

# Doença de **CHAGAS** e evolução

Antonio Teixeira

N.Cham 616.937.3 T266d 2007

\* Autor: Teixeira, Antonio R L(Raimundo)

Título: Doença de Chagas e evolução .



10069010

Ac. 199911

Ex.4 BCE

EDITORA  
  
UnB

**FINATEC**

FUNDAÇÃO DE AMPARO A INVESTIMENTOS  
CIENTÍFICOS E TECNOLÓGICOS



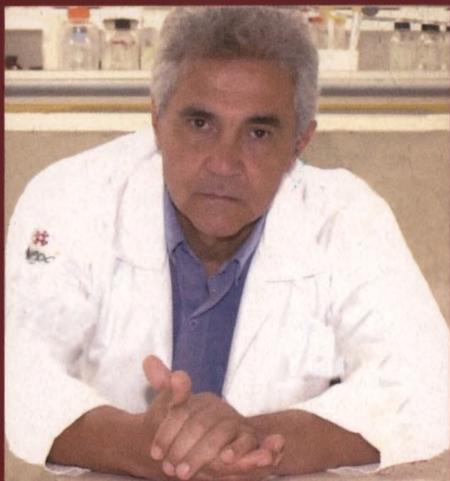


Foto : J. Freitas

ANTONIO TEIXEIRA diplomou-se em Medicina pela Universidade Federal da Bahia, onde exerceu a docência. Tem doutorado em Patologia pela Universidade Federal de Minas Gerais. Fez pós-doutorado no National Institutes of Health, EUA, e diversos estudos científicos na Universidade Cornell, de Nova York, no L'Institut de Cancérologie et d'Immunogénétique, em Villejuif, França, e no Departamento de Imunologia da Universidade de Manitoba, Canadá.

A Commonwealth, a Fulbright Foundation e o Ministère des Affaires Étrangères da França concederam-lhe bolsas de pesquisa. Professor titular da Universidade de Brasília, atualmente leciona a disciplina Parasitologia. Sua atividade de pesquisa científica está concentrada no tema doença de Chagas. Diante da abrangência do tema e da necessidade de abordá-lo com o auxílio de diversas metodologias, ele estabeleceu o Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa em Doença de Chagas e, juntamente com colegas nas áreas de genética, bioquímica, imunologia, parasitologia, patologia e clínica médica, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Patologia Molecular na Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília. Tem mais de uma centena de trabalhos científicos publicados em revistas nacionais e internacionais indexadas. Doutor Antonio Teixeira é Pesquisador Sênior 1A do CNPq.

# Doença de Chagas e evolução



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

REITOR

Timothy Martin Mulholland

VICE-REITOR

Edgar Nobuo Mamiya



DIRETOR . Henryk Siewierski

DIRETOR-EXECUTIVO . Alexandre Lima

CONSELHO EDITORIAL : Beatriz de Freitas Salles . Dione Oliveira Moura . Henryk Siewierski .

Jader Soares Marinho Filho . Lia Zanotta Machado . Maria José Moreira Serra da Silva .

Paulo César Coelho Abrantes . Ricardo Silveira Bernardes . Suzete Venturelli

FUNDAÇÃO DE EMPREENDIMENTOS CIENTÍFICOS E TECNOLÓGICOS – FINATEC

### CONSELHO SUPERIOR

*Presidente:* Prof. Antonio Manoel Dias Henriques

#### **Conselheiros:**

Prof. André Pacheco de Assis

Prof. João Manoel Dias Pimenta

Prof. Antonio Raimundo Lima Cruz Teixeira

Prof. José Maurício Santos Torres da Motta

Prof. Augusto César Bittencourt Pires

Prof. Márcio Nunes I Aranha Oliveira

Prof. Fernando Jorge Rodrigues Neves

Prof. Milton Luiz Siqueira

Prof. Guilherme Sales S. Azevedo Melo

Prof. Valdir Filgueiras Pessoa

Prof. Ivan Marques de Toledo Camargo

### CONSELHO FISCAL

*Presidente:* Prof. Nelson Martin

#### **Conselheiros:**

Prof. José Imana Encinas – Titular

Prof. Roberto Francisco Bobenrieth Miserda – Titular

Prof. Flamínio Levy Neto – 1º Suplente

Prof. Edson Paulo da Silva – 2º Suplente

Prof. Zulmira Guerrero M. Lacava – 3º Suplente

### DIRETORIA EXECUTIVA

**Prof. Sadek Crisóstomo Absi Alfaro – Diretor Presidente**

Prof. Carlos Alberto Bezerra Tomaz – Diretor Secretário

Prof. Francisco Ricardo da Cunha – Diretor Financeiro



Antonio Teixeira

# Doença de Chagas e evolução



Brasília, 2007

EDITORA  
  
UnB

FINATEC  


Este livro foi aprovado pelo Conselho Editorial da Universidade de Brasília e a edição apoiada pela **Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos - FINATEC**

### Equipe editorial

Rejane de Meneses · SUPERVISÃO EDITORIAL  
Sonja Cavalcanti · ACOMPANHAMENTO EDITORIAL  
Rejane de Meneses e Yana Palankof ·  
PREPARAÇÃO DE ORIGINAIS E REVISÃO  
Formatos Design Gráfico · CAPA  
Fernando Manoel das Neves · Ivanise Oliveira de Brito · EDITORAÇÃO ELETRÔNICA  
Elmano Rodrigues Pinheiro · ACOMPANHAMENTO GRÁFICO

Copyright © 2007 by Antonio Teixeira

Impresso no Brasil

Direitos exclusivos para esta edição:

Editora Universidade de Brasília  
SCS Q. 2 - Bloco C - nº 78  
Ed. OK – 1º andar  
70302-907 – Brasília-DF  
Tel.: (61) 3035-4211  
Fax: (61) 3035-4223  
www.editora.unb.br  
www.livrariauniversidade.unb.br  
e-mail: direcao@editora.unb.br

Finatec – Universidade de Brasília  
Campus Universitário Darcy Ribeiro  
Ed. Finatec – Asa Norte  
70910-900 – Brasília-DF  
Tel.: (61) 3348-0400  
Fax: (61) 3307-3201  
www.finatec.org.br  
e-mail: finatec@finatec.org.br

Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta publicação poderá ser armazenada ou reproduzida por qualquer meio sem a autorização por escrito das Editoras.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade de Brasília

---

T266            Teixeira, Antonio  
                  Doença de Chagas e evolução / Antonio Teixeira. – Brasília : Editora  
                  Universidade de Brasília : Finatec, 2007.  
                  310 p.

ISBN: 85-230-0858-6 Editora Universidade de Brasília  
ISBN: 85-85862-34-3 Finatec

1. Clínica médica. 2. Doença de Chagas. 3. *Trypanosoma cruzi*. 4. Genética.  
5. Patologia – evolução.

CDU 61

---

*IN MEMORIAM*

*Ao meu avô Firmino, fazendeiro que sucumbiu à doença de Chagas, aos 42 anos de idade, deixando a avó Virginia e seis filhos órfãos.*

*Aos meus pais, Deraldo e Flora, que me ensinaram a aprender fazendo e a amar a liberdade.*



## Nota do autor

A vida nunca foi lógica, tampouco parece lógica a via que me conduziu a esta análise do que seria uma possível contribuição à ciência. Entretanto, ao longo de quarenta anos de militância na pesquisa sobre a doença de Chagas foi possível, neste ponto, avaliar como tem sido o percurso da produção do conhecimento que, finalmente, aparece em forma de capítulos deste livro.

O olhar retrospectivo mostra uma periodicidade nesta forma de prestação de contas perante a sociedade que patrocinou a produção científica. Se dissesse ao leitor que não planejei fazê-la, poderia ser reprovável, diante da exigência de alguns fóruns de estringência que admitem que o intuitivo não participe significativamente do processo de construção do conhecimento. Porém, seria recomendável usar uma citação como alibi: “Intuição é o que você não sabe que sabe, mas sabe”, frase que li na autobiografia do genial Tostão. Mais além, esta prestação de contas pode evidenciar a idéia de que gostaria de continuar sendo depositário da confiança da sociedade.

