

## ANÁLISE "*IN SILICO*" DAS PROTEÍNAS OBTIDAS DE VESÍCULAS EXTRACELULARES DE *TRYPANOSOMA VIVAX*

Cauane Aparecida Rech, Brenda Guedes Ribeiro, Erika Maso Sensolo Aline da Rosa  
Maciel, Julia Marques, Gabriela Kaiser Borges, Gabriella Bassi das Neves,  
Luiz Claudio Miletto

### INTRODUÇÃO

A tripanossomíase é uma enfermidade ocasionada por protozoários patogênicos pertencentes ao gênero *Trypanosoma*. Dentre eles, o *Trypanosoma vivax*, um organismo flagelado, emerge como um dos principais agentes causadores, acarretando significativas perdas econômicas na indústria pecuária, em virtude de sua elevada morbidade e mortalidade no rebanho bovino (DESQUESNES et al, 2004). Os impactos decorrentes dessa tripanossomíase estão intimamente relacionados à redução na produção animal, agravada pela ampla variedade de vetores e hospedeiros suscetíveis, além da imunodeficiência que aflige os animais, muitos dos quais encontram-se subnutridos.

Apesar do notável impacto causado por esse agente patogênico, existem poucos estudos abordando a bioquímica da tripanossomose bovina. Dessa forma, a busca pela compreensão dessa patologia se torna de alta relevância. Sabe-se que as células eucarióticas possuem a capacidade de liberar vesículas extracelulares (VEs), estruturas que desempenham um papel crucial na comunicação intercelular. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi de identificar proteínas que possam ser empregadas como biomarcadores em um diagnóstico diferencial da doença.

### DESENVOLVIMENTO

Foram utilizados três ovinos machos da raça Crioula, com idade superior a quatro meses, provenientes da Fazenda São Bom Jesus, em Ponte Alta do Sul/SC. Cada um das ovelhas foi submetida à esplenectomia total cirúrgica, seguida de um período de recuperação adequado. Posteriormente, realizou-se a inoculação intravenosa de amostras criopreservadas de *T. vivax*. Após a inoculação do parasita, a parasitemia foi monitorada até que se alcançasse a contagem ideal de parasitas por campo. Esse controle foi realizado através da medição da temperatura retal dos animais, verificação do hematócrito e realização de exames parasitológicos (sangue fresco em lâmina/lamínula, técnica de Woo e Buffy Coat).

Ao atingir o pico de parasitemia, foram coletadas amostras de sangue em bolsas contendo citrato de sódio como anticoagulante. Essas amostras foram submetidas à purificação utilizando Percoll® tamponado com HEPES (pH 7) (GRAB & BWAYO, 1982), com o objetivo específico de isolar o hemoparasita, segregando-o dos demais componentes sanguíneos.

O procedimento de isolamento das vesículas extracelulares foi iniciado com a incubação do parasita purificado em meio de secretoma (PBS com 60% de glicose, L-glutamina e MEM) por 2 horas a 37°C. Após esse período de incubação, as amostras foram submetidas à centrifugação a 2.000 g por 10 minutos a 4°C, resultando na formação

de um pellet contendo os parasitos. O sobrenadante foi cuidadosamente removido e submetido a uma segunda centrifugação a 11.000 g por 2 horas a 4°C, com o propósito de sedimentar as vesículas extracelulares.

Os pellets foram ressuspensos em 200 µL de solução estéril de PBS 1X, sendo armazenada a -20°C até a realização da análise proteômica.

A análise proteômica foi realizada no serviço de espectrometria de massa do Instituto Carlos Chagas na FIOCRUZ- PR seguindo os protocolos daquela unidade.

