

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

Rodrigo Giglioti<sup>1</sup>, Carolina Giglioti<sup>2</sup>, Daniele Schiavone<sup>2</sup>, Jenifer Ferrezini<sup>3</sup>, Luciana G. Brito<sup>4</sup>, Ana Carolina de Souza Chagas<sup>5</sup> e Márcia Cristina de Sena Oliveira<sup>5</sup>

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

<sup>2</sup> 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.

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

<sup>4</sup> Pesquisadora da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO.

<sup>5</sup> 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 (L<sub>1</sub> e L<sub>2</sub>) dessa mosca. Para esse fim, foi estabelecida uma colônia em laboratório e os PES foram obtidos das L<sub>1</sub> e das L<sub>2</sub>, 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 L<sub>1</sub> e de L<sub>2</sub> 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 L<sub>1</sub> e de L<sub>2</sub> 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.