

CARACTERIZAÇÃO DE ENZIMAS NADPH OXIDASES EM STOMOXYS CALCITRANS: PAPEL NA IMUNIDADE E DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

IX Reunião Anual de Iniciação Científica da UFRRJ (RAIC 2021/2022) e III Reunião Anual de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (RAIDTec 2021/2022) - UFRRJ, 0ª edição, de 15/05/2023 a 19/05/2023
ISBN dos Anais: 978-65-5465-041-0

BRAZ; Lucas Alecsander¹, MAGALHÃES; Francisco Rômulo Oliveira², TONI; Douglas Machado³, SANTOS; Luan Valim dos Santos⁴, WALTER-NUNO; Ana Beatriz⁵, GONÇALVES; Keyla Cristiny da Silva⁶, PONTES; Emerson Guedes⁷, OLIVEIRA; Pedro Lagerblad⁸, COSENTINO-GOMES; Daniela⁹, FAMPA; Patrícia¹⁰

RESUMO

Introdução: *Stomoxys calcitrans* (Muscidae), mosca-dos-estábulo, são insetos hematófagos, sendo vetor mecânico de vários patógenos para bovinos e equinos (Baldacchino, 2013). Nosso grupo demonstrou pela primeira vez no Brasil, indivíduos contendo *Anaplasma marginale*, agente etiológico de anaplasmo bovino (Araújo, 2021). Os prejuízos econômicos estimados no Brasil são de 350 milhões de dólares na pecuária (Grisi, et al., 2014). Apesar do genoma descrito (Olafson, et al., 2021), há ainda poucos estudos sobre a fisiologia de *S. calcitrans*. As enzimas NOX, NADPH-oxidases, são responsáveis pela produção fisiológica de espécies reativas de oxigênio (ERO). Artrópodes apresentam NOX 5, DUOX e alguns grupos também a NOX-art (Gandara et. al, 2017). Como descrito em outro trabalho nosso, encontramos 5 sequências de leitura aberta de NOX em *S. calcitrans*, com homologia à NOX 5 e DUOX e a partir dessas sequências, iniciamos a caracterização de sua expressão na mosca. Além disso, postagens sobre o tema em páginas do Instagram que começaram no primeiro ano, continuaram. **Objetivos:** Analisar a expressão dos genes NOX 5 e DUOX por PCR em tempo real em diferentes tecidos; avaliar a dosagem de peróxido de hidrogênio na ausência e presença de inibidor de NOX e analisar a produção de ERO em diferentes tecidos e após diferentes dietas. **Metodologia:** Foram utilizadas moscas da colônia mantida em nosso laboratório como descrito no trabalho do grupo (Florencio, et al., 2020) e sob aprovação do CEUA número 7280210922; 72h pós alimentação com sangue bovino, os intestinos e corpo gorduroso foram dissecados, com obtenção de RNA e síntese de cDNA. O material foi submetido a PCR em tempo real para amplificação de NOX 5 e DUOX; Moscas recém emergidas, e 24h após alimentação com sacarose, sangue bovino ou jejum foram dissecadas e os corpos gordurosos (CG) e intestinos dissecados nas diferentes porções médio (IM) e posterior (IMP). Esse material foi utilizado para quantificação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), com formação de um marcador fluorescente cuja produção é quantificada, na presença ou ausência de difenilenoiodônio (DPI) inibidor de NOX (Consentino et al., 2014); alternativamente esse material foi marcado com “oxidant-sensitive fluorophore dihydroethidium” (DHE), marcador de ERO e observado ao microscópio de fluorescência (Walter-Nuno, et al., 2018). **Resultados:** NOX 5 é mais expresso em corpo gorduroso do que intestino e DUOX é mais expresso em intestino do que em corpo gorduroso. Nos ensaios de H₂O₂, a produção foi maior em IM da alimentação com sangue e em jejum, em relação à sacarose e onde a adição com DPI reduziu em torno de 30%. A marcação preliminar de ERO com DHE foi bem mais intensa em intestinos de moscas em jejum, sem muita diferença entre alimentados com sangue e sacarose. **Conclusões:** Os dados indicam pela primeira vez a presença das enzimas NOX5 e DUOX em *S. calcitrans* em órgãos de extrema importância para a fisiologia dessas moscas. Em relação à produção de ERO, estudos relatam que o intestino médio de insetos hematófagos tem uma alta produção de NOX devido ao estresse oxidativo causado pela ingestão sanguínea, como observado para *S. calcitrans*.

¹ ICBS/UFRRJ, patriciafampa@gmail.com

² PPGCV/IV/UFRRJ, romulombio@outlook.com

³ IQ/UFRRJ, douglaston9@gmail.com

⁴ IQ/UFRRJ, luanvalims@gmail.com

⁵ IBQ/UFRRJ, abnuno@biogmed.ufrrj.br

⁶ IBQ/UFRRJ, keylacristiny@gmail.com

⁷ IQ/UFRRJ, eegpontos.ufrrj@gmail.com

⁸ IBQ/UFRRJ, pedro@biogmed.ufrrj.br

⁹ IQ/UFRRJ, danicosentino@yahoo.com.br

¹⁰ ICBS/UFRRJ, pfampa@ufrrj.br

¹ ICBS/UFRRJ, patriciafampa@gmail.com
² PPGCV/IV/UFRRJ, romulombio@outlook.com
³ IQ/UFRRJ, douglaston9@gmail.com
⁴ IQ/UFRRJ, luanvalims@gmail.com
⁵ IBqM/UFRRJ, abnuno@bioqmed.ufrrj.br
⁶ IBqM/UFRRJ, keylacrystiny@gmail.com
⁷ IQ/UFRRJ, eegpontes.ufrrj@gmail.com
⁸ IBqM/UFRRJ, pedro@bioqmed.ufrrj.br
⁹ IQ/UFRRJ, danicosentino@yahoo.com.br
¹⁰ ICBS/UFRRJ, pfampa@ufrrj.br