

## Introdução

Helmintos 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 o estudo da interação parasito-hospedeiro. Além disso, 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 (VEs) como parte da comunicação intercelular entre o parasito e o hospedeiro.

## Objetivo

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.

## Métodos

As amostras de LH foram inicialmente analisadas por eletroforese em gel de poliácridamida-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 com sucessivas centrifugações para remoção de restos celulares, seguido por duas ultracentrifugações à 100.000 x g. Western blot está sendo utilizado para detecção de proteínas frequentemente encontradas em vesículas, como enolase e 14-3-3 de *Echinococcus*. As vesículas foram caracterizadas morfológicamente por microscopia eletrônica de transmissão (MET), realizada no CEME-SUL da FURG. Além disso, foram selecionadas amostras de vesículas extracelulares para análise por espectrometria de massas e amostras para análise qualitativa e quantitativa da glicoproteína fetuina bovina em cistos oriundos de diferentes órgãos.

Apoio:

## Resultados

A análise por Western blot possibilitou a identificação de proteínas como enolase e 14-3-3 em líquido hidático de cistos férteis e inférteis (Fig 1A). Além disso, foi possível detectar vesículas com morfologia características de microvesículas e exossomos em líquido hidático de cistos férteis e inférteis na análise por MET (Fig 1B).

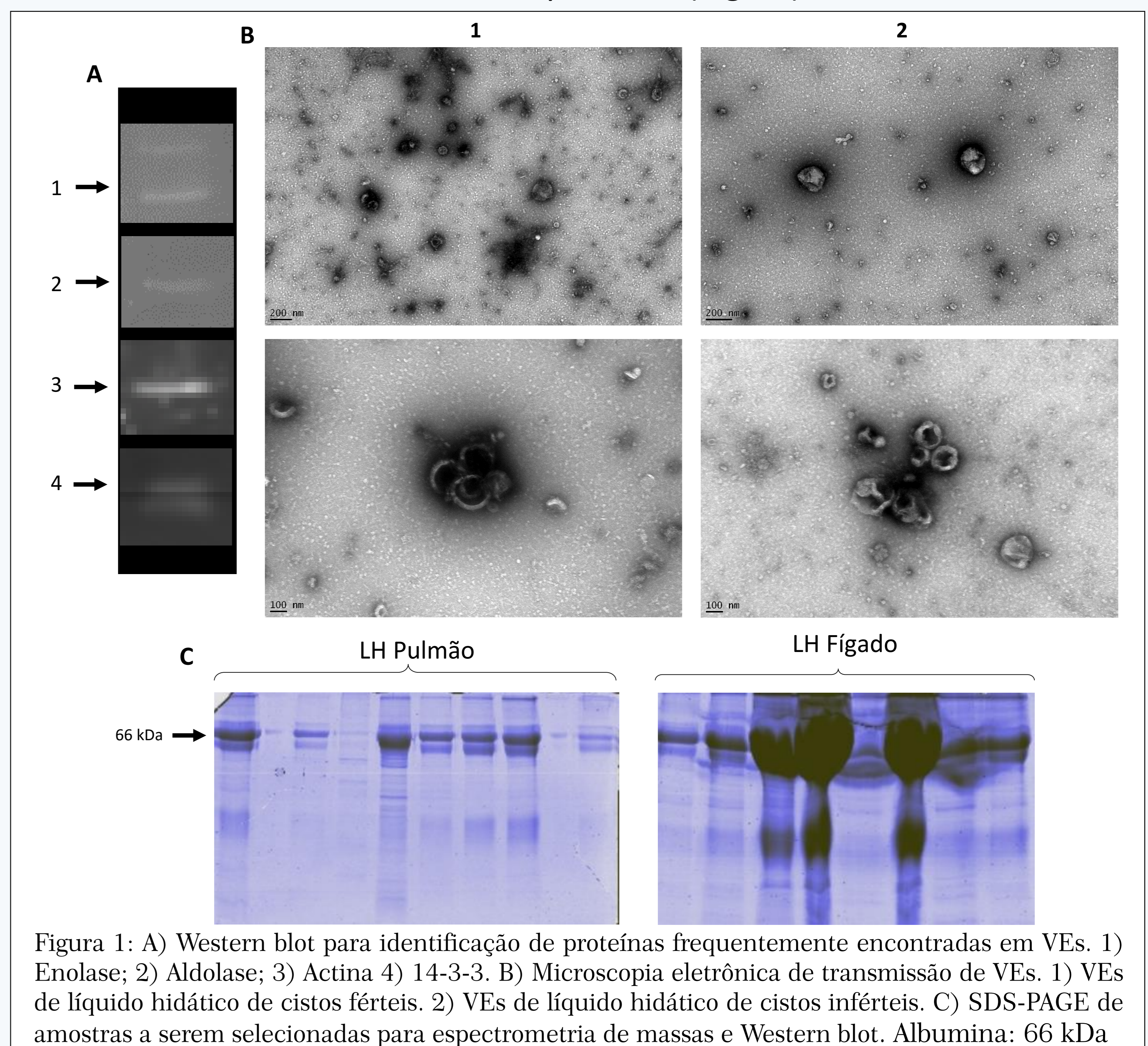


Figura 1: A) Western blot para identificação de proteínas frequentemente encontradas em VEs. 1) Enolase; 2) Aldolase; 3) Actina; 4) 14-3-3. B) Microscopia eletrônica de transmissão de VEs. 1) VEs de líquido hidático de cistos férteis. 2) VEs de líquido hidático de cistos inférteis. C) SDS-PAGE de amostras a serem selecionadas para espectrometria de massas e Western blot. Albumina: 66 kDa

## Discussão

Os resultados encontrados suportam a hipótese de que proteínas poderiam estar sendo transportadas por VEs. Existem dois grandes grupos de VEs, exossomos e microvesículas. Estudos recentes indicam que essas VEs têm papel importante na comunicação parasito-hospedeiro. Estudos posteriores de proteômica, para identificar a composição de VEs, e de transcritômica, para avaliar a presença de mRNAs e miRNAs em VEs, possibilitarão uma melhor compreensão da interação parasito-hospedeiro.

## Referências

- Brownlee Z, Lynn KD, Thorpe PE, Schroit AJ. A novel "salting-out" procedure for the isolation of tumor-derived exosomes. *J Immunol Methods* 2014; 407:120-126.  
 Monteiro KM, de Carvalho MO, Zaha A, Ferreira HB. Proteomic analysis of the *Echinococcus granulosus* metacestode during infection of its intermediate host. *Proteomics* 2010; 10:1985-1999.  
 Théry C, Amigorena S, Raposo G, Clayton A. Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids. *Curr. Protoc. Cell Biol.* 2006; Chapter 3:Unit 3.22.  
 Zhang W, McManus DP. Recent advances in the immunology and diagnosis of echinococcosis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006; 47:24-41.