

DESENVOLVIMENTO DE APTÂMEROS CONTRA *TRYPANOSSOMA EVANSI*

Crislauana Garcia¹, Maria de Lourdes Borba Magalhaes², Luiz Claudio Miletti³

¹ Acadêmica do curso de Medicina Veterinária, CAV – bolsista PROBITI/UDESC

² Orientador, Professor do Departamento de Produção Animal e Alimentos, CAV – maria.magalhaes@udesc.br

³ Professor Participante do Departamento de Produção Animal e Alimentos, CAV

Palavras-chave: Aptâmeros. *Trypanosoma evansi*. *Trypanosoma cruzi*.

Atualmente as doenças parasitárias ainda se caracterizam como um dos maiores problemas mundiais de saúde pública. Dentre estas doenças o patógeno que mais acomete a população latino-americana é o *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas. Segundo a Fundação Oswaldo Cruz, estima-se que existam cerca de 12 milhões de portadores da doença crônica nas Américas, e aproximadamente 2 a 3 milhões no Brasil. O objetivo geral deste projeto consiste no desenvolvimento de aptâmeros específicos contra *T. cruzi* para uso em diagnóstico e tratamento da doença de Chagas. No entanto, pela falta de estrutura para cultivo do *T. cruzi*, decidimos trabalhar com outro modelo de tripanossomatídeo, mais fácil de ser manipulado, extraído e purificado, o *Trypanosoma evansi*. Ambos pertencem a uma família de parasitas hemoflagelados intra e extracelulares que podem infectar e causar doenças nas mais diversas ordens de vertebrados e invertebrados variando apenas na sua forma de infecção e sintomatologia da doença. O *T. evansi* é o agente causador de uma doença popularizada como “Surra” ou “Mal das cadeiras”, transmitido principalmente pelos insetos da família *Tabanidae*. No Brasil foi descrito um surto em equinos no pantanal mato-grossense no estado do Mato Grosso, no Rio Grande do Sul e na Região Norte do país na Ilha de Marajó, no Pará. Porém, por ser ainda um parasito negligenciado, não existem dados precisos sobre o número de animais acometidos pela doença no Brasil e na América Latina. As drogas usadas para o tratamento desta tripanossomíase não garantem o desaparecimento total do patógeno do organismo do hospedeiro e ainda em sua maioria causam toxicidade e lesões teciduais no local da lesão. Aptâmeros são moléculas de ácidos nucléicos com função diagnóstica e terapêutica semelhante a anticorpos, mas que não dependem do manejo de animais para o seu desenvolvimento e ainda possuem a vantagem de fácil manipulação de sua estrutura molecular. Sua aplicação abrange então, os campos biotecnológico, diagnóstico e terapêutico. O método inicial de desenvolvimento dos aptâmeros contra *T. evansi* foi através da técnica de SELEX, procedimento que permite a seleção de aptâmeros de RNA contra diversos alvos moleculares. Desta forma uma biblioteca de aptâmeros de RNA foi construída e incubada com *Trypanosoma evansi*. As moléculas que se ligaram especificamente ao parasita foram primeiramente extraídas com o auxílio da técnica de extração de RNA total com Trizol. O RNA extraído foi submetido a reação da Transcrição Reversa, seguida de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi escolhido 12 ciclos de amplificação para em seguida produção de dsDNA em larga escala. Uma nova reação de transcrição foi feita com

DNA dupla fita proveniente do primeiro round de seleção, e o RNA produzido foi purificado por eletroforese em gel de bis-acrilamida. Os achados mostram que os experimentos realizados no projeto estão sendo realizados com sucesso. Novos rounds de seleção serão realizados para o enriquecimento da biblioteca de RNA, e após iremos realizar a triagem dos clones com ligação específica ao parasita *T. evansi*. Como estamos obtendo ótimos resultados com a amplificação, extração e purificação do RNA selecionado para *T. evansi*, temos a possibilidade de utilizar este mesmo protocolo de construção de uma biblioteca de RNA e seleção das moléculas específicas para *T. cruzi*, objetivo geral do presente projeto.