

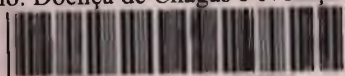
Doença de **CHAGAS** e evolução

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 EMPREENDIMENTOS
CIENTÍFICOS E TECNOLÓGICOS



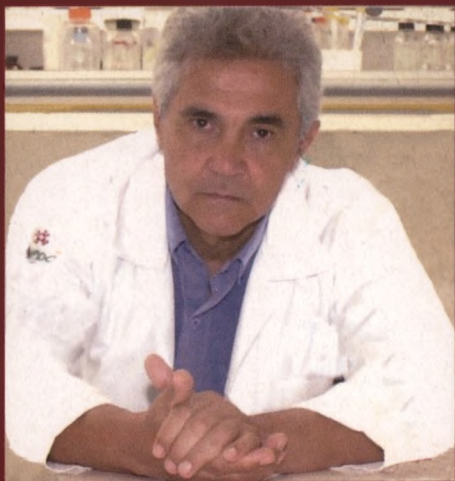


Foto : J. Freitas

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

EDITORA



UnB

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	Finatec – Universidade de Brasília
SCS Q. 2 - Bloco C - nº 78	Campus Universitário Darcy Ribeiro
Ed. OK – 1º andar	Ed. Finatec – Asa Norte
70302-907 – Brasília-DF	70910-900 – Brasília-DF
Tel.: (61) 3035-4211	Tel.: (61) 3348-0400
Fax: (61) 3035-4223	Fax: (61) 3307-3201
www.editora.unb.br	www.finatec.org.br
www.livrariauniversidade.unb.br	<i>e-mail:</i> finatec@finatec.org.br
<i>e-mail:</i> direcao@editora.unb.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

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

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

CAPÍTULO 12

Herança de kDNA e patogênese

*Antonio Teixeira
Clever Gomes Cardoso*

Em seguida à transferência horizontal de seqüências de minicírculos de kDNA ao genoma de coelhas chagásicas, foi possível mostrar a herança da mutação do kDNA para as crias dessas coelhas. Entretanto, o mamífero é permissivo à infecção pelo *T. cruzi*, a qual pode persistir por toda a vida desse animal. Para garantir que essa mutação não seja apenas um ruído produzido pela infecção críptica, foi necessário afastar essa possibilidade. Isso foi possível pela experimentação em aves refratárias à infecção pelo *T. cruzi*, mas que adquirem a infecção apenas nos primeiros dez dias de vida embrionária. Quando ovos férteis foram inoculados com *T. cruzi*, os filhotes já nasciam sem infecção, mas eles tinham a mutação do kDNA. De grande interesse, coelhos e aves com as mutações de kDNA apresentavam as lesões típicas da doença de Chagas: a “unidade mínima de rejeição” característica da patologia da doença, na qual a célula-alvo não parasitada era destruída pelas células do sistema imune do vertebrado. Esses experimentos mostraram que a “unidade mínima de rejeição” é o denominador comum da patogênese da doença de Chagas, tendo origem nas mutações induzidas no genoma e nas alterações subsequentes no fenótipo dessas células em mamíferos e em aves refratárias à infecção.

Introdução

A descrição da patologia da doença de Chagas aguda em um menino de 18 meses e em uma menina de 4 meses de idade gerou a base preliminar de experimentos que visaram a mostrar se as infecções pelo *T. cruzi* se estabelecem nos gonioblastos dos testículos e nas células da teca dos ovários impúberes. Ainda que a invasão das células embrionárias pelo *T. cruzi* não tenha sido descrita detalhadamente, observações prévias já antecipavam a possibilidade de que o parasito invadisse célula-tronco *in vitro*: célula-tronco embrionária de zigoto, 2,5 dias após o coito, engolfou ativamente formas

tripomastigotas de *T. cruzi*.¹ As formas amastigotas em divisão encheram o citoplasma das células-tronco embrionárias; cinéticas similares foram observadas em seguida à infecção de células-tronco de embriões de galinha. A permissividade da célula-tronco embrionária às infecções pelo *T. cruzi* foi considerada uma indicação de que células em diferenciação na crista genital, que aparecem por volta de 4 a 8,5 dias de gestação, pudessem adquirir mutações induzidas pela integração de kDNA.

