

267

ESTUDO DA EXPRESSÃO DE CATEPSINAS L NOS DIFERENTES ESTÁGIOS DO CICLO DE VIDA DE FASCIOLA HEPATICA E SUA IMPORTÂNCIA NO PROCESSO DE INVASÃO.

Edileuza Danieli da Silva, Martin Cancela, Arnaldo Zaha (orient.) (UFRGS).

Fasciola hepatica é um trematodo parasito de importância na saúde pública e veterinária. A infecção do hospedeiro definitivo (mamíferos) ocorre através da ingestão de vegetação contaminada com metacercárias. Posteriormente as formas juvenis recém desincistadas migram do intestino até o parênquima hepático, causando hemorragias e danos no tecido. Evidências indicam a utilização, pelo parasito, de proteases no processo de nutrição, invasão e modulação da resposta imune do hospedeiro. Em função disso, estas proteínas são importantes alvos para o desenvolvimento de vacinas contra a fasciolose. Assim como em outros parasitos, os genes de cisteína proteases tipo catepsina L encontram-se como famílias multigênicas altamente expressadas e seus produtos são secretados por vários estágios do ciclo de vida de *F. hepatica*. Através da análise de bibliotecas de cDNA de catepsinas L expressas pelo estágio invasivo identificou-se duas catepsinas L (CL3 e CL4) distintas daquelas expressas pelo estágio adulto (CL1 e CL2). Estes dados sugerem que existe uma expressão predominante ou estágio-específica de cisteína proteases de acordo com os diferentes processos do desenvolvimento do parasito. Este projeto visa analisar a expressão de cisteína proteases em diferentes estágios e identificar aquelas de expressão predominante ou específica do estágio invasivo. Para tal, será feita a extração do RNA total de ovos, juvenis e adultos de *F. hepatica* e posterior síntese de cDNA, para então amplificar mediante PCR as seqüências codificantes de CL1, CL2, CL3 e CL4. Para isso foram projetados *primers* específicos para cada catepsina L, os quais estão sendo otimizados para confirmar sua especificidade. Tanto os *primers* para CL1 como para CL3 demonstraram serem específicos em reações de PCR utilizando como molde plasmídeos contendo insertos das quatro diferentes catepsinas L. Para quantificar a abundância relativa dos mRNAs das diferentes catepsinas L será utilizada a técnica de *Real Time-PCR*.