

4

Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas

Ariel Mariano Silber e Marcelo Urbano Ferreira

- ▶ Tripanossomas, 34
- ▶ Aspectos biológicos, 34
- ▶ Aspectos clínicos, 39
- ▶ Diagnóstico laboratorial da doença de Chagas, 40
- ▶ Tratamento da doença de Chagas, 41
- ▶ Vetores da doença de Chagas, 42
- ▶ Prevenção e controle da doença de Chagas, 43
- ▶ Bibliografia, 45
- ▶ Leitura sugerida, 45



A tripanossomíase americana ou doença de Chagas é causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, cujo ciclo de vida transcorre entre insetos vetores reduvídeos e hospedeiros mamíferos. A Organização Mundial da Saúde classifica a doença de Chagas entre as treze doenças tropicais mais negligenciadas, constituindo um importante problema social e econômico na América Latina. O ciclo natural ocorre exclusivamente nas Américas, onde o inseto vetor está presente. Com base no achado de DNA do parasito em tecidos de múmias de civilizações pré-colombianas, acredita-se que *T. cruzi* infecte populações humanas há 9.000 anos (Aufderheide *et al.*, 2004). Verifica-se infecção humana por via vetorial no México e em todos os países da América Central e do Sul, com 8 a 10 milhões de indivíduos infectados. No Brasil, estima-se a existência de 5 milhões de portadores de infecção.

Os vetores da doença de Chagas são insetos hemípteros hematófagos da família Reduviidae. Das 140 espécies conhecidas de triatomíneos, distribuídas em 18 gêneros, somente algumas dos gêneros *Triatoma*, *Panstrongylus* e *Rhodnius* são reconhecidas como vetores da doença de Chagas. Dentre estas, *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Triatoma dimidiata* são as mais relevantes na transmissão humana. O parasito circula entre mais de 150 espécies de animais domésticos (cães, gatos, cobaias, hamsters) e silvestres (ratos silvestres, marsupiais, tatus), que constituem o reservatório de infecção. A área de transmissão enzoótica abrange desde o sul dos EUA até o sul da Argentina e Chile.

A doença de Chagas foi descrita pela primeira vez, em 1909, pelo médico e cientista brasileiro Carlos Chagas. Em um caso único na história da Medicina, Chagas descreveu, além da doença, o seu agente etiológico, o ciclo de transmissão, os hospedeiros vertebrados e os vetores e as manifestações clínicas da fase aguda no primeiro caso humano estudado.

▶ Tripanossomas

Segundo a classificação tradicional de Norman Levine, *Trypanosoma cruzi* pertence à ordem Kinetoplastidae, que reúne protozoários com cinetoplasto, uma estrutura composta de DNA mitocondrial fibrilar (kDNA). Nessa ordem, *T. cruzi* localiza-se na família Trypanosomatidae, que reúne organismos com o kDNA em forma de rede e que apresentam um único flagelo emergindo de um bolso flagelar anterior ou lateral, unido ao corpo (Levine *et al.*, 1980). Todos os tripanossomatídeos são parasitos.

A classificação tradicional dos protistas, entretanto, vem sendo revista recentemente, com a definição de agrupamentos de organismos que, provisoriamente, não correspondem aos níveis taxonômicos tradicionais como famílias e ordens (Adl *et al.*, 2005). Nesse novo esquema de classificação, os cinetoplastídeos pertenceriam ao subgrupo taxonômico Kinetoplastea do grupo Euglenozoa, por sua vez membro do supergrupo Excavata. No subgrupo Kinetoplastea encontra-se o agrupamento Metakinetoplastina, definido com base na análise de sequências de gene de RNA ribossômico, que compreende, entre outros, o clado Trypanosomatida. Este último agrupamento, na classificação mais recente, corresponde à família Trypanosomatidae tradicional.

O clado Trypanosomatida contém os gêneros *Crithidia*, *Blastocrithidia*, *Endotrypanum*, *Herpetomonas*, *Leishmania*, *Leptomonas*, *Phytomonas*, *Rinchoi domonas*, *Sauroleishmania*,

Trypanosoma e *Wallaceina*. Desses, apenas dois gêneros reúnem espécies causadoras de doença humana: *Trypanosoma* e *Leishmania*. No gênero *Trypanosoma* encontram-se, além de *T. cruzi*, *T. brucei gambiense* e *T. b. rhodesiense*, que produzem a doença do sono ou tripanossomíase africana em populações humanas de extensas áreas da África. *Trypanosoma rangeli* é eventualmente encontrado nas Américas em infecções assintomáticas no homem e em animais silvestres e domésticos. Este capítulo, entretanto, restringe-se a *T. cruzi*, único tripanossoma causador da doença de Chagas.

▶ *Trypanosoma cruzi*

Trypanosoma cruzi apresenta grande diversidade biológica, associada à sua distribuição geográfica, ao grande número de mamíferos que podem ser infectados e, potencialmente, à variedade das manifestações clínicas e de resposta ao tratamento em pacientes. Desde a década de 1960, observa-se grande polimorfismo morfológico e de comportamento biológico em *T. cruzi* (Brenner, 1973). No fim da década de 1970, técnicas bioquímicas e moleculares evidenciaram a existência de extensa diversidade genética em *T. cruzi*. Esses resultados levaram à criação de diferentes tipos de classificação infraespecífica. Os isolados de *T. cruzi* foram inicialmente agrupados com base em padrões de migração de isoenzimas em eletroforese; cada grupo de isolados com características semelhantes, com base nesse critério, forma um *zimodema*. Com o desenvolvimento de técnicas de tipagem molecular e de sequenciamento de DNA, surgiram novos critérios para classificar isolados e cepas de *T. cruzi*. Com base em diferenças de tamanho de produtos de digestão do kDNA, foram propostos, na década de 1980, os agrupamentos conhecidos como *esquizodemas*. No final da década de 1990, observou-se que *T. cruzi* podia ser classificado em dois grupos majoritários (*T. cruzi* I e *T. cruzi* II, com alguns isolados híbridos), a partir da análise de sequências dos genes de RNA ribossômico. Com a análise de maior número de isolados e cepas, o grupo *T. cruzi* II foi progressivamente subdividido em IIa, IIb, IIc, IId e IIe. O consenso mais recente sugere o agrupamento dos isolados de *T. cruzi* em seis grupos principais, numerados com algarismos romanos de I a VI (Zingales *et al.*, 2009).