Intuitivamente, parei para lançar olhar retrospectivo a cada dez anos. Em 1977, escrevi o capítulo *Immunoprophylaxis against Chagas disease*, do livro *Immunity to blood parasites of animals and man*, da série *Advances in experimental medicine and biology*, editado por L. H. Miller, J. A. Pino e J. J. McKelvey Jr., Plenum Press, New York. Em 1987, convidado pelo editor E. S. L. Soulsby, escrevi o capítulo *The stercorearian trypanosomes* para o livro *Immune responses in parasitic infections: immunology, immunopathology and immunoprophylaxis*, CRC Press, Boca Raton, Flórida. Novamente, em 1996, convidado a contribuir para o capítulo “Autoimmunity in Chagas Disease”, do livro *Microorganisms and autoimmune diseases*, da série *Infectious Agents and Pathogenesis*, editado por H. Friedman, N. R. Rose, M. Benedelli, Plenum Press, London. E, em 2006, convidado para contribuir com o artigo de revisão “Evolution and pathology in Chagas disease”, para o conceituado jornal científico *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, do Rio de Janeiro. Essa frequência na apresentação de artigos de revisão, que considero parcimoniosa, pode ser explicada no mundo científico, que considera a produção da verdadeira contribuição ao conhecimento novo mais significativa que o papel de sua divulgação.

A percepção desse segundo livro nasceu de negociações com os editores de jornais científicos que cederam o direito sobre os artigos antes publicados na língua inglesa. Esta também foi a gênese do primeiro livro, intitulado *Doença de Chagas e outras doenças por trypanossomos*, publicada pela Editora Universidade de Brasília/CNPq em 1987. No prefácio do livro, o saudoso Professor Phillip Marsden destaca:

Um dos maiores problemas em biomedicina ainda é a comunicação. Por exemplo, quem no Brasil tem conhecimento dos avanços recentes, neste campo, que se conquistaram na China e na União Soviética? Um fator dominante deste isolamento que atinge muitos povos é a linguagem. Não se prevê o advento de um esperanto científico neste momento. Uma solução parcial é publicar o material de referência útil em mais de uma língua.

Sigo até hoje essa recomendação de Phil Marsden. Dessa forma, o livro foi elaborado para o acesso do leitor curioso, que não necessariamente se limita ao especialista.

Outra constatação que pode ser feita pelo leitor ao seguir para as próximas páginas é que Guimarães Rosa estava certo ao afirmar: “Ciência é mutirão de muitos”. A construção coletiva do saber é marca de quatro décadas de experiência descrita aqui. Jamais esta obra teria sido possível se o autor não tivesse tido a felicidade de juntar jovens de diversas origens, tendo como único argumento a força da idéia na investigação de uma doença intrinsecamente presente na vida das famílias. E nada mais pode ser dito, pois jamais foi garantido o que vai acontecer na pesquisa feita no Brasil no ano seguinte. E, finalmente, o melhor de tudo: a vida é algo muito precioso para ser dedicada à segunda coisa que mais se ama. Feita a escolha, chegam as forças necessárias à construção do saber.

Tenho enorme débito com todos que contribuíram direta ou indiretamente com a realização do trabalho apresentado neste livro. Muitos deles, que permanecem no anonimato, tiveram uma participação significativa na organização dos meios para execução do trabalho. Outros, os colaboradores, são reconhecidos pelos nomes na literatura citada na obra. Os agradecimentos estendem-se às fontes de fomento à pesquisa e à pós-graduação: Financiadora de Estudos e Projetos (Finep), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Ministério da Ciência e Tecnologia, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) Ministério da Educação, Divisão de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde e Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos (Finatec).

Sou particularmente reconhecido à Universidade de Brasília (UnB), que ao longo desses anos me tem oferecido a ambiência aconchegante essencial para o cumprimento da missão compartilhada na produção e na transmissão de conhecimento novo. O reconhecimento estende-se à Universidade Federal de Minas Gerais, que me acolheu e me concedeu o título de Doutor mediante defesa direta de tese. Agradeço ainda à Cornell Medical College e a outras instituições no exterior que me ajudaram no ritual de passagem em busca de conhecimento.

O livro foi escrito com o cuidado necessário, de forma que cada informação expressa em frase ou parágrafo está sustentada em citações que identificam a origem

do conhecimento empregado na elaboração do conceito. Possivelmente, uma intenção do autor foi dar continuidade ao seu papel de instigador da discussão pertinente ao tema. Nesse particular, cuidou-se de fazer um livro não dogmático, provocativo e mesmo polêmico no sentido de que o progresso da ciência requer o embate das idéias expostas com foco no conhecimento e com auxílio da tolerância, prática verdadeiramente religiosa na época em que vivemos.

Brasília  
Novembro de 2006

## **Endereço dos colaboradores**

**Ana Carolina Bussacos**

**Antonio Teixeira**

**Clever Gomes Cardoso**

**David Neves**

**Glória Restrepo-Cadavid**

**Izabela M. Dourado Bastos**

**Jaime M. Santana**

**Liana Lauria-Pires**

**Mariana Machado Hecht**

**Meire Lima**

**Nadjar Nitz**

**Teresa Cristina d'Assumpção**

Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa em Doença de Chagas  
Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília  
Caixa Postal 04536. CEP 70.919-970  
Brasília, Distrito Federal, Brasil.

**Christine A. Romana**

Laboratoire de Géographie Physique, Université de Paris V, UMR 8591, CNRS.

1 place Aristide Briand, 92195 Meudon.

Pesquisadora Associada ao Centro de Desenvolvimento Sustentável da Universidade de Brasília (Brasil) e responsável pelo Grupo Intensa do Laboratório de Geografia Física (UMR 8591) do Centro Nacional de Pesquisa Científica (CNRS).

**Cleudson Nery de Castro**

Núcleo de Medicina Tropical

Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília

70.900-910, Brasília, Distrito Federal, Brasil

**Liléia Diotaiuti**

Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz.

Av. Augusto de Lima 1715, 30190-002, Belo Horizonte, MG, Brasil.

**Nancy R. Sturm**

Department of Immunology, Microbiology and Molecular Biology, David Geffen School of Medicine, University of California at Los Angeles, USA

**Silene de Paulino Lozzi**

Departamento de Genética e Morfologia

Instituto de Biologia, Universidade de Brasília

70.900-910, Brasília, Distrito Federal, Brasil

# Sumário

## **PREFÁCIO 15**

*Evando Mirra de Paula e Silva*

## **CAPÍTULO 1**

### **A ORIGEM DOS SERES VIVOS 19**

*Nadjar Nitz*

*Ana Carolina Bussacos*

*Antonio Teixeira*

## **CAPÍTULO 2**

### **OS JOGOS EÔNICOS 29**

*Antonio Teixeira*

## **CAPÍTULO 3**

### **O AGENTE INFECCIOSO E O HOSPEDEIRO 51**

*Antonio Teixeira*

*Mariana M. Hecht*

## **CAPÍTULO 4**

### **REDES ENTRELAÇADAS 59**

*Nancy R. Sturm*

*Antonio Teixeira*

## **CAPÍTULO 5**

### **DIVERSIDADE E TROCAS GENÉTICAS 65**

*Antonio Teixeira*

*Nancy R. Sturm*

	<b>CAPÍTULO 6</b>	
IMUNIDADE ADQUIRIDA CONTRA INFECÇÕES PELO <i>TRYPANOSOMA CRUZI</i>	<b>73</b>	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	<i>Nadjar Nitz</i>	
	<b>CAPÍTULO 7</b>	
APRESENTAÇÕES CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS	<b>79</b>	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	<b>CAPÍTULO 8</b>	
PATOLOGIA DA DOENÇA DE CHAGAS HUMANA	<b>89</b>	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	<b>CAPÍTULO 9</b>	
PATOLOGIA COMPARADA DA DOENÇA DE CHAGAS	<b>103</b>	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	<b>CAPÍTULO 10</b>	
PATOGÊNESE DA DOENÇA DE CHAGAS	<b>131</b>	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	<b>CAPÍTULO 11</b>	
TRANSFERÊNCIA HORIZONTAL DE SEQÜÊNCIAS DE MINICÍRCULOS DE kDNA DE <i>TRYPANOSOMA CRUZI</i> PARA O GENOMA DO HOSPEDEIRO VERTEBRADO	<b>139</b>	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	<i>Nadjar Nitz</i>	
	<b>CAPÍTULO 12</b>	
HERANÇA DE kDNA E PATOGÊNESE	<b>151</b>	
	<i>Antonio Teixeira</i>	
	<i>Cleber Gomes Cardoso</i>	
	<b>CAPÍTULO 13</b>	
A EVOLUÇÃO	<b>159</b>	
	<i>Antonio Teixeira</i>	

