

Análise da atividade proteolítica dos produtos de excreção e de secreção de larvas de *Cochliomyia hominivorax*

Rodrigo Giglioti¹, Carolina Giglioti², Daniele Schiavone², Jenifer Ferrezini³, Luciana G. Brito⁴, Ana Carolina de Souza Chagas⁵ e Márcia Cristina de Sena Oliveira⁵

¹ Aluno de graduação do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Central Paulista, São Carlos, SP; estagiário e bolsista da Embrapa Pecuária Sudeste.

² Aluna de graduação do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP; estagiária da Embrapa Pecuária Sudeste; bolsista do PIBIC do CNPq.

³ Aluna de graduação do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Central Paulista, São Carlos, SP; estagiária da Embrapa Pecuária Sudeste.

⁴ Pesquisadora da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO.

⁵ Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste.

As miíases produzidas pelos estágios larvais da mosca *Cochliomyia hominivorax* representam grave problema econômico para a pecuária no Brasil. Em estudos com vários dípteros cujas larvas produzem miíases, verificou-se que o estabelecimento das larvas é facilitado pela produção de quantidades consideráveis de enzimas que são secretadas e/ou excretadas pelas larvas para digerir proteínas integrais dos tecidos, o que auxilia o estabelecimento e a nutrição das larvas. Estas enzimas constituem elemento-chave para a sobrevivência larval e para o desenvolvimento da doença. O interesse de investigar enzimas proteolíticas em diferentes sistemas biológicos tem se intensificado ultimamente, porque elas podem fornecer informações importantes sobre a relação parasita-hospedeiro e também porque podem constituir alvo potencial na produção de drogas e de imunógenos para o controle dessa enfermidade. Estes estudos são ainda incipientes em grande parte dos dípteros causadores de miíases, principalmente a *C. hominivorax*, que apresenta distribuição restrita à América Central e à América do Sul. Este trabalho tem por objetivo iniciar a caracterização dos produtos de excreção e de secreção (PES) das larvas de primeiro e de segundo estágio (L₁ e L₂) dessa mosca. Para esse fim, foi estabelecida uma colônia em laboratório e os PES foram obtidos das L₁ e das L₂, utilizando meio RPMI adicionado de antibióticos. A atividade proteolítica dos PES foi investigada, aplicando-se as amostras nativas em gel de poliacrilamida (gradiente de 5% a 12,5%) copolimerizado com gelatina a 0,2%. A natureza da proteólise dos PES de L₁ e de L₂ foi avaliada nesses mesmos géis, aplicando-se amostras nativas previamente incubadas com cada um dos seguintes inibidores de proteases: PMSF, TPCK, TLCK, EDTA e DCI. O perfil de proteólise dos PES de L₁ e de L₂ revelou a presença de hidrólise difusa na faixa que se estende desde a região de massa molecular aparente de >220 kDa até regiões de baixa massa molecular. Nos ensaios com inibidores específicos, a maior intensidade de inibição foi obtida pelo tratamento das amostras dos PES de ambos os estágios larvais com DCI, o que indica a predominância de enzimas do grupo das serinoproteases nesses extratos.