▶ Aspectos biológicos

Os principais estágios do parasito encontrados em diferentes porções do tubo digestivo do vetor são os *epimastigotas* (estágios capazes de dividir-se, mas não de infectar células) e os *tripomastigotas metacíclicos* (estágios infectantes, mas sem capacidade de dividir-se). No hospedeiro mamífero, predominam os *amastigotas* (estágios capazes de dividir-se, mas pouco infectantes para células) no interior de células nucleadas e os *tripomastigotas* (que não se reproduzem, mas são muito infectantes) na corrente sanguínea. As características morfológicas de epimastigotas, tripomastigotas e amastigotas são apresentadas na Figura 4.1. Os demais estágios, descritos no vetor (p. ex., *esferomastigotas*) e no hospedeiro vertebrado (p. ex., epimastigotas intracelulares), são transitórios. Apesar de certo pleomorfismo, cada estágio pode ser identificado com base em parâmetros como a morfologia geral da célula e as posições relativas do flagelo, do núcleo e do cinetoplasto, bem como a

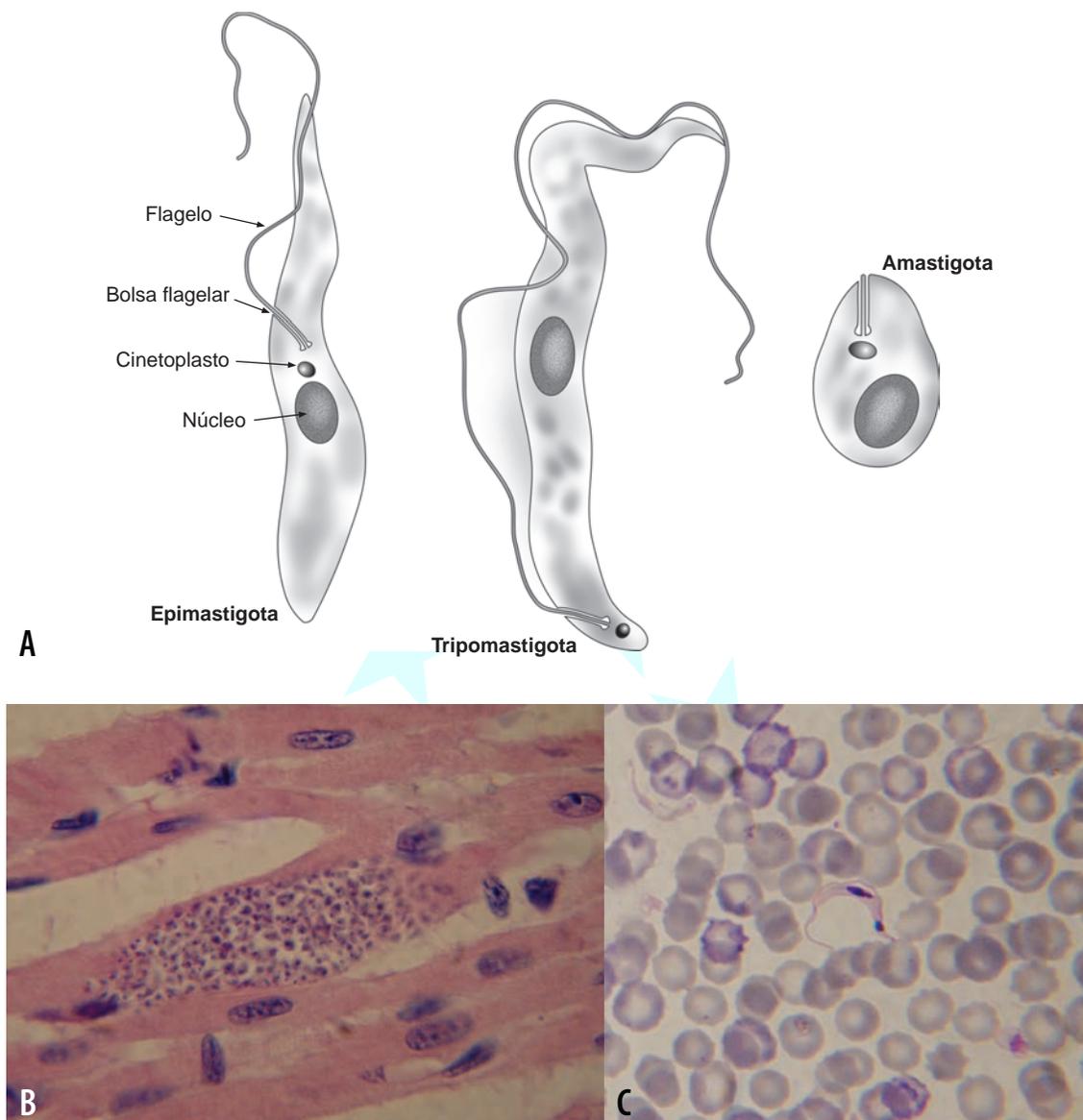


Figura 4.1 Estágios evolutivos de *Trypanosoma cruzi*. **A.** Representação esquemática da morfologia dos principais estágios encontrados ao longo do ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*. Observe, em cada estágio, a posição relativa do núcleo e do flagelo; em amastigotas, o flagelo rudimentar não chega a emergir do bolso flagelar. **B.** Corte histológico que mostra ninho de amastigotas de *Trypanosoma cruzi* na musculatura esquelética cardíaca (coloração: hematoxilina-eosina). **C.** Tripomastigota em esfregaço sanguíneo (coloração: Giemsa). (Fotografias cedidas por Marcelo Urbano Ferreira.)

partir de suas propriedades biológicas e de sua constituição proteica.

Os *amastigotas* de *T. cruzi* são tipicamente arredondados ou ovoides, com aproximadamente 3 a 5 μm de diâmetro, com um flagelo incipiente que não chega a emergir do bolso flagelar e o cinetoplasto próximo do núcleo. Os amastigotas ocorrem principalmente durante o ciclo intracelular na infecção dos mamíferos, constituindo o principal estágio reprodutivo nesses hospedeiros. Multiplicam-se por fissão binária no citoplasma das células infectadas.

Os *tripomastigotas* são formas extracelulares alongadas, de aproximadamente 15 μm de comprimento, que apresentam um flagelo que emerge do bolso flagelar na parte posterior da célula, e a percorre na direção longitudinal até a parte anterior, ligado à membrana. O flagelo produz movimento ondulatório na região da membrana à qual está associado; por isso, o complexo que compreende o flagelo e a membrana é denominado

membrana ondulante. No tripomastigota, o cinetoplasto está situado em posição posterior ao núcleo. No hospedeiro vertebrado, os tripomastigotas são encontrados majoritariamente no sangue; por isso, são conhecidos como *tripomastigotas sanguícolas* ou *sanguíneos*. Nos triatomíneos, são encontrados tripomastigotas na extremidade distal do tubo digestivo; são denominados *tripomastigotas metacíclicos*. Os tripomastigotas não se reproduzem, mas são as principais formas infectantes do parasito. Apesar da semelhança morfológica e biológica, tripomastigotas metacíclicos e sanguícolas diferem quanto ao metabolismo e ao perfil de expressão de proteínas, bem como quanto aos mecanismos de infecção de células.

Os *epimastigotas* são estágios extracelulares alongados, com aproximadamente 20 μm de comprimento, com o cinetoplasto situado em posição anterior, porém próximo ao núcleo. O flagelo também forma uma membrana ondulante, porém mais curta e menos evidente. Os epimastigotas são encontrados no

intestino médio dos triatomíneos, onde se multiplicam abundantemente por fissão binária. São as únicas formas capazes de reproduzir-se que podem ser mantidas em cultivo axênico.

► Organização celular

Trypanosoma cruzi apresenta diversas peculiaridades em sua organização celular. Todas as formas de *T. cruzi* têm um único flagelo na região anterior, que emerge de uma estrutura denominada *bolso flagelar*, o qual corresponde a uma invaginação da membrana celular do parasito. O bolso flagelar, além de ser a região de emergência do flagelo, é um sítio ativo de troca de moléculas entre os meios extracelular e intracelular; a maior parte dos processos endocíticos e exocíticos ocorre nesse local. Junto ao bolso flagelar existe uma segunda estrutura envolvida na endocitose de partículas, o *citóstoma*. A mitocôndria de *T. cruzi* é atípica, consistindo em uma única rede de túbulos com dupla membrana, que percorre o interior da célula. Próximo do local de emergência do flagelo, no interior da mitocôndria, encontra-se o *cinetoplasto*, estrutura que contém o DNA mitocondrial ou kDNA, aproximadamente 30% do DNA total da célula, arranjado em maxicírculos e minicírculos.