<b>CAPÍTULO 14</b>	
<b>TRATAMENTO</b>	<b>167</b>
<i>Liana Lauria-Pires</i>	
<i>Cleudson Nery de Castro</i>	
<b>CAPÍTULO 15</b>	
<b>PERSPECTIVA DE NOVAS DROGAS PARA TRATAMENTO DA</b>	
<b>DOENÇA DE CHAGAS</b>	<b>181</b>
<i>Izabela M. Dourado Bastos, David Neves, Meire Lima,</i>	
<i>Gloria Restrepo-Cadavid e Jaime Santana</i>	
<b>CAPÍTULO 16</b>	
<b>TRITOMÍNEOS</b>	<b>205</b>
<i>Liléia Diotaiuti</i>	
<b>CAPÍTULO 17</b>	
<b>O CONTROLE DA TRIPANOSSOMÍASE AMERICANA REQUER</b>	
<b>VIGILÂNCIA ECOLÓGICA E SOCIAL DA EMERGÊNCIA DO RISCO</b>	<b>233</b>
<i>Christine A. Romana</i>	
<b>CAPÍTULO 18</b>	
<b>O CONTROLE DA TRANSMISSÃO DA DOENÇA DE CHAGAS E A</b>	
<b>PESQUISA SOBRE TRITOMÍNEOS</b>	<b>253</b>
<i>Silene P. Lozzi</i>	
<i>Teresa Cristina d'Assumpção</i>	
<b>CAPÍTULO 19</b>	
<b>ANÁLISE ECONÔMICA DA DOENÇA DE CHAGAS</b>	<b>275</b>
<i>Antonio Teixeira</i>	
<i>Ana Carolina Bussacos</i>	
<b>CAPÍTULO 20</b>	
<b>ASPECTOS MÉDICO-SOCIAIS DA DOENÇA DE CHAGAS</b>	<b>293</b>
<i>Antonio Teixeira</i>	
<b>GLOSSÁRIO</b>	<b>305</b>



## CAPÍTULO 11

# Transferência horizontal de seqüências de minicírculos de kDNA de *Trypanosoma cruzi* para o genoma do hospedeiro vertebrado

Antonio Teixeira  
Nadjar Nitz

O tratamento da infecção chagásica com droga antitripanossoma não interrompeu a progressão da lesão no coração de coelhos. Então, surgiu a pergunta: o que sustentaria a lesão ativa no coração chagásico? Uma hipótese de transferência horizontal do DNA do *Trypanosoma cruzi* para o genoma do hospedeiro foi feita porque ela poderia responder à pergunta. A pesquisa mostrou que seqüências de minicírculos do parasito são transferidas para sítios específicos do genoma do coelho, e, também, do primata e do homem; em todos os casos o sítio da integração foi o retrotransposon LINE-1. Utilizando um modelo de infecção *in vitro*, foi possível mostrar que o kDNA integrado nos elementos LINE-1 pode ser mobilizado para outro sítio do genoma da célula hospedeira. Esse resultado sugere que uma mutação indutora de modificação no genótipo e no fenótipo da célula-alvo pode explicar a variabilidade das manifestações clínicas da doença, assim como a origem e a progressão da rejeição da célula hospedeira não parasitada ao longo dos anos. Essa explicação justifica o longo tempo entre a infecção inicial e o desencadeamento da doença. Segundo essa teoria, o parasito funciona como um vetor de mutação, e as células alteradas reconhecidas como não próprias são rejeitadas pelo sistema imune de defesa.

## Introdução

Era necessário achar uma resposta que explicasse a origem da auto-imunidade na doença de Chagas. Diante da hipótese, a resposta foi procurada em amostras de DNA extraído do sangue de pacientes com a doença de Chagas cardíaca, com diagnóstico confirmado pelos anticorpos específicos contra antígenos de *T. cruzi*. Em seguida, a hipótese foi averiguada em coelhos infectados experimentalmente no laboratório e em babuínos que adquiriram a infecção naturalmente. Nesses modelos

animais da infecção chagásica e no homem, observou-se que pode haver transferência horizontal de seqüências de minicírculos de kDNA do *T. cruzi* para o genoma do hospedeiro. Neste capítulo são apresentados resultados de experimentos que sugerem uma relação direta entre a mutação do kDNA no genoma do hospedeiro vertebrado e a patogênese da doença.

## Transferência horizontal de DNA (THD)

Uma resposta que explica a origem da auto-imunidade na doença de Chagas foi procurada em amostras de DNA extraído do sangue de pacientes com a doença de Chagas cardíaca, com diagnóstico confirmado pelos anticorpos específicos contra antígenos de *T. cruzi*. Nesses pacientes, todas as amostras foram positivas para o DNA do parasito nos testes com marcadores moleculares da infecção pelo *T. cruzi*. De maior interesse, foi demonstrado que o kDNA do *T. cruzi*, especificamente seqüências de minicírculos, havia sido transferido para o genoma do paciente chagásico.<sup>1</sup> Os sítios precisos de integrações de kDNA foram detectados em diferentes *loci* dos cromossomos 8, 11, 16, 17, X e outros (números de acesso ao GenBank: AY490889 a AY490905). Um padrão de integração característico também foi encontrado no genoma de babuíno (*Papio hamadrias*) chagásico (GeneBank DQ241812) e de coelhos (GenBank AY488498 a AY488502). O ponto de integração foi freqüentemente o retrotransposon LINE-1, cujas cópias inseridas em regiões ricas em A-C incluem famílias de seqüências curtas e repetidas onde se encontram genes associados com as respostas imunes. As seqüências integradas de minicírculos truncados achavam-se ligadas covalentemente ao DNA do hospedeiro.

## O kDNA do *Trypanosoma cruzi* integra no genoma do chagásico

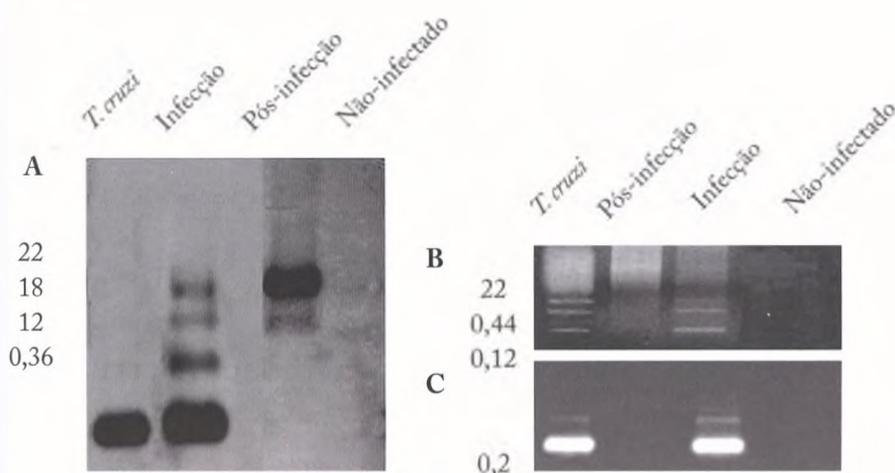
As análises das seqüências do DNA do hospedeiro no flanco da mutação mostraram similaridade com elementos repetitivos curtos e longos, respectivamente SINEs e LINEs, nas várias espécies animais. A presença desses elementos foi vista em sítios de mutação com intenso embaralhamento e remodelamento, ou seja, na região de justaposição onde a integração ligava o DNA do hospedeiro ao kDNA exógeno. Como a integração de seqüências de minicírculos de kDNA foi observada no genoma de coelhos, babuínos e de pacientes chagásicos, então foram feitos alinhamentos da região de justaposição do kDNA com o DNA de cada uma dessas espécies, conforme os números de depósitos no GenBank: Humano, AY485269, AY490891, AY490889, AY490901 e AY490904; Coelho, AY488499, AY488499, AY488500 e AY488502; Babuíno, DQ241812. Independentemente de suas origens, essas seqüências exibiam alinhamentos múltiplos entre si. Por exemplo, as seqüências originadas de pacientes chagásicos e de babuínos exibiam alinhamentos quase perfeitos com DNA de coelho. Esse achado não pode ser mera coincidência, pois ele é sugestivo de que seqüência de

minicírculo de kDNA integra em um sítio semelhante (LINE-1) nas diversas espécies de mamíferos, ou seja, o kDNA do *T. cruzi* integra em retrotransposon presente no genoma dos mamíferos há mais de 150 milhões de anos.