Herança mendeliana (transferência vertical) do kDNA

Dessa forma, as células embrionárias tornaram-se candidatas ao recebimento de mutações associadas com as transferências de kDNA integrado em linhagens de células germinativas. A transmissão transplacentária de *T. cruzi* e a integração subsequente de kDNA foram observadas experimentalmente em crias de coelhas portadoras da infecção chagásica crônica. Quatro coelhas e dois coelhos, sexualmente maduros, inoculados com *T. cruzi* cruzaram durante o curso da infecção crônica. As fêmeas pariram 104 filhotes em três gravidezes subsequentes. Os testes NAT em amostras de DNA dos tecidos dos natimortos ou das células do sangue dos recém-nascidos das coelhas chagásicas crônicas foram realizados visando a mostrar a presença dos marcadores genéticos de nDNA e kDNA do parasito. Os testes NAT mostraram

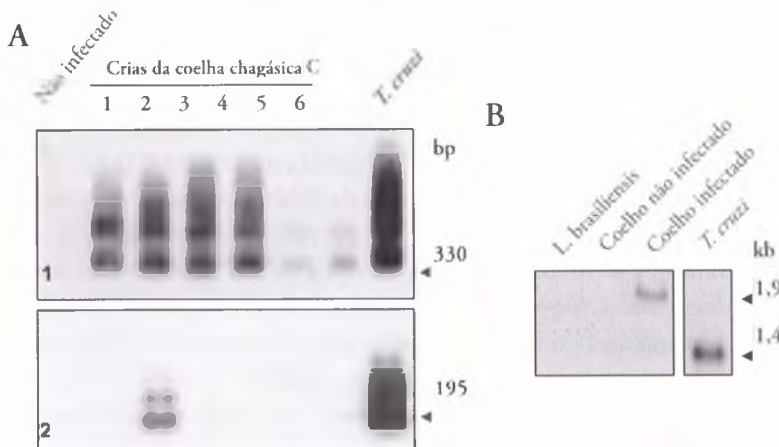


Figura 12.1 Marcadores genéticos da infecção pelo *T. cruzi* em crias de coelhas chagásicas. A) Hibridização específica de produtos de PCR de DNA obtido de coelhos nascidos de mães chagásicas, usando *primers* de kDNA e nDNA. 1) PCR para kDNA mostra múltiplos do parasito e do DNA genômico de seis progênes por hibridização com sonda de kDNA. 2) PCR para nDNA mostra bandas de 195 pb e multimeros formados com DNAs do parasito e DNA genômico da cria 2 e sonda interna específica. B) Hibridização do DNA genômico de filhote de coelho nascido de mãe chagásica com sonda específica de kDNA. Note diferenças nas posições das bandas no coelho infectado e no *T. cruzi*

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

que 15 (14,4%) filhotes apresentaram o nDNA sugestivo da infecção e que 24 (23%) retinham apenas o kDNA do parasito. Foi extraído o DNA do coração, do músculo esquelético, do fígado, do baço e dos intestinos delgado e grosso dos natimortos. Cada tipo de tecido formou bandas que hibridizaram com sondas específicas de produtos de amplificação kDNA do parasito. Nenhum desses achados foi observado em crias de coelhas controle, não infectadas.

No caso de uma coelha chagásica, cronicamente infectada, que engravidou e pariu seis filhotes, o DNA extraído de vários tecidos dos filhotes revelou cinco crias com testes NAT positivos para kDNA e apenas uma cria teve testes NAT com ampliações positivas de kDNA e de nDNA (Figura 12.1A e B). Na verdade, cinco das seis crias dessa coelha chagásica apresentaram transferência vertical de kDNA por meio dos gametas dos genitores, enquanto um único filhote recebeu a infecção viva do *T. cruzi* por via transplacentária. Os DNAs genômicos das cinco crias kDNA-positivas foram submetidos a análise pela técnica 5' RACE, apresentando seis sítios de integração de fragmentos de minicírculos. Em três desses casos, o kDNA entrou na região da β -globina no cromossomo 1. Para determinar se a infecção viva é necessária para que haja integração do kDNA, seqüências de minicírculos purificadas ou clonadas foram inoculadas via intravenosa nos coelhos. Esses coelhos controle foram monitorados, semanalmente, durante três meses e apresentaram, apenas até a terceira semana pós-inoculação, produtos de amplificação de kDNA a partir de DNA extraído de seu próprio sangue.