O cinetoplasto compreende cerca de 50 *maxicírculos*, grandes estruturas de DNA circular com aproximadamente 20.000 pares de bases, além de cerca de 20.000 *minicírculos*, estruturas menores de DNA circular, com cerca de 1.500 pares de bases. Os maxicírculos compreendem vários genes que codificam proteínas mitocondriais. No entanto, como ocorre com os demais cinetoplastídeos, esses genes não codificam as mensagens completas para a síntese dessas proteínas, devendo ser editados para permitir a síntese de proteínas funcionais. A *edição* é um processo de adição e remoção de uridinas no transcrito primário que envolve diversas enzimas, o transcrito primário e pequenas moléculas de RNA transcritas a partir dos minicírculos, conhecidas como *RNA guia*, ou gRNA. As moléculas de gRNA ligam-se a regiões do transcrito primário, marcando as posições para a adição ou a remoção de uridinas. Deste modo, permitem que o transcrito codifique adequadamente uma mensagem para a síntese de proteínas funcionais.

O *citoesqueleto* de *T. cruzi* é também peculiar. Consiste essencialmente em uma rede de microtúbulos de α e β tubulina, entrecruzados entre si e com a membrana plasmática. Embora tenham sido encontrados, no genoma de *T. cruzi*, genes que codificam actina, não foram evidenciados microfamentos clássicos de actina na composição do citoesqueleto. Em regiões específicas da membrana plasmática e da membrana flagelar, conhecidas como *flagellum attachment zone* (FAZ) na literatura de língua inglesa, ocorrem as interações entre o citoesqueleto e o flagelo, originando a membrana ondulante.

Outra organela típica dos cinetoplastídeos, semelhante ao peroxissomo encontrado em outros protozoários, é o *glicosomo*, onde ocorre parte da glicólise. O glicosomo tem uma membrana com uma única camada de fosfolípidios, delimitando uma matriz de conteúdo proteico elétron-denso. No glicosomo encontram-se enzimas da via glicolítica; em sua matriz, os componentes proteicos majoritários são as enzimas hexoquinase, glicose-6-fosfato isomerase, fosfofrutoquinase, aldolase, triosefosfato isomerase, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, fosfoglicerato quinase, glicerol-3-fosfato desidrogenase e glicerol quinase. No glicosomo, a glicose é processada até a formação de 3-fosfoglicerato; este é liberado no citosol, onde é convertido em piruvato. Além disso, o glicos-

somo parece desempenhar também um importante papel no metabolismo redox do parasito.

Trypanosoma cruzi não armazena carboidratos de alto peso molecular (p. ex., glicogênio ou amido) como substâncias de reserva. Entretanto, os epimastigotas armazenam energia, sob a forma de proteínas, em organelas denominadas *reservossomos*. O conteúdo proteico dessas organelas é degradado na transição de epimastigotas para tripomastigotas metacíclicas, no intestino do vetor; portanto, os reservossomos são perdidos durante a metaciclogênese.

► Ciclo de vida

O *ciclo de vida* de *T. cruzi* é digenético, com um hospedeiro mamífero e um inseto. Em ambos os hospedeiros, observa-se alternância entre estágios reprodutivos que não são infectantes e estágios infectantes que não se reproduzem (Figura 4.2).

Os insetos vetores infectam-se quando fazem seu repasto sanguíneo sobre um mamífero infectado com formas tripomastigotas circulantes no sangue. Os tripomastigotas sanguícolas são ingeridos e diferenciam-se em epimastigotas no intestino médio do inseto. Nessa fase observam-se estágios de diferenciação transitórios, como os *esferomastigotas*, esféricos e morfológicamente semelhantes aos amastigotas. Os epimastigotas reproduzem-se por fissão binária e colonizam o intestino médio e posterior do inseto. Na porção distal do tubo digestivo, os epimastigotas aderem-se às células epiteliais e inicia-se o processo de diferenciação em tripomastigotas metacíclicas, infectantes. Os estímulos conhecidos para desencadear a diferenciação do parasito no tubo digestivo do vetor, conhecida como *metaciclogênese*, são a queda de pH abaixo de 5,5 e o estresse metabólico. Quando os parasitos atingem o reto, encontram maior concentração de certos nutrientes que viabilizam, do ponto de vista energético, a etapa final da diferenciação. Os aminoácidos prolina, glutamato e aspartato, assim como a glicose, são nutrientes requeridos para a metaciclogênese *in vitro*.

Os tripomastigotas metacíclicos perdem a aderência ao epitélio intestinal, sendo liberados na luz da porção distal do tubo digestivo do vetor. Desta maneira, o parasito prepara-se para o encontro com o hospedeiro mamífero, no próximo repasto sanguíneo do vetor. O desenvolvimento completo dos parasitos em triatomíneos requer pelo menos 7 dias. Não há relatos na literatura de transmissão horizontal nem de cura em triatomíneos infectados.

Os triatomíneos defecam durante, ou pouco tempo após, o repasto sanguíneo; depositam as fezes sobre a pele do mamífero do qual se alimentam. Nas fezes de triatomíneos infectados encontram-se tripomastigotas metacíclicos, capazes de penetrar o novo hospedeiro por pequenas lesões ou escarificações da pele ou pelas mucosas, mesmo íntegras. A cada evacuação, um triatomíneo infectado elimina em média 50 a 300 tripomastigotas. Ao penetrar células, o parasito diferencia-se em amastigotas, capazes de reproduzir-se e de estabelecer a infecção. Os estímulos para a diferenciação de tripomastigotas em amastigotas são pouco conhecidos; pode ser necessária uma queda de pH para iniciar esse novo processo de diferenciação. Ocorre queda de pH quando o parasito invade as células do hospedeiro mamífero e se aloja no vacúolo parasitóforo, em parte formado por vesículas lisossômicas. Portanto, a invasão das células hospedeiras parece ser um processo fundamental para a diferenciação do parasito em um estágio capaz de reproduzir-se.