Como cada um desses aspectos intrincados da transferência de seqüências de minicírculos pode ser prontamente abordado em culturas de células, empregou-se um modelo *in vitro* visando à elucidação do sítio da integração do kDNA do *T. cruzi* em macrófagos de origem humana U937 e de sua instabilidade ao longo dos anos.

## A integração faz-se em retrotransposon LINE-1

Diante da preferência de integração das seqüências de minicírculos de kDNA dentro de retrotransposons LINE-1, postulamos que as inserções do DNA exógeno podiam ser mobilizadas dentro do genoma do hospedeiro. O impacto funcional das alterações do genoma poderia incluir alterações na expressão de genes endógenos assim como na geração de produtos quiméricos resultantes da fusão do genoma hospedeiro com minicírculos de kDNA, e em ambos os casos haveria possibilidade de explicar as lesões da doença de Chagas crônica. Em razão da freqüência e da complexidade do fenômeno, o exame dos organismos inteiros pode ser impraticável. Por isso, utilizamos um modelo de cultura de macrófagos adaptados à infecção pelo *T. cruzi* para a caracterização subsequente da integração do kDNA e sua mobilização produzindo alteração



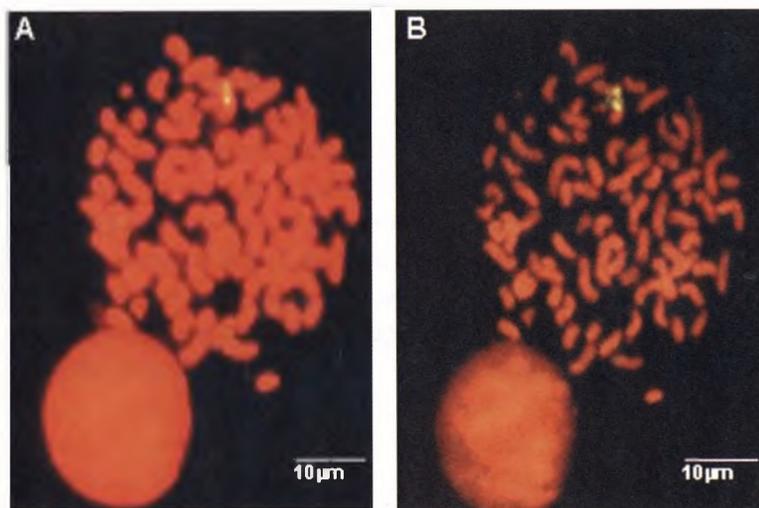
**Figura 11.1** Integração de minicírculo de kDNA de *T. cruzi* no genoma de macrófagos. A) Hibridização de DNA do macrófago U937 digerido com *NsiI* com sonda de kDNA aos sete dias e aos trinta dias pós-infecção. B) Amplificação de minicírculos pela PCR usando *primers* Sk34/67. C) Amplificação de DNA nuclear usando *primers* Tcz1/2. Bandas formadas aos sete dias são diferentes daquelas dos 30 dias

Fonte: Simões-Barbosa et al., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2006

fenotípica. Esse modelo permitiu detectar a aquisição e a movimentação do kDNA integrado dentro do genoma do macrófago em cultura e documentar uma alteração específica na expressão gênica flagrada ao longo dos anos.

A presença de mutações de kDNA no genoma de macrófagos foi sugerida em decorrência dos perfis de bandas formadas aos três meses e aos três anos pós-infecção. Isso foi visto porque a migração do DNA da célula humana em gel de agarose diferia daquela observada no DNA do *T. cruzi*, como mostra a Figura 11.1 A e B.

Em seguida, utilizando a técnica de hibridização *in situ*, o kDNA integrado foi co-localizado em LINE-1 em cromossomos de metáfases de macrófagos pós-infecção (Figura 11.2A e B).



**Figura 11.2** Co-localização do minicírculo de kDNA do *T. cruzi* em cromossomo metafásico de macrófago pós-infecção. A) LINE-1 mostrando fluorescência em dois cromossomos mediante anelamento de sonda específica para LINE. B) Co-localização do kDNA dentro do LINE-1 com sonda específica para kDNA

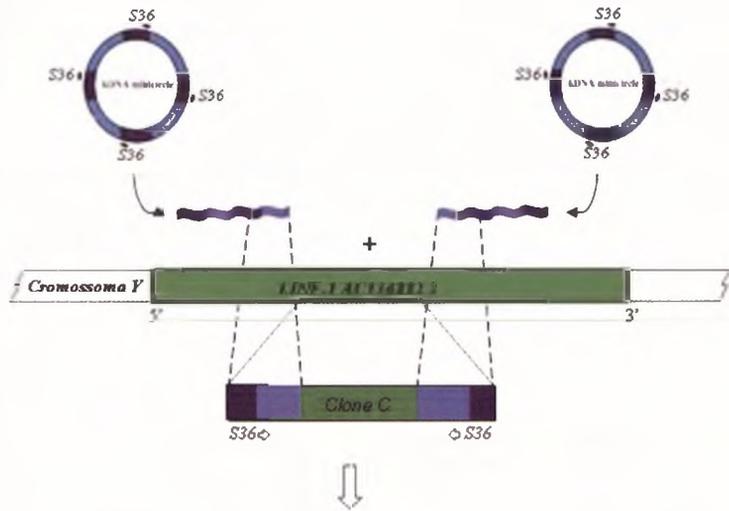
Fonte: Simões-Barbosa et al., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2006

## **Amplificação das seqüências integradas associadas aos LINEs do hospedeiro**

As culturas de macrófagos em replicação continuada três meses após erradicação da infecção pelo *T. cruzi* foram analisadas para identificar o DNA nas junções da integração. Inicialmente, as tentativas de clonagem de um fragmento de restrição representando uma integração de kDNA de 2,2 kb kDNA no genoma do macrófago pós-infecção foram infrutíferas; a clonagem gerou seqüências truncadas, usualmente menores que 0,5 kb, representando fragmentos rearranjados de kDNA e nenhum DNA flanqueador do macrófago. Todavia, os resultados sugeriram que inserções de seqüências linearizadas de minicírculo ocorriam em orientação direta ou invertida,

associando regiões repetidas e rearranjadas que formam estruturas sujeitas a recombinação e deleção. Esses achados foram importantes para o desenho de uma estratégia para determinar a região de integração do minicírculo ao genoma do macrófago.

A estratégia para clonagem e seqüenciamento de eventos de integração consistiu na amplificação por PCR empregando um só *primer* específico, S36 anelando num ponto da região conservada do minicírculo. As amplificações geraram cinco seqüências representativas com extensões de 527 a 700 pb (números de acesso ao GenBank: AF002199 a AF002203). Cada uma dessas seqüências continha minicírculo covalentemente ligado a LINE-1, sugerindo que as inserções de minicírculos ocorreram dentro desses elementos no genoma do macrófago. A Figura 11.3 ilustra a integração



**Clone C**

1	GGTTCGATTC	GGGTTCGGTGT	AATTAG	GGG	GGTTCGATTC	GGGTTGGTGT	AATTAG
31	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
61	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
91	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
121	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
151	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
181	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
211	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
241	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
271	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
301	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
331	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
361	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
391	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
421	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
451	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
481	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
511	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
541	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
571	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
601	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
631	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT
661	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT	GGGTTGGTGT

**Figura 11.3** Representação esquemática da integração de seqüência de minicírculo de kDNA de *Trypanosoma cruzi* em LINE-1 humano. Fragmentos truncados de minicírculos de kDNA foram achados em LINE-1 situado no cromossomo Y: o clone C mostra região conservada do *primer* S36 (azul escuro) em ambos os lados, seguida de regiões variáveis de minicírculos (azul claro) e seqüência LINE-1 (verde)

