



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2015
<b>Local</b>	Porto Alegre - RS
<b>Título</b>	Identificação e caracterização de vesículas extracelulares presentes no líquido hidático de espécies do gênero Echinococcus
<b>Autor</b>	MARIA EDUARDA BATTISTELLA
<b>Orientador</b>	ARNALDO ZAHA

TÍTULO: Identificação e caracterização de vesículas extracelulares presentes no líquido hidático de espécies do gênero *Echinococcus*

Autor: Maria Eduarda Battistella

Orientador: Arnaldo Zaha

Instituição: UFRGS

Helminhos da classe Cestoda são endoparasitas obrigatórios de grande importância no mundo todo. Algumas espécies do gênero *Echinococcus* são agentes etiológicos de doenças em humanos e animais domésticos, demandando atenção considerável. Humanos e ungulados domésticos, hospedeiros intermediários, são acometidos pela formação do cisto hidático, o qual é preenchido pelo líquido hidático (LH), sendo que o estágio larval ocorre frequentemente no fígado e pulmões. O processo de infecção por helmintos conta com diversos mecanismos adaptativos vinculados à sobrevivência dos parasitos dependendo da interação entre o parasito e seu hospedeiro. Estudos anteriores mostraram a ocorrência de produtos de excreção/secreção (E/S), tanto do parasito quanto do hospedeiro, no LH, indicando a presença de moléculas relevantes para a análise da interação parasito-hospedeiro. Interessantemente, tanto no LH quanto nos produtos de E/S de cultivo de protoescólices *in vitro* foram identificadas proteínas sem sinal para exportação. Nossa hipótese é que tais proteínas estejam sendo transportadas via vesículas extracelulares como parte da comunicação intercelular entre o parasito e o hospedeiro. O presente estudo busca identificar e caracterizar vesículas extracelulares presentes no LH de *E. granulosus* e *E. ortleppi* em distintas situações da relação parasito-hospedeiro, tais como fertilidade e infertilidade, diferentes concentrações de proteínas do hospedeiro e órgãos distintos. Para tanto, as amostras de LH foram inicialmente analisadas por eletroforese em gel de poliacrilamida-SDS (SDS-PAGE) para classificação das amostras em relação à presença de bandas correspondentes às proteínas do hospedeiro (albumina e imunoglobulinas). Uma vez selecionadas as amostras, as vesículas extracelulares foram isoladas utilizando três procedimentos distintos: “Salting Out”, técnica que se baseia no fato de que os exossomos expressam o fosfolípido fosfatidilserina que possui carga negativa; Kit Total Exosome Isolation (from other body fluids) (Invitrogen), que atua pela agregação das moléculas de água, forçando componentes menos solúveis (como exossomos) a sair da solução, sendo coletados com uma breve centrifugação de baixa velocidade; e conforme descrito por Thery *et al.* (2006), com sucessivas centrifugações para remoção de restos celulares, seguido por duas ultracentrifugações à 100.000g. Para análise da integridade das vesículas, as amostras selecionadas foram submetidas a um teste de sensibilidade à tripsina. Western blot está sendo utilizado para detecção de proteínas frequentes em vesículas. Entre os três métodos de purificação de vesículas, identificamos maior quantidade de proteínas pela metodologia descrita por Thery *et al.* (2006). Também obtivemos indícios indiretos da presença de vesículas uma vez que as proteínas da amostra não foram digeridas pela ação da tripsina. Além disso, enolase e aldolase de *Echinococcus*, proteínas comumente encontradas em vesículas extracelulares, foram detectadas por Western blot. As vesículas também serão caracterizadas pela análise por microscopia eletrônica de transmissão. A possível identificação das vesículas representa um importante avanço no estudo da comunicação intercelular envolvida na relação parasito-hospedeiro, possibilitando posteriores estudos de proteômica e análise de mRNAs e miRNAs presentes em vesículas extracelulares. Apoio financeiro: CNPq e FAPERGS