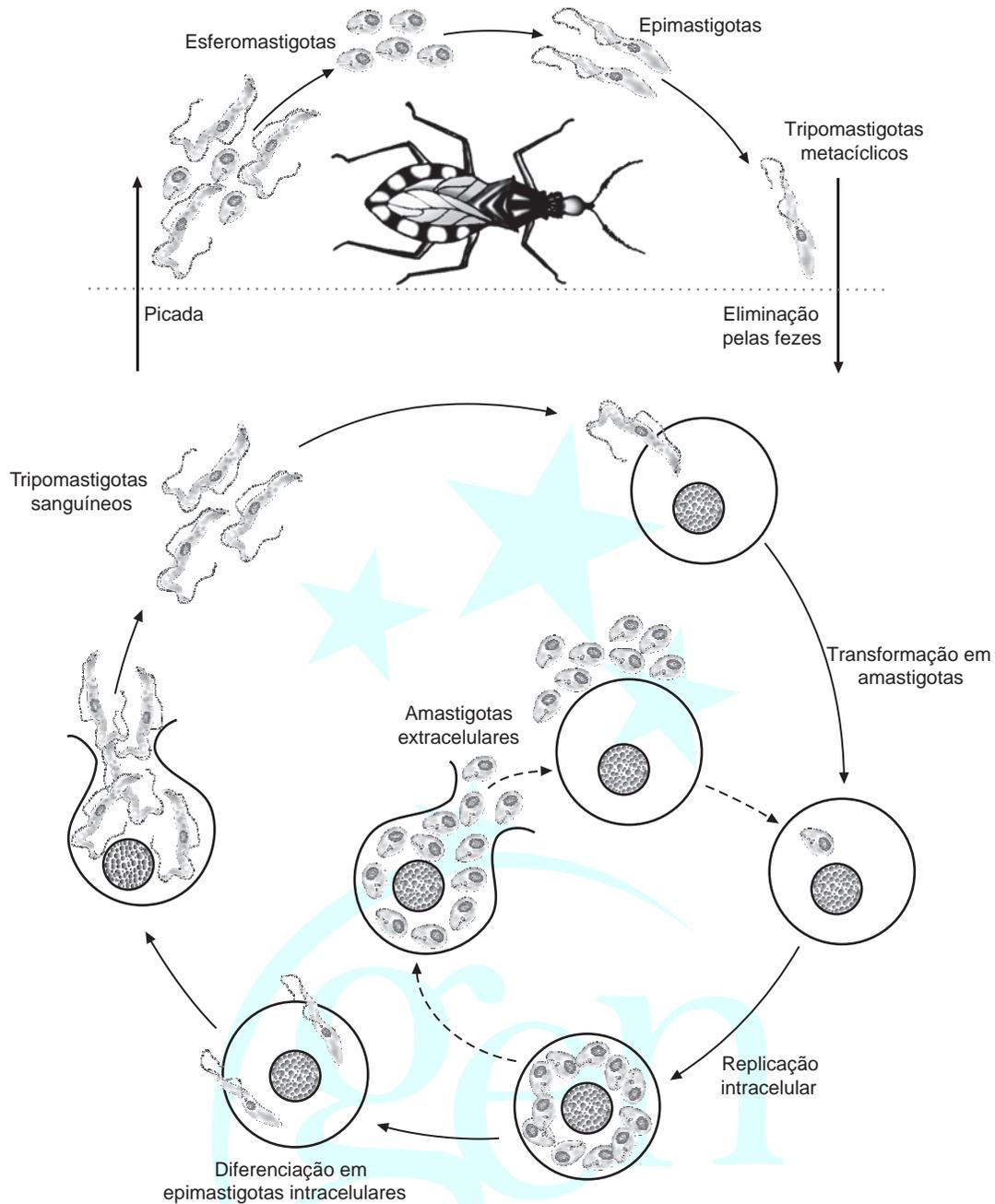


Figura 4.2 Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*. As setas tracejadas representam situações relativamente infrequentes em que amastigotas são encontrados no ambiente extracelular, em decorrência da ruptura prematura da célula infectada (antes da diferenciação dos amastigotas intracelulares em tripomastigotas sanguíneos). Os amastigotas podem eventualmente invadir células nas imediações do local onde foram liberados para prosseguir o ciclo intracelular em uma nova célula infectada.

A *invasão celular* depende de múltiplas interações bem coordenadas entre as células hospedeiras e o parasito (Figura 4.3). Do ponto de vista do parasito, o processo de invasão de células sem grande capacidade fagocitária é ativo, dependente de energia, e envolve numerosas moléculas de adesão presentes em sua superfície. Ocorre troca de sinais moleculares, incluindo mobilização transitória de cálcio, para o recrutamento de lisossomos da célula hospedeira, que migram para as regiões da membrana plasmática onde há parasitos aderidos. Durante a invaginação da membrana plasmática, há a fusão de lisossomos para formar o *vacúolo parasitóforo*. As membranas dos lisossomos compreendem H^+ /ATPases, que acidificam a luz do vacúolo, submetendo o parasito às

condições de estresse necessárias para iniciar a diferenciação em amastigotas.

Quando o parasito invade células com grande capacidade fagocitária, a internalização pode ocorrer através de um processo semelhante à fagocitose, com a fusão dos lisossomos imediatamente depois da formação de um vacúolo com características de fagossomo, formando-se assim o vacúolo parasitóforo de conteúdo ácido. A membrana do vacúolo parasitóforo maduro logo se rompe, liberando o parasito no citoplasma da célula hospedeira. Livre no citosol, o parasito diferencia-se em amastigota, que começa a replicar por fissão binária. Calcula-se que cada tripomastigota que penetra uma célula hospedeira originará até 500 amastigotas, sendo essa

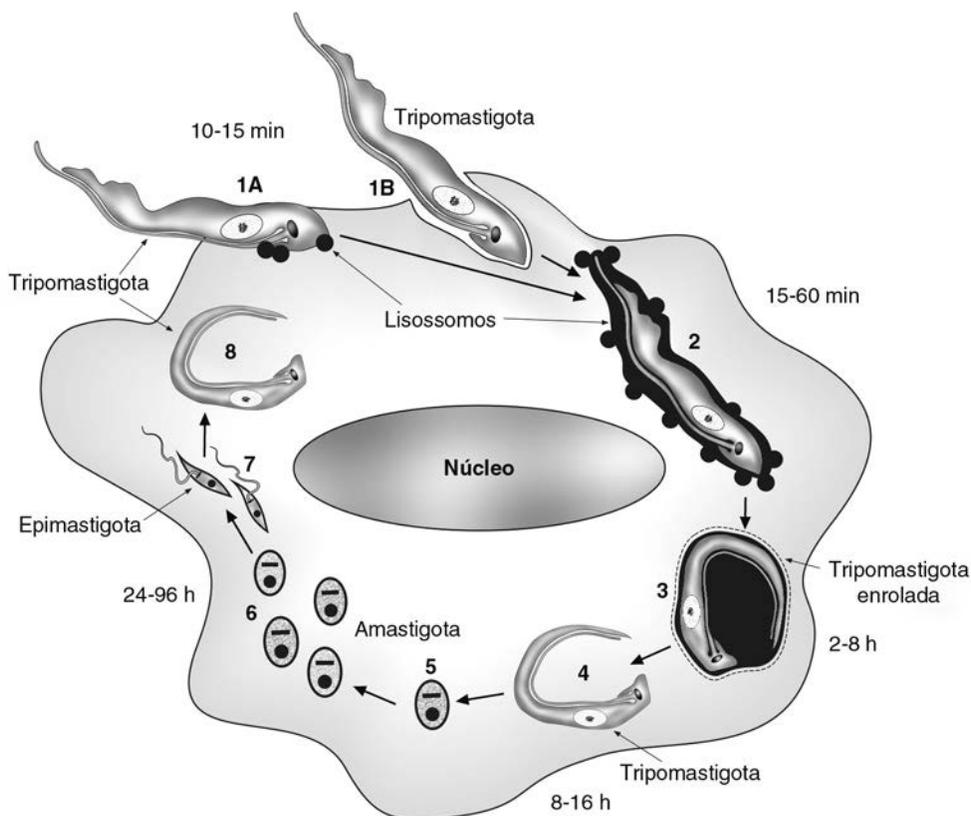


Figura 4.3 Mecanismos de invasão e sobrevivência intracelular de *T. cruzi*. Em células não fagocitárias, o parasito interage com a superfície da célula hospedeira e estimula um intercâmbio de sinais moleculares que levam ao recrutamento e fusão de lisossomos no local de adesão do parasito (1A). O parasito penetra ativamente; a fusão dos lisossomos com a membrana plasmática é a etapa inicial da formação do vacúolo parasitóforo, onde os tripomastigotas se alojam (2). Em células fagocitárias, o parasito é internalizado logo após a adesão à membrana da célula hospedeira (1B). Forma-se o fagossomo, ao qual posteriormente se fundem lisossomos (2). Em ambos os casos, o compartimento em que se aloja o parasito contém proteínas lisossômicas e pH ácido, que favorecem a lise da membrana vacuolar (3) e a liberação do parasito no citoplasma da célula hospedeira (4). No citosol, os tripomastigotas diferenciam-se em amastigotas (5), que se multiplicam por fissão binária (6). Após um número variável de replicações, os amastigotas diferenciam-se novamente em tripomastigotas (8), passando transitariamente pelo estágio de epimastigota intracelular (7). Os tripomastigotas lisam a membrana citoplasmática, sendo liberados ao meio extracelular.

grande capacidade de multiplicação um fator crítico para o estabelecimento da infecção.

