

SALÃO DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
XXIX SIC




múltipla 
UNIVERSIDADE
inovadora  inspiradora

Evento	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2017
Local	Campus do Vale
Título	Estudo das vias envolvidas na síntese de nucleotídeos no platelminto parasitos Echinococcus spp. e sua relevância para a identificação de novos alvos para o controle parasitário
Autor	MARCELO PASA PANESSO
Orientador	HENRIQUE BUNSELMEYER FERREIRA

Estudo das vias envolvidas na síntese de nucleotídeos no platelminto parasito *Echinococcus* spp. e sua relevância para a identificação de novos alvos para o controle parasitário

Marcelo Pasa Panesso; Martin Cancela Sehabiague & Henrique Bunselmeyer Ferreira (orientador)

Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional e Laboratório de Biologia Molecular de Cestódeos, Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

A fase larval (metacestódeo ou cisto hidático) do *Echinococcus granulosus* é o agente etiológico da hidatidose cística, uma zoonose crônica endêmica no cone sul da América do Sul e de importância agropecuária e de saúde pública. Os cistos hidáticos se desenvolvem em vísceras (geralmente fígado ou pulmões) dos hospedeiros intermediários, que são ungulados domésticos (ovinos, bovinos etc.) ou, eventualmente, o próprio homem. No Brasil, a hidatidose é a cestodíase mais importante depois da cisticercose, causada por *Taenia solium*. No interior do cisto hidático, são gerados os protoescolices, que são as formas pré-adulta e infectivas para o hospedeiro definitivo (em geral, o cão doméstico). O tratamento da hidatidose humana é cirúrgico ou quimioterápico. A abordagem cirúrgica nem sempre é viável e a eficiência dos tratamentos farmacológicos atuais é ainda limitada, havendo necessidade de novos fármacos anti-helmínticos e estratégias terapêuticas. O presente trabalho buscou avaliar enzimas envolvidas na síntese de nucleotídeos como potenciais alvos para controle parasitário. Um dos alvos, a enzima ribonucleotideo-redutase (RNR), está envolvido na síntese *de novo* de desoxiribonucleotídeos a partir de ribonucleotídeos, portanto é de grande importância para síntese e reparo de DNA. Sua inibição pode induzir dano ao DNA podendo levar a morte celular por apoptose. Além da via de síntese *de novo*, os desoxiribonucleotídeos podem ser obtidos pela via de salvação através da captação de nucleosídeos do meio. As enzimas envolvidas nestas vias ainda não foram exploradas nem caracterizadas em *E. granulosus*. Primeiramente, foi avaliado o efeito de inibidores de RNR na viabilidade de protoescolices (PEs) de *E. granulosus*. Para isso, os PEs foram cultivados na presença dos inibidores da enzima RNR, hidroxíurea (HU) e COH29, nas concentrações de 5 mM, 15 mM e 50 mM, e COH29, nas concentrações 0, 0,25 mM, 0,5 mM e 1 mM, respectivamente. Em comparação com protoescolices não tratados, foram observadas perdas de viabilidade 48 h após o tratamento com 50 mM de HU e após 96 h após o tratamento com 1 mM de COH29. Ensaio bioquímico *in vitro* para avaliação da cinética de inibição da RNR de *E. granulosus* por HU e COH29 serão realizados com uma versão recombinante da enzima. Para tanto, a sequência codificadora da subunidade menor da RNR do parasito já foi previamente clonada e expressa em *Escherichia coli* por nosso grupo de pesquisa. Está sendo realizada agora a clonagem da sequência codificadora da subunidade maior, para viabilizar a reconstituição do dímero da RNR funcional *in vitro*. Além disso, foram realizadas análises *in silico* para identificação dos genes codificadores de proteínas das vias de salvação de nucleotídeos, as quais são uma alternativa à síntese *de novo*, permitindo sintetizar nucleotídeos utilizando bases livres ou nucleosídeos presentes no meio. Utilizando as sequências genômicas de *E. granulosus* disponíveis em bancos de dados públicos e algoritmos BLAST, foram identificados genes que codificam proteínas ortólogas às das vias de salvação conhecidas, dentre os quais os codificadores da timidino-quinase e da timidino-quinase 2, evidenciando que o parasito pode obter desoxinucleotídeos fosforilando desoxinucleosídeos presentes no meio. A funcionalidade desta via será futuramente avaliada utilizando inibidores da RNR e meios com e sem e sem suplementação com nucleosídeos.