



IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS E INVESTIGAÇÃO DE ELEMENTOS INORGÂNICOS PRESENTES NO LÍQUIDO COXAL DE ESPÉCIES DE CARRAPATOS ARGASÍDEOS NEOTROPICAIS
PROTEIN IDENTIFICATION AND INVESTIGATION OF INORGANIC ELEMENTS PRESENT IN COXAL FLUID OF NEOTROPICAL ARGASID TICK SPECIES

S.M. Simons¹, F. Faria², S. Muñoz-Leal³, M.B. Labruna³, V.C. Onofrio¹, R.Z. Mendonça¹, C.B. Zamboni⁴, M.F. Fanhani¹ & D.M. Barros-Battesti⁵

¹Lab. de Parasitologia, Inst. Butantan, São Paulo, SP; ²Lab. de Bioquímica, Inst. Butantan, São Paulo, SP; ³Dep. de Medicina Vet. Prev. e Saúde Animal, Lab. de Doenças Parasitárias, USP, São Paulo, SP; ⁴Inst. de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN /CNEN, São Paulo, SP; ⁵Lab. Esp. de Coleções Zoológicas, Inst. Butantan, São Paulo, SP.

Uma das principais características biológicas que define a família Argasidae é a rápida ingurgitação, o que gera mudanças hidrostáticas internas que são compensadas pela excreção do excesso de líquido por meio das glândulas coxais. Até o momento a composição proteica do líquido coxal (LC) de carrapatos foi pouco estudada. O objetivo foi realizar um *screening* do LC de três espécies de argasídeos parasitos de mamíferos no Brasil (*Ornithodoros brasiliensis*, *O. fonsecai*, *O. rostratus*) e de três espécies parasitas de aves marinhas do Chile (*Ornithodoros* sp. Morfotipo I e Morfotipo II e *Argas* sp.). Também se realizou a investigação da composição elemental das três espécies brasileiras utilizando técnica de Análise por Ativação Neutrônica (AAN). Para tanto, esta secreção foi coletada durante e após a alimentação dos carrapatos em coelhos, e mantida a -20° C até o uso. A dosagem proteica foi realizada pelo método de Bradford e o perfil foi analisado por SDS-PAGE 12,5%. Ensaio de atividade sobre os fatores de coagulação foram obtidos através da incubação de 3 µg de amostra com o FXa ou trombina por 10 min a 37°C, e a atividade amidolítica das enzimas foi avaliada sobre substratos cromogênicos, S-2765 e S-2238 (Chromogenix), respectivamente. Para verificar a possível interação com plaquetas incubou-se Plasma Rico em Plaquetas com LC (~3µg) por 10 min a 37°C e a agregação foi induzida por colágeno e por ADP. A composição elemental foi realizada pela técnica de AAN. A dosagem proteica das amostras de LC ficou entre 12 e 310 µg/ml, exceto o LC de *Argas* sp. que apresentou 6mg/ml. O perfil eletroforético demonstrou proteínas entre 10 e 130 kDa, sugerindo a presença de diferentes componentes em cada espécie. Ensaio sobre o FXa mostraram que o LC de *Ornithodoros* sp. Morfotipo I, *O. brasiliensis* e *O. rostratus* foram capazes de inibir o FXa em cerca de 35,5%, 27,5% e 43%, respectivamente. Nenhuma das amostras apresentou inibição sobre trombina, por outro lado, o LC de *Ornithodoros* sp. Morfotipo I mostrou-se capaz de clivar o substrato S-2238. A agregação plaquetária induzida por colágeno foi inibida pelas secreções de *Ornithodoros* sp. Morfotipo I, Morfotipo II e *O. fonsecai* em 13, 16 e 20%, respectivamente. Nenhuma das espécies inibiu a agregação plaquetária induzida por ADP. Foi observado que 3 µg do líquido coxal de *Argas* sp. aumentaram a agregação em 14%, quando comparado ao controle. Os resultados da AAN indicam Br, Ca, Cl, Mg, Na e P como componentes majoritários. Esses achados constituem evidência da presença de proteínas no LC desses carrapatos e expõem questões relativas à função dessas moléculas na história natural das espécies, cujos componentes merecem ser melhor investigados.

Palavras-chave: Argasidae, glândula coxal, proteínas anticoagulantes

Financiamento: Programa de Formación de Capital Humano Avanzado. Beca Chile N°72140079