Depois de um número variável de divisões celulares, os parasitos rediferenciam-se em *tripomastigotas*, passando por um estágio intermediário, conhecido como *epimastigota intracelular*, com características morfológicas, bioquímicas e biológicas semelhantes ao epimastigota encontrado no vetor. Os tripomastigotas rompem a membrana plasmática da célula hospedeira, sendo liberados no meio extracelular. Podem invadir células vizinhas ou atingir a corrente sanguínea, disseminando-se para outros órgãos e tecidos. Ao fazer seu repasto sanguíneo em um hospedeiro mamífero com formas tripomastigotas sanguíneas, um vetor ingere esses estágios circulantes e se infecta. Ocasionalmente a célula hospedeira rompe-se antes da diferenciação dos amastigotas em tripomastigotas (Figura 4.2). Os amastigotas que chegam ao meio extracelular penetram em algumas células hospedeiras, especialmente células fagocitárias, mas provavelmente não atingem a corrente sanguínea.

Trypanosoma cruzi é um parasito eurixeno, que infecta diversos mamíferos de pequeno e médio porte. Praticamente todo tipo de célula nucleada pode ser parasitada (Lenzi *et al.*, 1996); diferentes cepas, entretanto, demonstram certa preferência por diferentes tipos celulares, fator que poderia explicar algumas variações regionais observadas no espectro clínico da doença de Chagas. Ainda que essa hipótese seja atraente, faltam dados conclusivos para confirmá-la.

► Imunidade contra *Trypanosoma cruzi*

O parasito precisa sobreviver no hospedeiro por longos períodos de tempo para aumentar as chances de encontro com o vetor. Deve, portanto, lidar com as respostas imunes inatas e adaptativas do hospedeiro vertebrado, desencadeadas para controlar a infecção (Figura 4.4). Quanto aos mecanismos de imunidade inata, observou-se que animais deficientes na via de sinalização através dos receptores de tipo Toll (*Toll-like receptors* [TLR] na literatura de língua inglesa), quando infectados experimentalmente com *T. cruzi*, apresentam infecção aguda mais grave. Várias moléculas do parasito, como glicosilinositolfosfolípidios (GIPL), glicofosfatidilinositol (GPI) e seu próprio DNA, são capazes de ativar TLR específicos, com participação na regulação das fases iniciais da infecção pelo *T. cruzi*. Em relação à resposta celular, tanto as células T CD4⁺ e CD8⁺ (αβ) são críticas no controle da infecção aguda. Diferentes tentativas de desenvolvimento de vacinas têm mostrado que a resposta de tipo Th1 geralmente contribui com a proteção, enquanto a resposta Th2 contribui com a persistência do parasito, com maior gravidade da infecção. As células *natural killer* (NK) e *natural killer T* (NKT), diversas citocinas, além de óxido nítrico produzido pela enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS), também desempenham papel protetor na infecção experimental. Dados experimentais indicaram

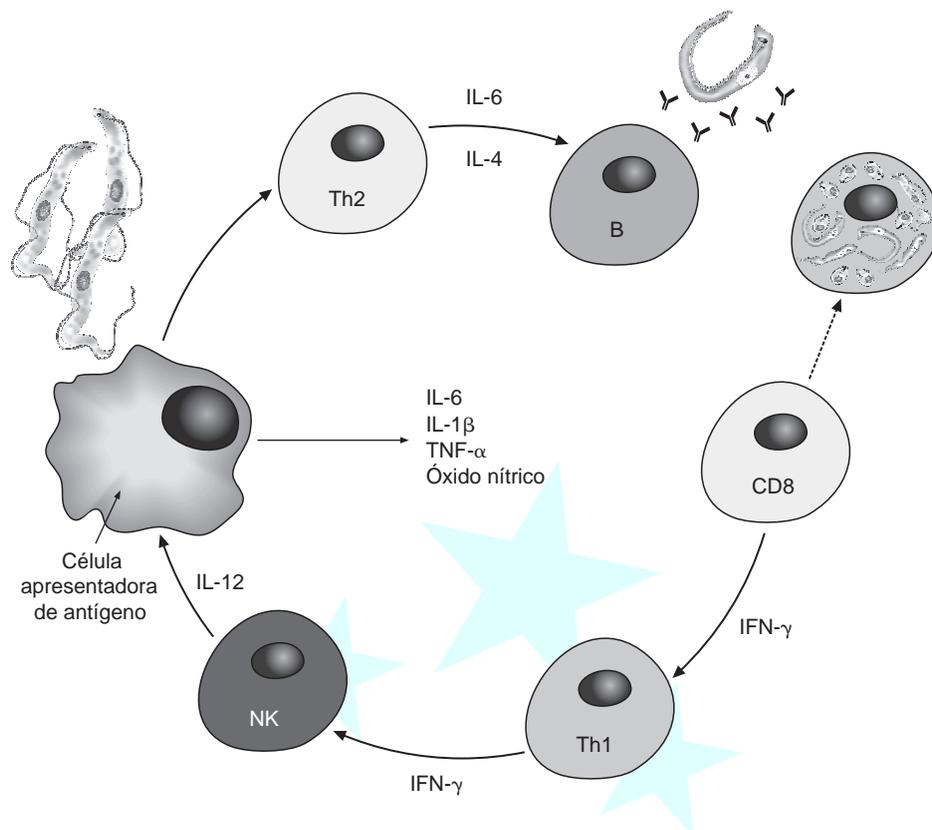


Figura 4.4 Resposta imune na infecção chagásica. As células apresentadoras de antígenos (APC) estão entre as primeiras a serem infectadas. Em resposta à infecção ocorre produção de citocinas como interleucina (IL)-6, IL-1 β , IL-12 e fator de necrose tumoral α (TNF- α), além da produção de óxido nítrico. IL-12 ativa as células *natural killer* (NK). Por sua vez, as células NK produzem interferona (IFN)- γ , ativando respostas de tipo Th1, que estimulam a atividade citotóxica de células CD8⁺. Os antígenos apresentados por APC estimulam uma resposta de tipo Th2, com produção de altos níveis de IL-4 e IL-6, que, por sua vez, estimulam a expansão de células B produtoras de anticorpos específicos contra o parasito.

que a interferona (IFN)- γ e a interleucina (IL)-12 são componentes fundamentais da resposta imune protetora, na infecção aguda e crônica. Embora a produção de IL-10 contribua para o controle da parasitemia, pode também resultar em agravamento da lesão tecidual. A resposta humoral também parece contribuir de maneira relevante com o controle da evolução da doença; a transferência passiva de anticorpos, em infecções experimentais, controla a infecção, possivelmente por desencadear mecanismos efetores de citotoxicidade celular dependente de anticorpos.