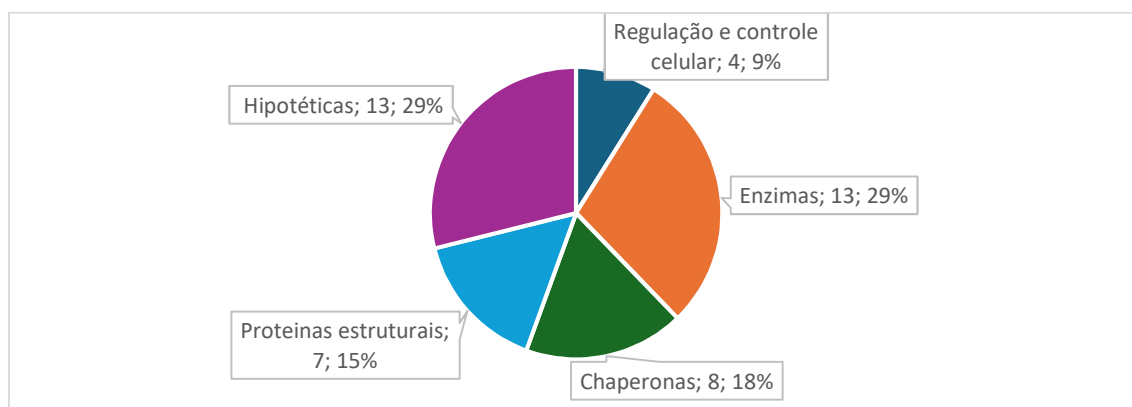
## RESULTADOS

Os peptídeos tripticos foram separados e analisados usando um sistema online EASY-nLC 1000 UHPLC (Thermo) acoplado a um espectrômetro de massa Thermo LTQ Orbitrap XL ETD (Thermo). A análise resultou na identificação de 45 proteínas específicas de *T. vivax* (Figura 1). Essas proteínas na sua maior parte estão relacionadas com processos enzimáticos e com a estrutura celular do parasita.

**CONSIDERAÇÕES FINAIS** Numa análise preliminar pode se identificar proteínas previamente identificadas em outro parasita congênere, também estudado pelo nosso grupo, o *T. evansi*. De maneira especial foram encontradas as proteínas: KMP-11, envolvida na facilitação da infecção pelo parasita (WEI et al, 2021) e a enolase já estudada como uma possível biomarcador (LI et al, 2020)

**Palavras-chave:** vesículas extracelulares; *Trypanosoma vivax*; proteínas.

## ILUSTRAÇÕES



**Figura 1.**

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

DESQUESNES, M. *Livestock trypanosomoses and their vectors in Latin America*. Paris: OIE World Organization for Animal Health, 2004.

GRAB, D. J.; BWAYO, J. J. Isopycnic isolation of African trypanosomes on Percoll gradients formed in situ. *Acta Tropica*, v. 39, p. 363-366, 1982

LI, Z.; PINTO TORRES, J. E.; GOOSSENS, J.; VERTOMMEN, D.; CALJON, G.; STERCKX, Y. G.; MAGEZ, S. An unbiased immunization strategy results in the identification of enolase as a potential marker for nanobody-based detection of *Trypanosoma evansi*. *Vaccines (Basel)*, v. 8, n. 3, p. 415, 2020

WEI, R.; LI, X.; WANG, X.; ZHANG, N.; WANG, Y.; ZHANG, X.; GONG, P.; LI, J. *Trypanosoma evansi* evades host innate immunity by releasing extracellular vesicles to activate TLR2-AKT signaling pathway. *Virulence*, v. 12, n. 1, p. 2017-2036, 2021

---

**DADOS CADASTRAIS**

---

**BOLSISTA:** Cauane Aparecida Rech

**MODALIDADE DE BOLSA:** PIBIC/CNPq

**VIGÊNCIA:** 04/2025 a 08/2025 – Total: 5 meses

**ORIENTADOR(A):** Luiz Claudio Miletti

**CENTRO DE ENSINO:** CAV

**DEPARTAMENTO:** Produção Animal e Alimentos

**ÁREAS DE CONHECIMENTO:** Ciências Biológicas

**TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA:** - Caracterização molecular e funcional de vesículas extracelulares de *Trypanosoma vivax*, agente causador da secadera no Brasil. Busca por alvos para imunodiagnóstico e quimioterapia

**Nº PROTOCOLO DO PROJETO DE PESQUISA:** NPP3122-2021