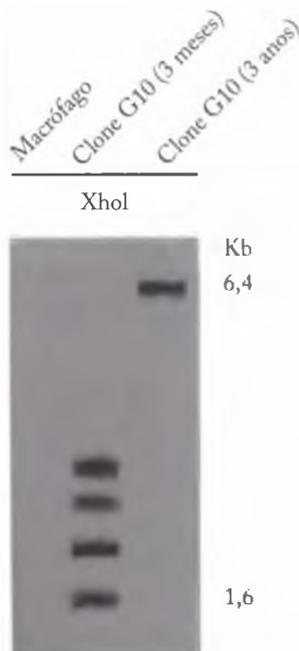
Fonte: Simões-Barbosa et al., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2006

minicírculo de kDNA no LINE-1 AC134888.2. Em quatro clones (A, C, D, e E) as regiões constantes e variáveis de minicírculo estavam flanqueadas por repetições curtas do tipo Alu (SINE) seguidas pelo DNA do LINE-1. As seqüências em posições invertidas eram consistentes com duas integrações em direções opostas. Esses clones mostram segmentos homólogos dos cromossomos humanos Y, 4 e 13; o clone B tinha LINE-1 ligado à seqüência do minicírculo em uma ponta apenas. Em três ocasiões (clones A, C e D), a justaposição de kDNA com LINE-1 estava truncada por seqüências repetidas com evidente microhomologias, sugerindo que a recombinação homóloga pode ter sido o mecanismo mediador da integração de seqüências de minicírculos de kDNA em LINE-1 dentro da célula hospedeira humana.

Uma extensão natural da análise foi a procura de proteínas quiméricas nos sítios de integração associados com as mutações. A análise BLASTx detectou duas ORFs (fases abertas de leitura) nos clones A, B e E, mostrando similaridade com transcriptase reversa humana e com ubiquitina (clone B) e com uma proteína quimérica humana e de *T. cruzi* (clones A, C, D e E). Em resumo, foram encontradas cinco inserções de kDNA dentro de LINE-1 da família Ta, revelando um sítio quente de integração de minicírculos de kDNA.

## Mobilização de kDNA via LINE-1

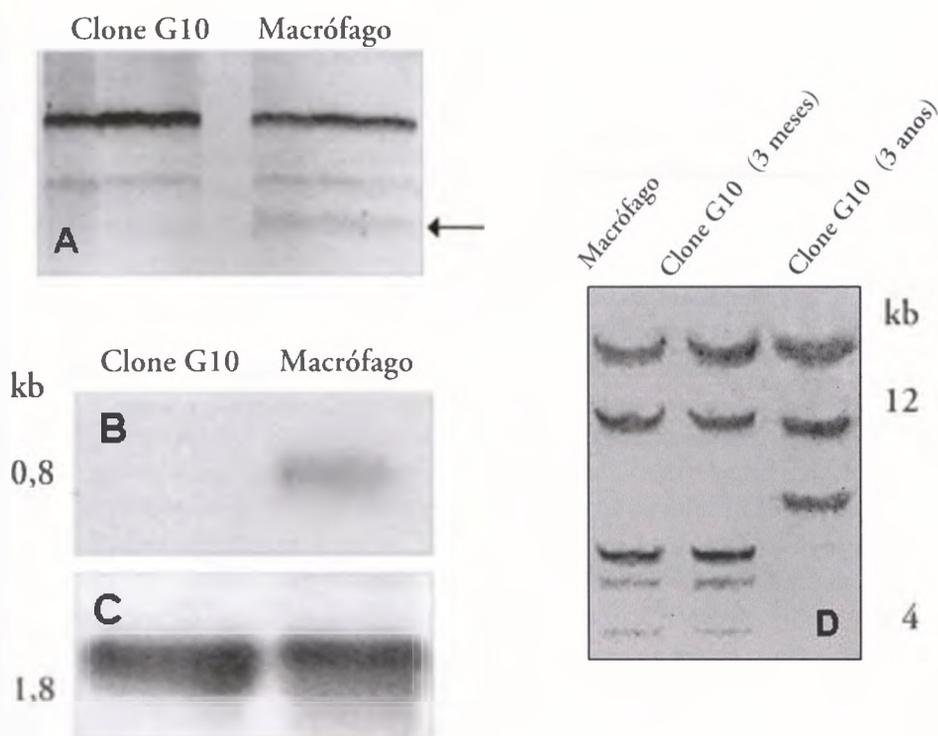
As células com a mutação de kDNA foram clonadas e, desde então, têm sido mantidas em cultura no laboratório. As mutações de kDNA em clones de macrófagos



**Figura 11.4** Mobilização da mutação do kDNA ao longo dos anos. Bandas formadas no genoma do macrófago mostrando o kDNA integrado no clone G10. Os perfis de bandas de kDNA são diferentes aos três meses e aos três anos pós-infecção. Fragmentos de DNA genômico do clone G10 digerido com *XhoI* foram separados em gel de agarose a 1% e identificados com a sonda específica de kDNA. Fonte: Simões-Barbosa et al., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2006

mantiveram-se ao longo dos anos. Variações encontradas nas análises das integrações feitas aos três meses e aos três anos pós-clonagem identificaram distintos perfis de bandas e sugeriram a possibilidade de mobilização da mutação de um sítio para outro dentro do genoma da célula clonada (Figura 11.4).

Esse aspecto foi explorado mediante análise dos transcritos de RNA no clone G10 mutado com kDNA e no macrófago não infectado que, portanto, serviu de controle.<sup>2</sup> Observou-se a presença de transcrito no macrófago controle (testemunha) que não se encontrava no clone G10 que tinha a mutação de kDNA (Figura 11.5A, B, C e D).



**Figura 11.5** Modificação no fenótipo resultante da mobilização da mutação. A) Análise diferencial do mRNA do clone G10 três anos pós-infecção. Uma banda presente no macrófago (seta) está ausente no clone G 10. B) mRNA de 0,8-pb identificado com sonda cDNA do gene p15 está ausente no clone G10. C) O controle positivo mostra banda de 1,8-kb da  $\beta$ -actina. D) Hibridização de digestos *Bam*HI de DNA de macrófago controle e do clone G10 com sonda do gene p15. Note alteração do perfil de bandas no macrófago três anos pós-infecção

Fonte: Simões-Barbosa et al., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2006



**Figura 11.6** Modificação do gene p15 pela inserção de minicirculo de kDNA ligado ao elemento LINE-1 no cromossomo 5p13.3. A) Ruptura da ORF p15 pela inserção de LINE-1 truncado mobilizando um fragmento de minicirculo. A seqüência em verde claro é do gene p15, a verde escuro de LINE-1; o azul claro mostra região variável de minicirculo, e o azul escuro, região conservada de minicirculo. A ORF p15 (início no códon 39-41 pb) está interrompida no nt 300 pela cauda poli-A do LINE até pb 855, e estende-se até pb 1327 do minicirculo. O gene p15 continua do pb 1328 na direção de sua terminação 3'. Os primers indicados pelas setas foram usados. B) Representação esquemática da quimera minicirculo LINE-1 mostrando a inserção na ORF do gene p15, e uma ORF-2 similar à transcriptase reversa humana entre os nts 410 e 851

Fonte: Simões-Barbosa et al., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2006

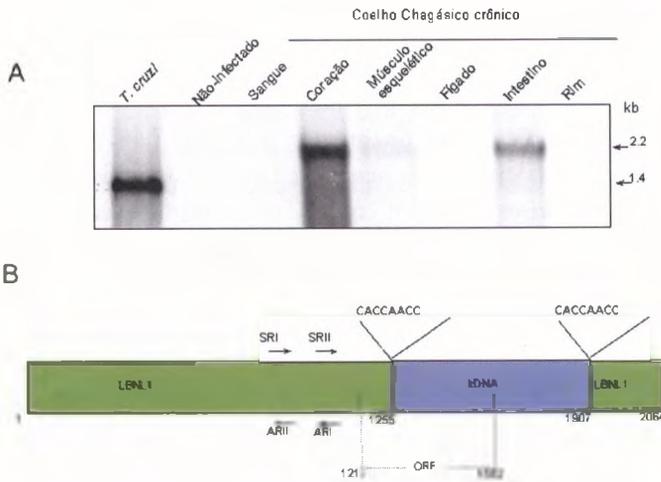
Clonagem e seqüenciamento do transcrito presente apenas no macrófago controle revelaram tratar-se do gene p15 codificador de um fator de ativação da polimerase II, localizado no cromossomo humano 5 (Figura 11.6). Então, a partir dessa informação foi possível identificar, pela amplificação, pela clonagem e pelo seqüenciamento a alteração introduzida no gene p15 do macrófago, em consequência daquela infecção pelo *T. cruzi* que ocorreu três anos atrás (números de acesso ao GenBank: AY584192 e AY584193). Uma cópia ativa de LINE-1 mobilizou o kDNA de sua posição no cromossomo 4 para o cromossomo 5. Ali, numa cópia do gene p15, foi encontrado um fragmento truncado de LINE-1 ligado a uma seqüência de minicírculo do kDNA. A extremidade 5' (a montante) do gene p15 encontrava-se rompida a partir do nucleotídeo 300 que tinha continuidade com a cauda poli-A do LINE-1, seguida pela sua ORF-2, que se ligava ao kDNA apresentando duas regiões variáveis e duas conservadas truncadas de minicírculos; finalmente, o kDNA terminava na região 3' a jusante no gene p15. Essa análise explicou a variação dos perfis de bandas do gene p15 comparativamente com aquelas do macrófago controle, resultando no nocaute do gene p15 (Figura 11.6). Essa demonstração<sup>2</sup> comprovou, pela primeira vez, a relação da mutação do kDNA com uma patologia molecular introduzida na célula pelo *T. cruzi*. A presença de microhomologias nas regiões flangeadoras sugere que recombinação homóloga pode ser o mecanismo da integração de kDNA.