► Aspectos clínicos

A doença de Chagas apresenta duas fases: aguda e crônica. A fase aguda inicia-se no momento da infecção; caracteriza-se por parasitemia patente (*i. e.*, detectável por técnicas parasitológicas rotineiras) e pelos baixos títulos de anticorpos específicos de classe IgG, embora anticorpos IgM possam ser encontrados. A fase crônica inicia-se entre algumas semanas e uns poucos meses depois de adquirida a infecção, caracterizando-se pela ausência de parasitemia patente e por uma intensa resposta imune humoral, com predomínio de anticorpos de tipo IgG (Figura 4.5).

A maior parte das infecções agudas é assintomática ou inaparente. O quadro clínico da *doença de Chagas aguda* tipicamente se instala nos primeiros dias ou meses após a infecção

primária e dura entre quatro e doze semanas, quando não há tratamento. Caracteriza-se por febre baixa e mal-estar acompanhados de linfadenopatia e de hepatoesplenomegalia. Quase sempre são encontrados sinais eletrocardiográficos sugestivos de miocardite, embora nem sempre acompanhados

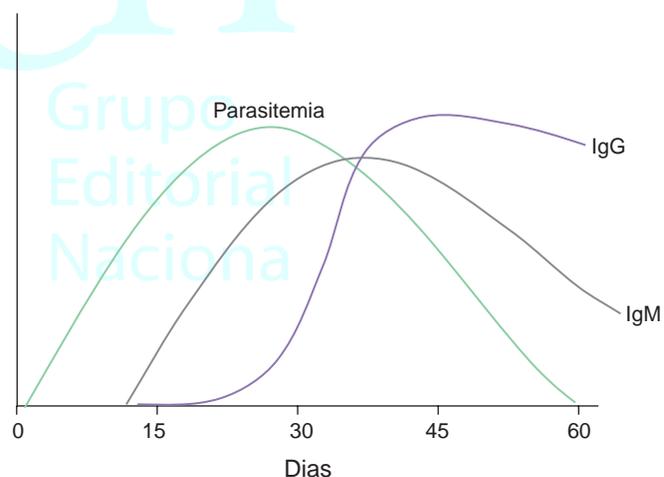


Figura 4.5 Evolução da parasitemia e da resposta imune humoral nas diferentes fases da infecção. A fase aguda inicia-se no momento da infecção e pode durar até alguns meses. Caracteriza-se por uma parasitemia evidente, e, no início, ausência total de anticorpos. Entre 2 e 4 semanas após o início da infecção, observam-se anticorpos IgM específicos. A parasitemia declina a partir de 40 a 60 dias após a infecção. Na fase crônica, a parasitemia não é mais evidente, cai a concentração de anticorpos IgM, mantendo-se títulos elevados de anticorpos IgG.

de expressão clínica. Podem ser observados sinais associados à porta de entrada do parasito, como o sinal de Romaña (edema bupalpebral unilateral com linfadenopatia-satélite, que sugere penetração do parasito pela mucosa da conjuntiva) ou o chagoma de inoculação (lesão cutânea eritematosa e endurecida, porém indolor, que se desenvolve no sítio de penetração do parasito).

A infecção crônica pode ser indeterminada ou sintomática. A forma *indeterminada* é aquela que se segue à fase aguda, aparente ou não, em que o indivíduo permanece assintomático. A forma indeterminada acomete aproximadamente 70% dos indivíduos cronicamente infectados, tem duração variável, podendo estender-se por alguns meses ou muitos anos, até o final da vida do paciente. Eventualmente a forma indeterminada pode evoluir para *formas sintomáticas* ou *determinadas*, das quais as mais comuns são a cardíaca e a digestiva. Na forma cardíaca, a manifestação clínica mais comum é a insuficiência cardíaca congestiva, acompanhada de alterações eletrocardiográficas típicas como o bloqueio completo do ramo direito e, frequentemente, o hemibloqueio anterior esquerdo. Em casos avançados, ocorre cardiomegalia. Arritmias complexas e morte súbita são relativamente comuns. Na forma digestiva, a destruição dos plexos nervosos ao longo do trato digestivo produz alterações funcionais e morfológicas principalmente no esôfago, no cólon ou ambos. As manifestações clínicas mais comuns são aquelas associadas ao megaesôfago (disfagia, regurgitação, dor epigástrica) e o megacólon (constipação intestinal crônica, distensão abdominal). Podem ocorrer *formas mistas* em que se associam sintomas cardíacos e digestivos. Finalmente, em pacientes imunocomprometidos pode ocorrer uma forma cerebral. Na infecção que acomete o sistema nervoso central, observa-se geralmente meningoencefalite que pode assemelhar-se ao quadro de neurotoxoplasmose, um importante diagnóstico diferencial a ser feito pelo clínico.

Quando há manifestações clínicas da doença, em geral se observam infiltrados inflamatórios nos tecidos afetados, mas a carga parasitária em tecidos cronicamente infectados é muito baixa. Esses achados serviram de base para a hipótese de que as lesões teciduais que produzem manifestações clínicas da doença de Chagas se devem essencialmente a uma resposta autoimune contra células do hospedeiro, desencadeada originalmente pela presença do parasito. Descreveram-se diversos anticorpos e linhagens celulares que reconhecem cruzadamente antígenos do parasito e de hospedeiros experimentais e do homem, sugerindo a ocorrência de mimetismo molecular; no entanto, a hipótese autoimune não explica, por si, a natureza multifocal da miocardite, nem a localização preferencial das lesões no ápice do ventrículo. Por outro lado, vem-se observando mais recentemente uma relação direta entre a carga parasitária inicial e a gravidade das lesões teciduais observada na fase crônica em modelos experimentais, dados que indicam uma participação direta do parasito na patologia.

► Diagnóstico laboratorial da doença de Chagas

A Tabela 4.1 resume os principais métodos utilizados para diagnóstico laboratorial da doença de Chagas. O *diagnóstico parasitológico* direto baseia-se no encontro de tripomastig

Tabela 4.1 Métodos laboratoriais para o diagnóstico da doença de Chagas.

Fase aguda

Microscopia: detecção de tripomastigotas sanguíneos em exame a fresco em lâmina (pode-se usar coloração vital com azul de metileno), em gota espessa ou esfregaço corado com Giemsa ou Leishman, ou após centrifugação em tubos de micro-hematócrito.

Sorologia: níveis elevados de anticorpos IgM, na reação de imunofluorescência indireta ou ELISA, sugerem infecção recente, mas a sensibilidade é relativamente baixa.

Xenodiagnóstico e hemocultura: podem detectar baixas parasitemias, mas a leitura dos resultados só é feita depois de pelo menos 30 dias.

Fase crônica

Sorologia: níveis elevados de anticorpos IgG, na reação de imunofluorescência indireta, hemaglutinação ou ELISA, indicam infecção crônica.

Xenodiagnóstico e hemocultura: têm sensibilidade relativamente baixa, mas podem ser úteis na confirmação diagnóstica.

Reação em cadeia da polimerase (PCR): pode detectar DNA do parasito em tecidos com alta sensibilidade, mas se encontra em fase de desenvolvimento.

gotas em amostras de sangue capilar ou venoso, sendo particularmente útil na fase aguda da infecção. Em preparações não fixadas, pode-se observar batimento flagelar do parasito com uma coloração vital simples, usando-se azul de metileno (Figura 4.6). Na fase crônica utilizam-se mais frequentemente os *métodos diagnósticos indiretos*, orientados a identificar componentes da resposta imune específica contra o parasito.