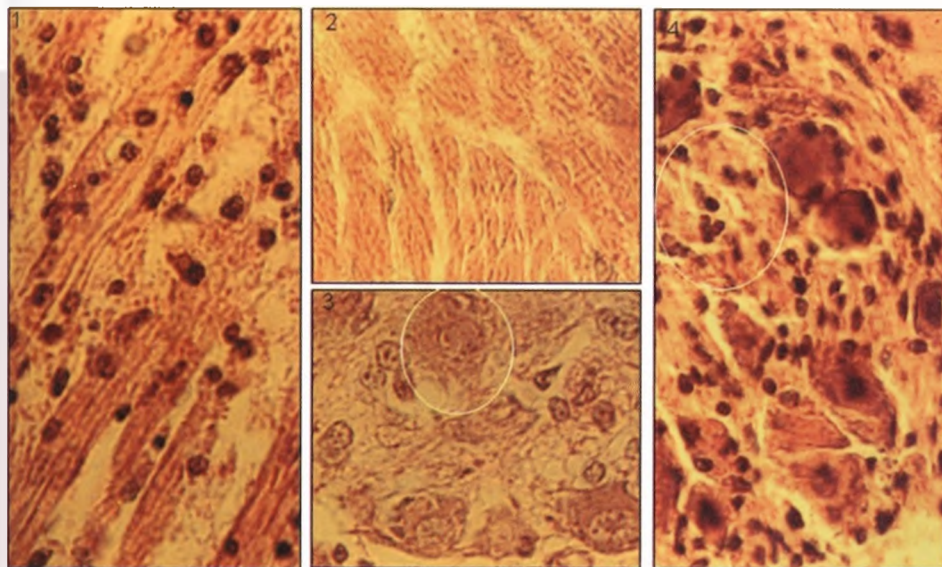


Figura 12.2 Histopatologia em cria de coelha chagásica com a mutação do kDNA. Lesões típicas de “unidade mínima de rejeição” presentes no coração e no gânglio parassimpático intracardiaco. Compare as lesões com a histologia normal do coração (no meio e acima) e do gânglio (no meio e abaixo)

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

Nos filhotes nascidos de coelhas chagásicas, foram encontradas lesões histopatológicas típicas (Figura 12.2) no tecido muscular cardíaco e também no sistema nervoso periférico. Tais lesões são similares àquelas descritas em coelhos chagásicos e em humanos (veja o capítulo sobre a patologia em pacientes chagásicos e em coelhos). Nenhuma patologia foi encontrada em qualquer tecido de coelhos nascidos de genitores controle, não infectados.

Evolução e patologia

Tendo mostrado a transferência vertical de kDNA de coelhos chagásicos cronicamente infectados para suas crias, a alta frequência com que o kDNA do parasito foi herdado pelo hospedeiro tornou evidente a herança mendeliana. Essa observação é consistente com a detecção de fragmentos de kDNA amplificados de vários tecidos das crias de coelhas chagásicas (Figura 12.1A e B). Outros experimentos também mostraram permissividade de células embrionárias de galinha às infecções pelo *T. cruzi*.