## Transferência horizontal de DNA e crescimento do genoma

A transferência horizontal de minicírculo também foi investigada em coelhos hospedeiros de infecções pelo *T. cruzi*, ambos considerados excelentes modelos experimentais da doença de Chagas humana. A transferência de minicírculo foi observada no DNA genômico; fragmentos de DNA de sangue, coração, músculo esquelético, fígado, intestino e rim de coelho chagásico foram hibridizados com a sonda de 122-pb derivada da região constante do minicírculo do protozoário flagelado.

A Figura 11.7A ilustra a alteração da configuração da banda padrão de kDNA integrada no coração, no intestino e no músculo esquelético, cujo tamanho foi diferente da unidade-banda padrão de (1,4 kb) que se hibridizou especificamente com o DNA do parasito. Essas amostras não se hibridizaram com outras sondas específicas do DNA do *T. cruzi*.<sup>3-5</sup> O seqüenciamento da banda de 2,2 kb revelou ambas as extensões do DNA do coelho flanqueando a inserção do minicírculo (Figura 11.7B). A integração do minicírculo ocorreu em sítios repetidos diretos CACCAACC dentro do DNA do coelho. Esse DNA flangeador do coelho mostra homologia com o clone LBNL-1125D4, que é um retrotransposon LINE-1 contendo elementos repetidos SINE intra-esparcos no genoma.<sup>6</sup> Uma fase aberta de leitura (ORF) iniciando-se no DNA hospedeiro e estendendo-se através do kDNA integrado gerou um transcrito potencialmente codificador do antígeno quimera r45-assemelhado.<sup>1</sup> De maior interesse, um caso específico de inserção de mutação foi composto de 27

fragmentos de kDNA truncados de tamanhos e estruturas variadas. Esse evento indicou que essa mutação no genoma do coelho chagásico foi iniciada originariamente por inserções repetidas de sete seqüências completas de minicírculo, totalizando 10,8 kb de kDNA dentro do genoma hospedeiro. Essa observação e aquelas que mostraram múltiplos (até quatro) eventos de mutação no genoma de pacientes chagásicos sugeriram que a transferência horizontal de minicírculo pode ser uma causa direta de crescimento de genoma.



**Figura 11.7** Integração de seqüência de minicírculo no genoma de coelho chagásico. A) Hibridização do DNA de coelho com sonda kDNA específica. DNA digerido com *EcoRI* foi usado na hibridização com a sonda de kDNA do *T. cruzi*. B) Representação esquemática do kDNA integrado no DNA do coelho. A integração ocorreu no DNA do coelho mostrando os sítios de ligação de seqüências curtas repetidas CACCAACC. Uma ORF quimera estende-se entre os nucleotídeos 1217 e 1582

Fonte: Nitz et al., *Cell*, 2004

## Mobilização de LINE-1 e doença

O genoma do animal vertebrado contém segmentos de elementos repetidos curtos (SINE) e longos (LINE) que se perpetuam pela transmissão vertical dentro do hospedeiro.<sup>7,8</sup> O genoma humano contém 535 LINEs pertencentes à família *Ta* e 415 à subfamília *Tn*. Tem sido descrito que 39 elementos da família *Ta* e 22 da subfamília *Tn* apresentam a seqüência padrão de 6,4 kb com uma região promotora 5' seguida de duas ORFs e uma região não traduzida 3' com sinal de poliadenilação e cauda poli-A, caracterizando as estruturas típicas de retrotransposons LINE-1 ativos.<sup>9,10</sup> Esses elementos são reconhecidos progenitores de inserções mutagênicas no

*locus* da  $\beta$ -globina e em vários genes Rp. Os elementos LINEs ativos possuem maquinaria endógena – transposase: DNA polymerase I e transcriptase reversa – para mobilização de seqüências do DNA dentro do genoma, e, dessa forma, podem rearranjar o exon.<sup>11,12</sup> O promotor 5' inicia a transcrição do LINE-1, que usualmente é confinada a células da linhagem germinativa,<sup>12</sup> mas a retrotransposição de LINE-1 em células somáticas tem sido correlacionada com doenças genéticas.<sup>13,14</sup> Integrações de seqüências de minicrículos de kDNA de *T. cruzi* em um paciente chagásico, ocorrendo em múltiplos *loci*, poderiam explicar a variabilidade de manifestações clínicas na doença. A acumulação de mutações induzidas por integrações de kDNA pode ser uma força desencadeadora da patologia na doença de Chagas.

## Abstract

*Trypanosoma cruzi*-infected and benznidazole-treated rabbits exhibited lesions similar to those that have been described for Chagas rabbits. The progressive features of Chagas lesions in treated animals have suggested an unavoidable question: What could be the power sustaining actively destructing Chagas lesions in benznidazole-treated rabbits? We hypothesized *T. cruzi* DNA retained in the body could trigger Chagas lesions, and that a mutation could be the force driving auto-immunity in Chagas disease. This hypothesis implies horizontal transfer of the parasite's DNA, which would act as a vector of mutation inducing subsequent host cells genotype and phenotype alterations. Theoretically, host cells altered by a parasite-induced mutation would be recognized as non-self and, therefore, rejected by the host's immune system effectors lymphocytes and macrophages. Experiments have shown that sequences of kDNA minicircles from *T. cruzi* integrate in specific sites within the genome of rabbits, baboons and humans. It was shown that kDNA integrates in retrotransposon of LINE-1 Ta family of different mammal species. Utilizing an *in vitro* model of the infection it was shown that the kDNA integrated in LINE-1 can be mobilized to other site within the host cell genome. This result suggests that a mutation induced host cell's genotype and phenotype alterations could explain the variability of clinical manifestations as well as the origin of the rejection of a parasite-free host cell over time. The variable factor of time in this process may explain the decades of delay experienced between initial infection and displays of pathogenesis. According with this theory, mutation-induced host cell genotype and phenotype modifications could explain the origin of self-destructive auto-immune lesions in Chagas disease.

## Notas bibliográficas

1. NITZ, N.; GOMES, C.; ROSA, A. C.; D'SOUZA-AULT, M. R.; MORENO, F.; LAURIA-PIRES, L.; NASCIMENTO, R. J.; TEIXEIRA, A. R. L. Heritable integration of kDNA minicircle sequences from *Trypanosoma cruzi* into the avian genome: insights into human Chagas disease. *Cell*, 118, p. 175-186, 2004.