A sensibilidade do exame microscópico de preparações a fresco, esfregaços e gotas espessas varia, na fase aguda, entre 50 e 90%, dependendo dos níveis de parasitemia e da experiência do microscopista que examina a preparação. O exame de sangue centrifugado em tubos de micro-hematócrito resulta em maior sensibilidade, pois os parasitos presentes na amostra são concentrados na interface entre o plasma e as hemácias, logo acima do creme leucocitário. Em casos de dúvida diagnóstica, outras metodologias complementares deverão ser utilizadas. A pesquisa de anticorpos IgM específicos e o uso de técnicas de amplificação por cultura das amostras sendo analisadas (xenodiagnóstico e hemocultura) podem ser úteis,



Figura 4.6 Tripomastigotas sanguíneos de *Trypanosoma cruzi* corados com azul de metileno. (Fotografia cedida por Cláudio Santos Ferreira.)

mas a pesquisa de anticorpos específicos da classe IgG é raramente positiva.

O *xenodiagnóstico* consiste na alimentação de ninfas de triatomíneos livres de infecção com o sangue de pacientes. Os parasitos, se presentes, multiplicam-se no tubo digestivo do vetor. As fezes das ninfas utilizadas no exame são examinadas 30, 60 e 120 dias após o repasto sanguíneo. Pode ser feito o chamado *xenodiagnóstico natural*, originalmente descrito por Émile Brumpt em 1914, que consiste na alimentação de ninfas aplicadas diretamente sobre a pele dos pacientes (Figura 4.7), ou o *xenodiagnóstico artificial*, em que as ninfas são alimentadas através de membranas com sangue do paciente coletado com anticoagulante. A hemocultura baseia-se no mesmo princípio: os parasitos eventualmente presentes no sangue periférico dos pacientes podem ser encontrados com maior facilidade após uma etapa de multiplicação de epimastigotas em cultura *in vitro*. As leituras são quase sempre feitas ao final de 30, 60, 120 e 180 dias após a semeadura. O meio de cultura mais utilizado é o LIT (*liver infusion tryptose*), ainda que várias alternativas estejam disponíveis. A principal desvantagem dessas técnicas parasitológicas no diagnóstico da doença de Chagas aguda reside no tempo necessário para a obtenção de resultados, ainda que a sensibilidade seja próxima a 100%.

Na fase crônica, as técnicas de cultura de parasitos de amostras clínicas têm sensibilidade muito variável: entre 13 e 59% para o *xenodiagnóstico natural* e entre 22 e 79% para a hemocultura, dependendo de diversas variáveis experimentais. A *reação em cadeia da polimerase* (PCR) permite a detecção de parasitos no sangue e tecidos de pacientes, com elevada sensibilidade mesmo na fase crônica (45 a 100%). É frequentemente utilizada em contexto de pesquisa, mas ainda não se tornou amplamente disponível em laboratórios de rotina.

Diversas modalidades de diagnóstico sorológico podem ser empregadas na fase crônica. A reação de fixação de complemento foi a primeira técnica indireta de diagnóstico, originalmente descrita por Guerreiro e Machado em 1913. Deixou de ser recomendada pelo Ministério da Saúde para uso rotineiro em 1996 devido as grandes dificuldades na sua padronização. As técnicas atualmente mais utilizadas para a detecção de anticorpos são a reação de imunofluorescência indireta, hemaglutinação indireta e ELISA. A principal vantagem desta última consiste na utilização de antígenos altamente purificados ou recombinantes, que permitem reduzir drasticamente a proporção de resultados falso-positivos resultantes de reatividade cruzada com antígenos de outros parasitos (Pinazo *et al.*, 2010). Tanto no diagnóstico quanto na triagem de doadores de



Figura 4.7 Ninfa de *Triatoma infestans*. As ninfas, assim como os adultos, são hematófagas e permitem a replicação do parasito em seu tubo digestivo. Por isso, são frequentemente usadas para o *xenodiagnóstico*. (Fotografia cedida por Cláudio Santos Ferreira.)

sangue, recomenda-se o uso de pelo menos três técnicas sorológicas distintas, das quais devem ser obtidos dois resultados concordantes, para reduzir o risco de reações falso-negativas.

► Tratamento da doença de Chagas

Na fase aguda da infecção, o tratamento é feito com benzonidazol (5 mg/kg/dia divididos em duas ou três doses) por 60 dias. O nifurtimox, que pode ser utilizado na dose de 8 a 10 mg/kg/dia (adultos) ou 15 mg/kg/dia (crianças) por 60 a 90 dias, encontra-se atualmente fora do mercado nacional. Na fase aguda, estima-se que o tratamento com benzonidazol seja eficaz em pelo menos 70% dos pacientes.

Como os medicamentos disponíveis são pouco eficientes contra estágios intracelulares do parasito, o tratamento etiológico da doença de Chagas crônica é ainda assunto controverso. Sugere-se que as infecções recentes (aquelas observadas em crianças e adolescentes soropositivos) (Andrade *et al.*, 1996) e as formas indeterminadas e clínicas incipientes devam ser tratadas com benzonidazol. Nas demais situações, o tratamento somente deve ser considerado experimental (Coura, 2009). Portanto, na maioria dos casos, o tratamento das formas crônicas da doença de Chagas consiste no controle das complicações tardias, cardíacas e digestivas.

► Alvos para o desenvolvimento de novos medicamentos

A descoberta de alvos metabólicos para desenvolver medicamentos com ação tripanocida é uma prioridade de pesquisa e desenvolvimento. Descrevem-se aqui alguns resultados de pesquisa recente neste campo.

As *cisteína-proteases* participam em vários processos celulares fundamentais no ciclo de vida de *T. cruzi*, como o metabolismo energético, a diferenciação, a invasão da célula hospedeira e a evasão do sistema imune. O membro mais abundante da família das cisteína-proteases de *T. cruzi* é a *cruzipaina*. Por ser uma enzima com características bioquímicas diferentes das proteases do hospedeiro, a cruzipaina é considerada um alvo potencial para o desenvolvimento de inibidores específicos. O uso de inibidores sintéticos destas enzimas, como dipeptídeos derivatizados com sulfona tem mostrado resultados promissores no tratamento da infecção experimental pelo *T. cruzi*.

A *via de síntese de esteróis* também fornece alvos promissores, uma vez que o principal esterol nas membranas de *T. cruzi* é o ergosterol, e não o colesterol, presente nas células dos hospedeiros mamíferos. Portanto, a busca de inibidores específicos de enzimas dessa via apresenta boas perspectivas em termos de obtenção de medicamentos com toxicidade seletiva.

A inibição de enzimas da *via de síntese de poli-isoprenoides*, utilizando bisfosfonatos, reduz a parasitemia em infecções experimentais em camundongos. Os bisfosfonatos acumulam-se nos acidocalcissomos (organelas que armazenam Ca^{2+} e polifosfatos), indicando que essas organelas poderiam ser também alvos desses compostos.

O *metabolismo redox* dos tripanossomatídeos apresenta, entre outras, a peculiaridade de basear-se na produção de tripanotiona, uma tiol-poliamina conjugada presente exclusivamente em *T. cruzi*, em vez de glutatona. Uma enzima-chave no metabolismo de tripanotiona em *T. cruzi* é a tripanotiona

redutase, ausente no hospedeiro mamífero, um potencial alvo para o desenvolvimento de medicamentos.

Várias particularidades identificadas no metabolismo de aminoácidos em *T. cruzi* estão sendo exploradas para o desenvolvimento de novos medicamentos, como as enzimas com atividade arginina quinase e prolina racemase. Enzimas com essas atividades são ausentes no hospedeiro mamífero.