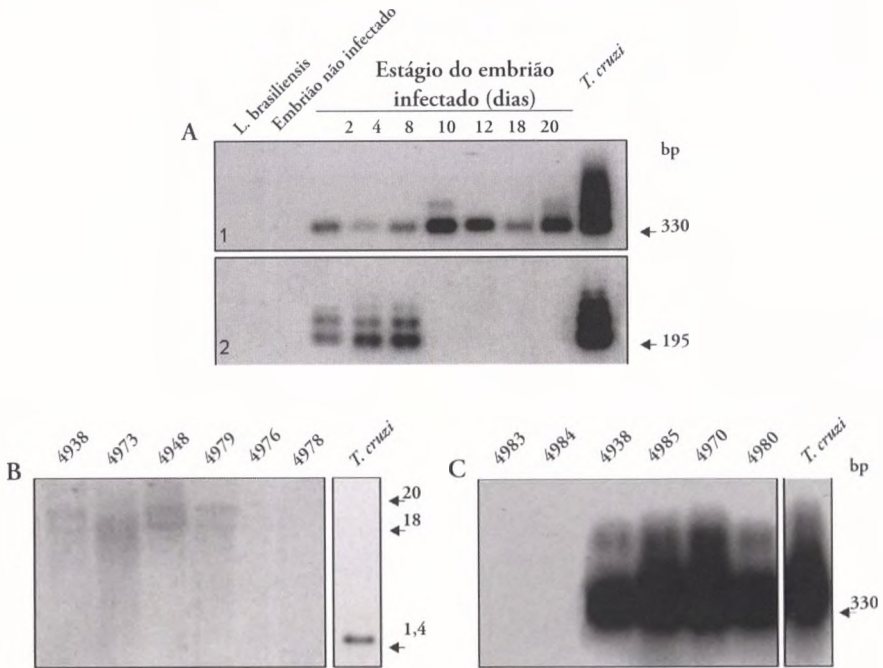


Figura 12.3 Integração de kDNA em células germinativas de aves nascidas de ovos inoculados com *Trypanosoma cruzi*. A) Presença de kDNA e nDNA em embriões até o 8º dia e ausência do nDNA após o 10º dia de vida embrionária. B) Hibridização do DNA do esperma e óvulo de aves kDNA-positivas (4938 e 4973, galo; 4048 e 4979, galinha) com a sonda específica. C) Hibridização dos produtos de PCR com a sonda de kDNA. Esses achados confirmam a herança mendeliana da mutação do kDNA do *T. cruzi*

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

Não obstante, mais investigação fez-se necessária para dissociar claramente o evento de integração de kDNA da infecção ativa persistente. Então, foram feitos outros experimentos visando a excluir a infecção persistente, requerimento esse considerado essencial para esclarecer e estabelecer uma base experimental limpa de integração de kDNA no genoma do hospedeiro vertebrado. O uso de aves como modelo produziu resultados claros e estabeleceu a base da patologia da doença nos vertebrados refratários ao *T. cruzi* (Figura 12.3A, B e C).

Do maior interesse, a patologia (Figura 12.4A, B, C e D) encontrada nas aves kDNA-mutadas é indistinguível daquela descrita em humanos que sucumbem à doença de Chagas.¹ O kDNA foi integrado em 25% dos pintos que nasceram de ovos férteis inoculados com *T. cruzi*. Portanto, as lesões patológicas descritas em galinhas com mutações kDNA-positivas são claramente independentes do parasito, tendo sido eliminada qualquer possibilidade de contaminação críptica pela persistência do *T. cruzi*. Com o estabelecimento de uma base reprodutível para a integração de kDNA em células de linhagem germinativa, a transferência vertical de DNA do *T. cruzi* para a progênie livre de infecção ficou plenamente demonstrada. Ainda de grande interesse, progênie das aves kDNA positivas, F0 e F1, desenvolveram sinais de fraqueza muscular generalizada; algumas galinhas não conseguiram sustentar-se nas pernas.

Usualmente, as galinhas que desenvolviam essa doença sistêmica morriam precocemente. As secções histológicas dos músculos estriados esqueléticos e do coração, dos músculos lisos e dos gânglios parassimpáticos mostraram lesões típicas, como aquelas descritas nos mamíferos que morrem com a doença de Chagas (Figura 12.5A, B, C e D). A doença de Chagas no coração das galinhas, na ausência do parasito, mostrou

