. *et al.* Neutrophils Contribute to the Protection Conferred by ArtinM against Intracellular Pathogens: a study on *Leishmania major*. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 1-23, 8 abr. 2016. Public Library of Science (PLoS). Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004609>. Acesso em: 08 ago. 2021.

RIVANOR, R.L.C. *et al.* A lectin from the green seaweed *Caulerpa cupressoides* reduces mechanical hyper-nociception and inflammation in the rat temporomandibular joint during zymosan-induced arthritis. **Intern. Immunophar.**, v. 21, p. 34-43, 2014.

RIVANOR, R.L.C. *et al.* A lectin fraction from green seaweed *Caulerpa cupressoides* inhibits inflammatory nociception in the temporomandibular joint of rats dependent from peripheral mechanisms. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 115, p. 331-340, ago. 2018. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.065>. Acesso em: 08 ago. 2021.

ROCHA, B.A.M. *et al.* Structural basis for both pro- and anti-inflammatory response induced by mannose-specific legume lectin from *Cymbosema roseum*. **Biochimie**, [S.L.], v. 93, n. 5, p. 806-816, maio 2011. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2011.01.006>. Acesso em: 08 ago. 2021.

ROSÁRIO, M. S. *et al.* Doenças tropicais negligenciadas: caracterização dos indivíduos afetados e sua distribuição espacial. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research**, [S. l.], v. 19, n. 3, p. 118–127, 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufes.br/rbps/article/view/19574>. Acesso em: 29 ago. 2021.

SANTIAGO, A.S.; PITA, S.S.R.; GUIMARÃES, E.T. Tratamento da leishmaniose, limitações

da terapêutica atual e a necessidade de novas alternativas: uma revisão narrativa. **Research, Society And Development**, [S.L.], v. 10, n. 7, p. 1-11, 22 jun. 2021. Research, Society and Development. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16543>. Acesso em: 05 jul. 2021.

SANTOS, C.R.O. **Uso da anfotericina B lipossomal e de outras drogas no tratamento de pacientes com leishmaniose mucosa: análise da experiência em um serviço de referência para o diagnóstico e tratamento das leishmanioses, 2000-2015**. 2018. Tese (Doutorado em Doenças Infecciosas e Parasitárias) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018. doi:10.11606/T.5.2018.tde-26102018-143556. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5134/tde-26102018-143556/pt-br.php>. Acesso em: 04 ago 2021.

SATO, Y. *et al.* High Mannose-binding Lectin with Preference for the Cluster of α 1–2-Mannose from the Green Alga *Boodlea coacta* Is a Potent Entry Inhibitor of HIV-1 and Influenza Viruses. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 286, n. 22, p. 19446-19458, jun. 2011. Elsevier BV. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.m110.216655>. Acesso em: 08 ago. 2021.

SCHOTTELIUS, J.; COSTA, S.C.G. Studies on the relationship between lectin binding carbohydrates and different strains of *Leishmania* from the New World. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.L.], v. 77, n. 1, p. 19-27, mar. 1982. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0074-02761982000100003>. Acesso em: 18 ago. 2021.

SCORZA, B.; CARVALHO, E.; WILSON, M. Cutaneous Manifestations of Human and Murine Leishmaniasis. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 18, n. 6, p. 1296-1321, 18 jun. 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms18061296>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/18/6/1296>. Acesso em: 21 jun. 2021.

SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, [S.L.], v. 14, n. 11, p. 53-62, 30 jun. 2004. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <https://doi.org/10.1093/glycob/cwh122>. Acesso em: 08 ago. 2021

SILVA, B.R. *et al.* Lectinas como Biomarcadores de Tumores de Cavidade Oral: uma revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia**, [S.L.], v. 57, n. 4, p. 547-555, 30 dez. 2011. Revista Brasileira De Cancerologia (RBC). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.32635/2176-9745.rbc.2011v57n4.657>. Acesso em: 08 ago. 2021.

SILVA, J.A.O. *et al.* Sandflies in an endemic area for Visceral Leishmaniasis in Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S.L.], v. 28, n. 4, p. 569-573, dez. 2019. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612019073>. Acesso em: 24 jun. 2021.