2. SIMÕES-BARBOSA, A.; ARGANARAZ, E. R.; BARROS, A. M.; ROSA, A. C.; LOUVANDINI, P.; D'SOUZA-AULT, M. R.; NITZ, N.; NASCIMENTO, R. J.; TEIXEIRA, A. R. L. Hitchhiking *Trypanosoma cruzi* minicircle DNA affects gene expression in human host cells via LINE-1 retrotransposon. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (no prelo), 2006.
3. MOSER, D. R.; KIRCHHOFF, L. V.; DONELSON, J. E. Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, 27, p. 1477-1482, 1989.
4. MURTHY, V. K.; DIBBEM, K. M.; CAMPBELL, D. A. PCR amplification of mini-exon genes differentiates *Trypanosoma cruzi* from *Trypanosoma rangeli*. *Molecular Cell Probes*, 6, p. 237-243, 1992.
5. REQUENA, J. M.; JIMENEZ-RUIZ, A.; SOTO, R. M.; LOPEZ, M. C.; ALONSO, C. Characterization of a highly repeated interspersed DNA sequence of *Trypanosoma cruzi*: its potential use in diagnosis and strain classification. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 51, 271-280, 1992.
6. PRICE, D. K.; AYRES, J. A.; PASQUALONE, D.; CABELL, C. H.; MULLER, W.; HARDISON, R. C. The 5' ends of LINE-1 repeats in rabbit DNA define subfamilies and reveal a short sequence conserved between rabbits and humans. *Genomics*, 14, p. 320-331, 1992.
7. SMIT, A. F. A.; TOTH, G.; RIGGS, A. D.; JURKA, J. Ancestral mammalian wide subfamilies of LINE-1 repetitive sequences. *Journal of Molecular Biology*, 246, p. 401-417, 1995.
8. FURANO, A. V.; DUVERNELL, D. D.; BOISSINOT, S. L1 (LINE-1) retrotransposon diversity differs dramatically between mammals and fish. *Trends in Genetics*, 20, p. 9-14, 2004.
9. FENG, Q.; MORAN, J.; KAZAZIAN, H.; BOEKE, J. D. Human L1 retrotransposon encodes a conserved endonuclease required for retrotransposition. *Cell*, 87, p. 905-916, 1996.
10. GILBERT, N.; LUTZ-PRIGGE, S.; MORAN, J. V. Genomic deletions created upon LINE-1 retrotransposition. *Cell*, 110, p. 315-325, 2002.
11. SYMER, D. E.; CONNELLY, C.; SZAK, S. T.; CAPÚTO, E. M.; COST, G. J.; PARMIGIANI, G.; BOEKE, J. D. Human L1 retrotransposition is associated with genetic instability in vivo. *Cell*, 110, p. 327-338, 2002.
12. TRELOGAN, S. A.; MARTIN, S. L. Tightly regulated, developmentally specific expression of the first open reading frame from LINE-1 during mouse embryogenesis. *Proceedings of The National Academy Sciences USA*, 92, p. 1520-1524, 1995.
13. KAZAZIAN, JR.; H. H.; MORAN, J. V. The impact of L1 retrotransposons on the human genome. *Nature Genetics*, 19, p. 19-24, 1998.
14. OSTERTAG, E. M.; KAZAZIAN, H. H. Jr. Biology of mammalian L1 retrotransposons. *Annual Review of Genetics*, 35, 501-538, 2001.

## Glossário

**Acetilcolinesterase:** Enzima que catalisa a clivagem da acetilcolina em colina e acetatos. No sistema nervoso esta enzima desempenha uma função na junção neuromuscular periférica.

**Agente etiológico:** Micróbio causador ou responsável pela origem da doença. Pode ser vírus, bactéria, fungo, protozoário ou helminto.

**Aldosterona:** Hormônio da glândula supra-renal. Promove a reabsorção do sódio no túbulo distal do rim e controla o volume circulante de sangue.

**Alogênico:** Refere-se a indivíduos possuidores de diferenças gênicas.

**Amastigota:** Forma do *Trypanosoma cruzi* que se multiplica no interior da célula do hospedeiro mamífero.

**Aneuploidia:** Qualquer número cromossômico que não seja um múltiplo exato do número haplóide ou uma pessoa com um número cromossômico aneuplóide.

**Angiotensina:** Oligopeptídeo com efeito vasoconstritor.

**Aquisição primária:** Aquela que passou diretamente, p. ex., do barbeiro para os primeiros hospedeiros mamíferos.

**Aquisição secundária:** Aquela que sucede o primeiro estágio, p. ex., secundária no homem porque existia primariamente nos mamíferos silvestres.

**Autóctone:** Indígena nascido na própria terra em que vive.

**Axênica:** Com um único tipo de célula em crescimento, sem contaminante.

**Berenice:** Nome que se deu ao *Trypanosoma cruzi* isolado pelo dr. Carlos Chagas do sangue de uma criancinha com este nome.

**Betabloqueador:** Droga que bloqueia receptor beta na membrana das células do coração.

**Bodonida:** Protozoário cinetoplastida parasita de peixes e anfíbios, p. ex., *Boldo saltans*, o mais provável ancestral do *Trypanosoma cruzi*.

**Bomba cibarial:** Estrutura reguladora da sucção no ato alimentar do inseto.

**Cardiovagal:** Reflexo do coração dependente do nervo vago parassimpático.

**Catecolaminas:** Bioaminas com efeitos excitatórios e inibitórios dos sistemas nervoso central e periférico. As principais catecolaminas são a norepinefrina, a epinefrina e a dopamina.

**Cisteíno-protease:** Ver protease.

**Colinérgico:** Estímulo transmitido pela acetilcolina na placa que liga o nervo à membrana muscular.

**Criptobiida:** Protozoário flagelado ancestral dos cinetoplastidas.

**Diaforase dinucleotídica nicotinamida adenina:** Enzima que faz a síntese do óxido nítrico.

**Digitálico:** Droga usada no tratamento de doença do coração, tipos arritmia e insuficiência cardíaca. O digitálico inibe a bomba de sódio na membrana das células.

**Disfagia:** Dificuldade na deglutição.

**Ecótopo:** Determinado tipo de *habitat* dentro de uma área geográfica ampla, meio ambiente de um ecossistema ou conjunto de *habitats* em que uma determinada espécie vive.

**Endemia:** Doença particular a um povo ou a uma região por motivo de uma causa local.

**Endossoma:** Organela ou vesícula celular que acumula proteínas de pH ácido.

**Enzootia:** Epidemia periódica nos animais em certos países ou regiões.

**Epicárdio:** A lâmina que reveste o coração.

**Epigastria:** Dor no epigástrico, região do abdome logo abaixo do esterno.

**Epimastigota:** Forma replicativa do *Trypanosoma cruzi* encontrada na porção anterior do intestino do triatomíneo.

**Epítopo:** Local da molécula do antígeno reconhecido pelo anticorpo, também denominado determinante antigênico.

**Estercoraria:** Refere-se aos tripanossomos que completam o ciclo de vida no intestino posterior do inseto, p. ex., *Trypanosoma cruzi*.



**Estímulo colinérgico:** Estímulo transmitido de uma célula a outra através do neurotransmissor acetilcolina.

**Extensor digitorum brevis:** Músculo no dorso do pé.

**Falossoma:** Orgão genital.

**Feixe de His:** Pequeno feixe de fibras especializadas da musculatura cardíaca que se origina no nóculo atrioventricular e estende-se pela porção membranácea do septo interventricular.

**Hibridização *in situ*:** Técnica que identifica um DNA complementar em sua nova localização. A identificação é feita por uma sonda (fita simples de RNA ou DNA) marcada com fluorocromo.

**Hipocinesia:** Movimento diminuído ou lento da musculatura do corpo.

**Hipoestesia sensorial:** Diminuição dos reflexos de sensibilidade.

**Hipotênar:** Conjunto de pequenos músculos cujos ventres formam a eminência hipotênar na região antero-interna da mão. Os movimentos do 5º dedo, nomeadamente a adução, tendem a fazer aumentar o volume destes músculos.

**ICAM-1:** Molécula de adesão intercelular.

**Imino:** Grupamento (-NH-) que substitui um grupo amino (-NH<sub>2</sub>) no aminoácido prolina. Os demais aminoácidos apresentam na sua molécula um grupo amino e um grupo carboxila (-COOH).

**Integrina:** Molécula de adesão dependente de cálcio que permite a interação de células com a matriz extracelular.

**Intramural:** O que se encontra dentro da parede, por exemplo, do ventrículo no coração.

**LINE:** Sigla em inglês (Long Interspersed Nuclear Elements) para designar elementos móveis (retrotransposons) presentes no genoma de animais e plantas.