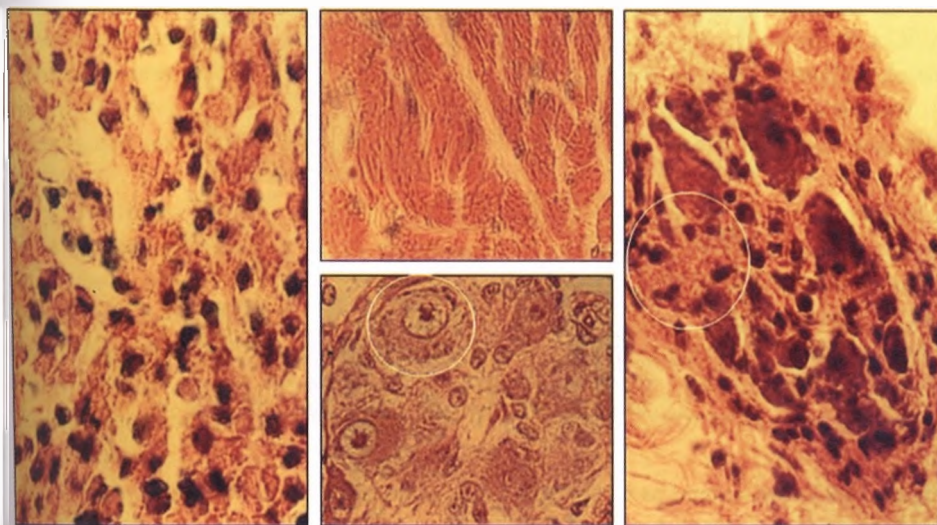


Figura 12.4 Histopatologia na ave F1 nascida com a mutação de kDNA pela herança mendeliana. As lesões típicas de “unidade mínima de rejeição” estão documentadas no coração (esquerda) e no gânglio nervoso intracardiaco (direita). Observe o aspecto histológico normal do coração (meio e acima) e do gânglio (meio e abaixo)

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

a unidade mínima de rejeição típica, similar àquelas descritas na população humana que sucumbe à doença de Chagas. Essa unidade mínima de rejeição é caracterizada pelos infiltrados mononucleares de células efetoras do sistema imune e lise das células-alvo do coração. Em vista dessas lesões, a integração do kDNA deve representar uma causa potencial de respostas auto-imunes que se desenvolvem em uma porcentagem de pacientes com a doença de Chagas, podendo ser a chave para o entendimento de aspectos importantes da patogênese e das manifestações clínicas da doença.¹

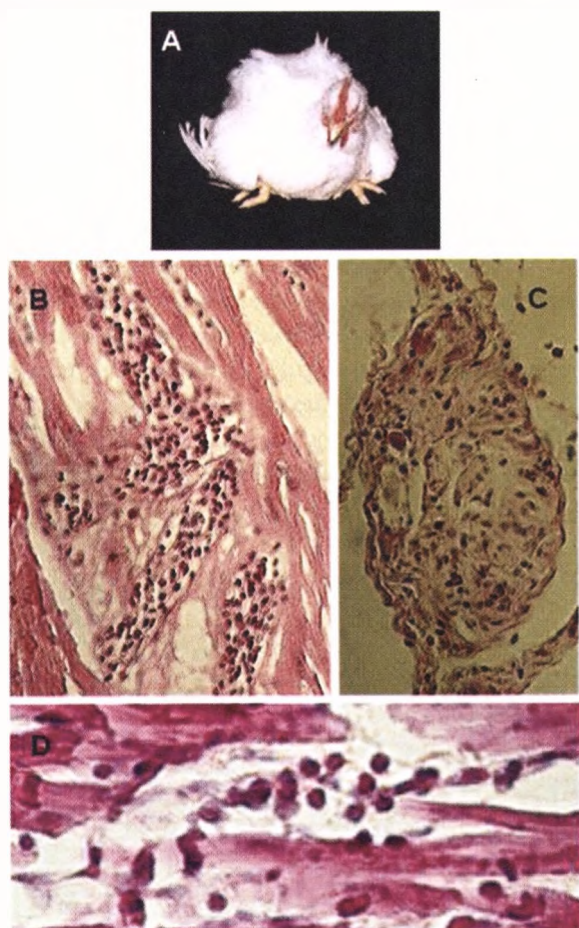


Figura 12.5 Lesões sistêmicas na progênie F1 de galinha kDNA-positiva. A) Ave de 4 meses de idade apresentou fraqueza muscular generalizada. B) Miosite intensa mostrando infiltrado linfocitário e lise de fibras musculares (*H-E*, 100X). C) Gânglio parassimpático intracardíaco mostrando o infiltrado inflamatório e despopulação de neurônios (*H-E*, 100X). D) “Unidade mínima de rejeição” no coração de galinha F1; linfócitos imunes efetores aderem, atacam e destroem a fibra cardíaca (*H-E*, 400X)

Fonte: Teixeira et al., *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 2006