SILVA, L.M.C.M. *et al.* Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of Lectin from Marine Red Alga *Pterocladia capillacea*. **Biological And Pharmaceutical Bulletin**, [S.L.], v. 33, n. 5, p. 830-835, 2010. Pharmaceutical Society of Japan. Disponível em: <https://doi.org/10.1248/bpb.33.830>. Acesso em: 08 ago. 2021.

SILVA, P.M.S. *et al.* Insights into anti-pathogenic activities of mannose lectins. **International**

Journal Of Biological Macromolecules, [S.L.], v. 140, p. 234-244, nov. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.059>. Acesso em: 17 ago. 2021.

SILVA, P.M. *et al.* *Punica granatum* sarcotesta lectin (PgTeL) has antibacterial activity and synergistic effects with antibiotics against β -lactamase-producing *Escherichia coli*. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 135, p. 931-939, ago. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.011>. Acesso em: 08 ago. 2021.

SINGH, R.S.; WALIA, A.K.; KENNEDY, J.F. Structural aspects and biomedical applications of microfungal lectins. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 134, p. 1097-1107, ago. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.093>. Acesso em: 08 ago. 2021.

SOUSA, F.C.A. *et al.* Perfil epidemiológico das doenças negligenciadas de notificação obrigatória no Brasil com análise dos investimentos governamentais na área. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**. [S. L.], v. 9, n. 1, pág. e62911610, 2020. DOI: 10.33448 / rsd-v9i1.1610. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/1610>. Acesso em: 18 jun. 2021.

TAKAHASHI, K.; EZEKOWITZ, R.A.B. The Role of the Mannose-Binding Lectin in Innate Immunity, **Clinical Infectious Diseases**. Volume 41, Issue Supplement_7, novembro de 2005, Pages S440 – S444, Disponível em: <https://doi.org/10.1086/431987>. Acesso em: 08 ago. 2021.

TEIXEIRA, C.R. *et al.* Potential of KM+ lectin in immunization against *Leishmania amazonensis* infection. **Vaccine**, [S.L.], v. 24, n. 15, p. 3001-3008, 5 abr. 2006. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.11.067>. Acesso em: 08 jul. 2021.

VANDERLEI, E.S.O. *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory activities of lectin from the marine green alga *Caulerpa cupressoides*. **International Immunopharmacology**, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 1113-1118, set. 2010. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2010.06.014>. Acesso em: 08 ago. 2021.

VASCONCELOS, J.M. *et al.* American integumentary leishmaniasis: epidemiological profile, diagnosis and treatment. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [S.L.], v. 50, n. 3, p. 221-227, nov. 2018. Revista Brasileira de Análises Clínicas. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21877/2448-3877.201800722>. Acesso em: 4 ago. 2021.

VASCONCELOS, P.P.; ARAÚJO, N.J.; ROCHA, F.J.S. Ocorrência e comportamento sociodemográfico de pacientes com leishmaniose tegumentar americana em Vicência, Pernambuco, no período de 2007 a 2014. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 105-113, 18 dez. 2017. Universidade Estadual de Londrina. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0367.2017v38n1p105>. Acesso em: 24 jun. 2021.

WEI, Z. *et al.* Mannose: good player and assister in pharmacotherapy. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 129, p. 110420, set. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110420>. Acesso em: 18 ago. 2021.

WHO. Leishmaniasis. 2019. Disponível em: <https://www.who.int/health->

topics/leishmaniasis#tab=tab_1. Acesso em: 18 jun. 2021.

WHO. Leishmaniasis. 2021. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 18 jun. 2021.

WU, M. *et al.* A novel thyroglobulin-binding lectin from the brown alga *Hizikia fusiformis* and its antioxidant activities. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 201, p. 7-13, jun. 2016. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.061>. Acesso em: 08 ago. 2021.

XAVIER, K.D.; MENDES, F.C.F.; ROSSI-BARBOSA, L.A.R. LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA: estudo clínico-epidemiológico. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 14, n. 2, p. 1210-1222, dez. 2016.