**Macrófago ED1+ e ED2+:** Marcadores que identificam moléculas específicas na membrana da célula.

**Marcador genotípico:** Identifica um *locus* característico do genoma.

**Maxicirculo:** Sequência de DNA do cinetoplasto que se parece à corda de puxar a rede de minicirculos.

**Metaloprotease:** Ver protease.

**Mimetismo molecular:** Propriedade da estrutura de uma molécula imitando ou simulando o que lhe parece similar.



**Minicírculo:** Estrutura de DNA circular que forma uma rede (cinetoplasto) na mitocôndria do *T. cruzi*.

**Miocitólise:** Lise da célula muscular rejeitada pelo sistema imune.

**ORF:** Sigla em inglês (**O**pen **R**eading **F**rame) traduzida como fase aberta de leitura de um gene codificador de proteína.

**Ortólogo:** Gene ou cromossomo de diferentes espécies que evoluíram de um ancestral comum, apresentando seqüência e função similar.

**Parestesia:** Desordem nervosa caracterizada por sensações anormais e alucinações sensoriais.

**PCR:** Sigla em inglês (**P**olymerase **C**hain **R**eaction) para a reação em cadeia da polimerase. A técnica consiste em ciclos de desnaturação, anelamento de *primers* iniciadores e extensão da fita que se quer amplificar pela enzima DNA polimerase.

**Piretróide:** Inseticida usado no combate aos triatomíneos no domicílio e no peridomicílio.

**Proteases:** Enzimas que hidrolisam as ligações peptídicas entre aminoácidos. Podem ser classificadas de acordo com a presença do aminoácido (cisteíno, aspártico ou serino-protease) ou de um metal no sítio catalítico (metaloprotease).

**QRS:** Uma onda típica no registro eletrocardiográfico.

**5'-RACE:** Sigla originada do inglês (**R**apid **A**mplification of **c**DNA **E**nd) que significa uma estratégia de PCR para amplificação de DNA com ajuda de seqüências aneladoras características.

**Simbiose:** Associação íntima entre dois seres vivos com proveito mútuo.

**Simbioticismo:** Relacionamento ecológico e físico entre dois tipos de organismos, constituindo a mais íntima das associações entre seres vivos.

**Sinal de Romaña:** Inchaço ocular endurecido, bpalpebral e unilateral, indicativo da infecção aguda pelo *Trypanosoma cruzi*.

**SINE:** Sigla em inglês para os elementos curtos repetidos no genoma de animais e plantas.

**Singênico:** Refere-se a indivíduos geneticamente idênticos.

**Sintopia:** Convivência no mesmo nicho ecológico.

**Sinusal:** Nódulo sinusal onde nascem os estímulos elétricos nas aurículas.

**Sistema biológico limpo:** Aquele que não deixa possibilidade de contaminação.

**SN parassimpático:** Sistema nervoso antagonista do SN simpático.

**SN simpático:** Sistema nervoso simpático que regula os estímulos da vida vegetativa ou inconsciente.

**Soleus:** Músculo formador da panturrilha juntamente com o gastrocnêmio.

**SSUrRNA:** Pequena subunidade de RNA ribossomal usada em análise filogenética.

**T e ST:** Ondas que identificam aspectos da condução elétrica no coração.

**Taxa:** Plural de taxon, forma abreviada de taxonomia (ciência da classificação dos seres vivos).

**Tênar:** Conjunto de pequenos músculos cujos ventres formam a eminência tênar na região antero-externa da mão. Os movimentos do polegar, nomeadamente a adução, tendem a fazer aumentar o volume destes músculos.

**Testes NAT:** Teste de ácidos nucleicos que identifica marcador molecular.

**Transferência passiva:** Consiste na reprodução de uma situação pela simples passagem de células de um indivíduo imune para outro não imune.

**Tripomastigota:** Forma infectante (metacíclica), não replicativa do *Trypanosoma cruzi* que se diferencia da epimastigota ou da amastigota intracelular. As formas tripomastigotas são encontradas no sangue ou no fluido intersticial do mamífero hospedeiro.

**Tulahuén:** Nome que se deu ao *Trypanosoma cruzi* isolado na localidade.

**Unidade mínima de rejeição:** Identifica o ataque de células do sistema imune levando à rejeição da fibra muscular não parasitada no chagásico.

**Xenodiagnóstico:** Diagnóstico feito mediante utilização de um elemento estranho (xeno), como aquele que emprega o barbeiro para isolar e identificar o *Trypanosoma cruzi* no sangue do indivíduo suspeito de ter a doença de Chagas.

**Zimodema:** Padrão de bandas de proteínas (enzimas) separadas pela eletroforese de uma célula ou indivíduo.

**Zoomastigophorea:** Classe de protozoários que inclui a ordem Cinetoplastida; família Trypanosomatidae; gênero *Trypanosoma*; espécie *Trypanosoma cruzi*.

Este livro foi composto em Adobe Caslon Pro 10,5/13,5  
no formato 170 x 240 mm e impresso no sistema off-set sobre  
papel AP 75 g/m<sup>2</sup>, com capa em papel  
Cartão Supremo 250 g/m<sup>2</sup>, na Dupligráfica



**Outros lançamentos da Editora  
Universidade de Brasília**

*Ação afirmativa e universidade: experiências  
nacionais comparadas*

João Feres Júnior e Jonas Zoninsein  
(Organizadores)

*Reconsiderar a riqueza*

Patrick Viveret

*Sociologia e realidade: pesquisa social no  
século XXI*

Maria Stela Grossi Porto e Tom Dwyer  
(Organizadores)

*Os direitos humanos e a questão agrária no  
Brasil: a situação do sudeste do Pará*

Wilson Rodrigues Ataíde Júnior

*Intermediate States, regional leadership and  
security: India, Brazil and South Africa*

Alcides Costa Vaz (Editor)

*J. Borges por J. Borges: gravura e cordel do  
Brasil*

Clodo Ferreira (Organizador)

*A teoria da aprendizagem significativa e sua  
implementação em sala de aula*

Marco Antonio Moreira

*Na Estação Central*

Edwin Morgan

(Coleção Poetas do Mundo)

Em *Doença de Chagas e evolução*, o leitor encontra conhecimento científico atualizado, escrito de forma clara e sucinta para especialistas e curiosos, principalmente para o chagásico e sua família. Nele o leitor apreciará os elementos envolvidos na doença de Chagas resultantes de longa cadeia evolutiva, postos juntos pela circunstância há 90 milhões de anos. Hoje, a infecção alcança potencialmente 1.150 espécies de mamíferos permissivos ao protozoário *Trypanosoma cruzi* transmitido pelo triatomíneo, popularmente conhecido como barbeiro, inseto hematófago que desjejua na pele da face. O ameríndio entrou nessa cadeia de transmissão há 9 mil anos. Ao chegarem ao novo continente há cerca de 500 anos, os colonizadores europeus e africanos rapidamente adquiriram a infecção, finalmente descoberta por Carlos Chagas há apenas um século. Hoje, essa doença faz parte da história das famílias que habitam o continente latino-americano há três ou mais gerações, cujos entes sucumbiram ao mal de Chagas. Presentemente, o tratamento é insatisfatório. Porém, a pesquisa continua produzindo conhecimento e ferramentas usadas no combate à infecção. O desalojamento dos barbeiros das residências humanas em alguns ecossistemas reduziu os níveis de infecção espetacularmente. Aspectos intrincados da doença são aqueles que se associam à produção das lesões no coração, no tubo digestivo e no sistema nervoso periférico em um terço dos 18 milhões de pessoas infectadas pelo *T. cruzi*. O assunto está analisado detalhadamente neste livro, cujas ilustrações facilitam a compreensão e geram curiosidade crescente no leitor. Nesse passo da ciência, verifica-se que o controle, o tratamento e a profilaxia da doença de Chagas poderão ser alcançados. O livro mostra como o conhecimento sobre a doença de Chagas – que produz 100 mil mortes por ano e deixa atrás um quadro sombrio de orfandade e desolação – poderá contribuir para minimizar o pavor que esse flagelo ainda provoca.

---

A publicação desta obra foi apoiada pela Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos - FINATEC.

A FINATEC, instituída no âmbito da Universidade de Brasília em 13 de março de 1992, é uma fundação de apoio sem fins lucrativos que tem por finalidade institucional promover e apoiar o desenvolvimento científico e tecnológico, a transferência de tecnologia, a pós-graduação e a pesquisa.

Cód. EDU 418099

ISBN 85-230-0858-6



9 788523 008581

Editora Universidade de Brasília

ISBN 85-85862-34-3



9 788585 862343

Finatec