Alterações moleculares decorrentes da mutação

Numerosos exemplos de integração de kDNA nos genomas de hospedeiros vertebrados infectados com *T. cruzi* foram documentados. O mapeamento dos sítios de inserções de kDNA no genoma desses hospedeiros parece ser uma abordagem importante para verificar a possibilidade de explicar variações clínicas nas manifestações da doença que poderiam correlacionar-se com os sítios de integração de kDNA e posterior mobilização via transposição mediante atividade da maquinaria de LINE-1.² As seqüências LINEs poluíram os genomas de vertebrados há mais de 150 milhões de anos, muito antes da especiação do *Homo sapiens*. O genoma do vertebrado está repleto (> 50%) de seqüências repetidas, incluindo as repetições intra-esparsas derivadas de elementos transponíveis longos e curtos, respectivamente LINEs que carregam os SINEs embutidos na sua estrutura, nas regiões extensas do genoma que se duplicam em segmentos regulares. Isso inclui duplicação de segmentos na forma de palíndromos dispersos onde o pareamento desigual durante a recombinação favorece as deleções responsáveis por síndromes genéticas.³ Criando seqüências repetidas em regiões que não podem ser clonadas ou seqüenciadas com as biotecnologias disponíveis, acrescenta-se a dificuldade de que ambos kDNA e DNA flanqueado do hospedeiro são completamente rearranjados; as inserções de kDNA e as regiões flanqueadas ficam persistentemente sujeitas às conseqüências de deleções e rearranjos. Portanto, aquelas amostras de DNA que se acham envolvidas na transferência horizontal de DNA (THD) de minicírculo dentro do genoma do hospedeiro vertebrado são ferramentas úteis no laboratório para calibração de relógio molecular usado em estudos filogenéticos. Certamente, o seqüenciamento completo do genoma de um paciente chagásico arquetipo, apresentando deleção e recombinação resultantes de integrações de kDNA ofereceria oportunidade única para avançar a pesquisa nessa área. A análise desses eventos de integração é chave para o entendimento das manifestações da doença de Chagas, que usualmente levam décadas para se apresentarem clinicamente nos chagásicos.

O seqüenciamento do genoma da galinha e sua anotação em banco de dados estão disponíveis. Nele se verificou que existem mais de 200 mil cópias de retrotransposons repetitivos CR-1 (equivalente ao LINE-1 de mamífero) no genoma da galinha, comparativamente duas vezes mais que a quantidade presente no homem. Além disso, aproximadamente 10 mil cópias imperfeitas de SINEs também foram identificadas, as quais são similares àquelas nos mamíferos.⁴ Esta informação representa uma fonte importante para os estudos futuros nesse modelo animal e no homem.⁵

Abstract

Having shown horizontal transfer of *Trypanosoma cruzi* kDNA minicircle sequences to the genome of Chagas rabbits, it was compelling to test the hypothesis of Mendelian inheritance of kDNA mutation in offspring of chagasic rabbits. Indeed,

vertical transfer of kDNA sequences to offspring of *T. cruzi*-infected rabbits was obtained by crossings. Yet, the rabbit is permissive to *T. cruzi* infections, which can persist throughout the animal's life. To warranty these mutations result from true kDNA integration (not artifact resulting from residue of cryptic infections) it was decided to use chickens refractory to *T. cruzi*. This experiment showed that chickens are indeed refractory to *T. cruzi*, although they can be infected early in embryonic life. The inoculation of *T. cruzi* trypomastigotes in the air chamber of fertile eggs yielded parasite-free chicks, showing kDNA mutation. Interestingly, kDNA-mutated rabbits and chickens presented "minimal rejection units" typical of Chagas heart disease; parasite-free target cells were destroyed by the host's immune system effectors lymphocytes and macrophages. We conclude that "minimal rejection unit" is a common denominator associated with the pathogenesis stemming from *T. cruzi* kDNA-induced mutation in the host's genome, which triggers genotype and phenotype alterations driving the auto-immune rejection 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. 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.
3. OSTERTAG, E. M.; KAZAZIAN, H. H. Jr. Biology of mammalian L1 retrotransposons. *Annual Review of Genetics*, 35, p. 501-538, 2001.
4. International Chicken Genome Sequencing Consortium. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature*, 432, p. 695-716, 2004.
5. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409, p. 860-927, 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.

Epigastralgia: 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 (-NH₂) 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/m², com capa em papel
Cartão Supremo 250 g/m², 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

Finattec