Como os tripanossomatídeos são parasitos auxotróficos para purinas, as vias de salvação de purinas e de biossíntese de nucleotídeos compreendem candidatos naturais a alvos para novos medicamentos. Dentre essas enzimas, a (hipoxantina/guanina)-fosforribosil transferase mostrou ser alvo particularmente interessante. De fato, o alopurinol, que inibe essa enzima, foi proposto para o tratamento de reativações da infecção por *T. cruzi* após transplante cardíaco.

Finalmente, maquinaria de replicação do DNA do parasito também foi explorada como alvo para a inibição seletiva. Inibidores da topoisomerase I, envolvida na replicação do DNA nuclear, e particularmente da topoisomerase II, envolvida na replicação do kDNA, mostraram-se eficazes contra *T.*

cruzi. O próprio DNA do parasito também foi proposto como alvo de intercalantes e ligantes de DNA com atividade tripanocida.

► Vetores da doença de Chagas

Os insetos adultos recebem, em diferentes regiões do Brasil, os nomes de barbeiro, bicho-da-parede, bicudo, chupão, chupança e vários outros. Os hemípteros são geralmente muito semelhantes entre si. Entretanto, algumas características morfológicas simples distinguem os triatomíneos dos hemípteros predadores e fitófagos, que não são vetores de doenças humanas. As diferenças mais evidentes estão na probóscida (Figura 4.8). A probóscida dos *triatomíneos*, adaptada à sucção de sangue, é curta (composta de três segmentos) e reta. Quando em repouso, ela não ultrapassa para trás a inserção do primeiro par de patas do inseto (Figura 4.9). Os *predadores* também

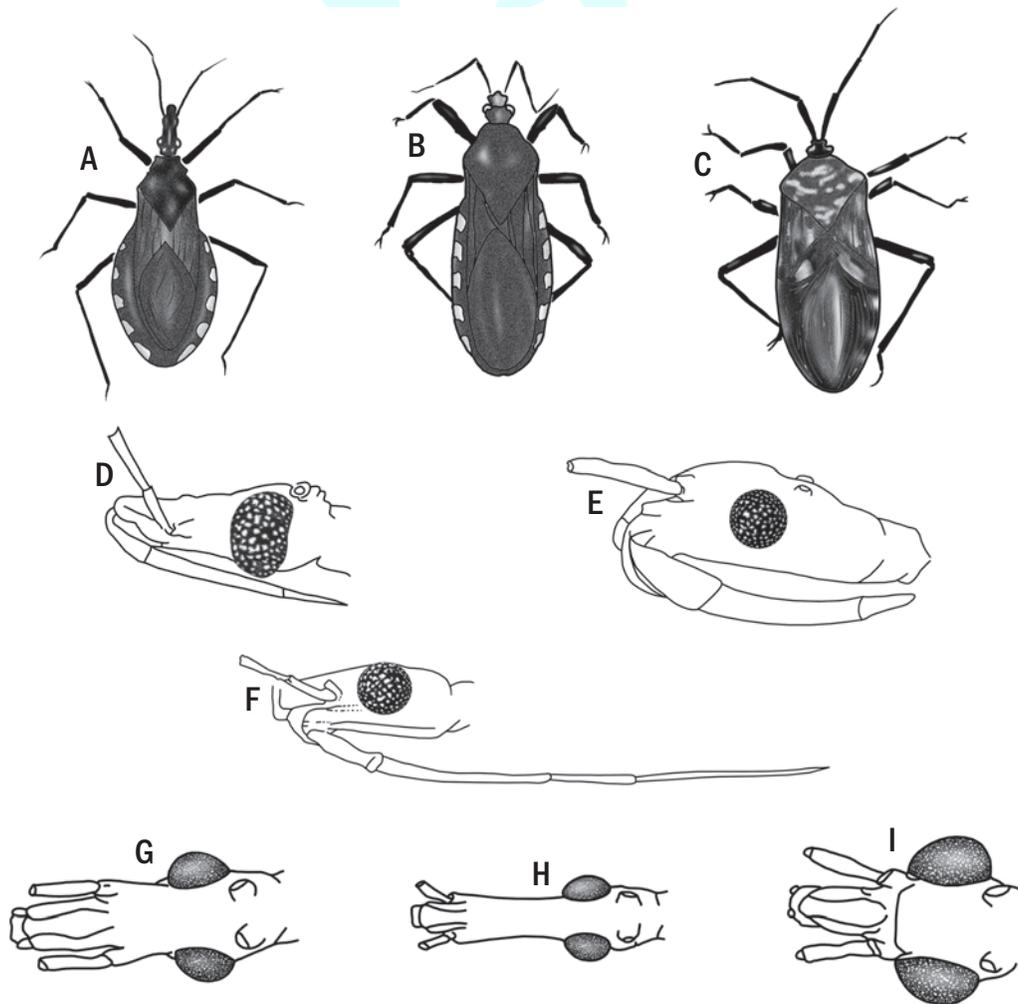


Figura 4.8 Características morfológicas de hemípteros hematófagos, predadores e fitófagos. No painel superior representa-se o corpo de hemípteros com diferentes hábitos alimentares: hematófago (A), predador (B) e fitófago (C). Os predadores têm pernas anteriores mais robustas e um pescoço facilmente identificável, que serve para manipular as presas. Nos fitófagos, a cabeça é pequena e o pescoço não é visível. Nos hematófagos, a cabeça é alongada e o pescoço é evidente. No painel do meio, apresentam-se as características do aparelho bucal ou probóscida desses três grupos de hemípteros. Nos hematófagos (D) e predadores (E), a probóscida é curta, com três segmentos. A probóscida é reta nos hematófagos e curva nos predadores. Nos fitófagos (F), a probóscida é longa (em repouso, ultrapassa o primeiro par de patas), com quatro segmentos, e reta. O painel inferior mostra a diferença no nível de implantação das antenas em hemípteros hematófagos (triatomíneos) pertencentes aos três gêneros de importância médica: *Triatoma* (G); *Rhodnius* (H); e *Panstrongylus* (I). Observe que, em *Rhodnius*, cuja cabeça é alongada, os tubérculos em que se implantam as antenas localizam-se bem distante dos olhos, junto à extremidade conhecida como clipeo; em *Panstrongylus*, cuja cabeça é curta, os tubérculos situam-se junto aos olhos; em *Triatoma*, os tubérculos são distantes dos olhos, mas não tanto como em *Rhodnius*.



Figura 4.9 Probóscida de *Triatoma infestans*, adaptada à sucção de sangue. Observe que a probóscida é composta de três segmentos e reta. Na posição de repouso, sua extremidade distal não ultrapassa para trás a inserção do primeiro par de patas do inseto. (Fotografia cedida por Cláudio Santos Ferreira.)

apresentam probóscida curta, porém curva. Além disso, geralmente têm o primeiro par de patas mais forte e desenvolvido do que os demais. A probóscida dos *fitófagos* é longa, composta de quatro segmentos; quando em repouso, ultrapassa para trás a inserção do primeiro par de patas do inseto. Além disso, os fitófagos geralmente não têm pescoço visível, como os demais hemípteros reduvídeos.

Todos os triatomíneos são potenciais vetores da doença de Chagas. Dentre as espécies descritas, existem aquelas de hábitos domiciliares, domésticos e peridomiciliares, que são as responsáveis por fazer a interligação entre o ciclo silvestre e o ciclo domiciliar na transmissão. Vem ocorrendo domiciliação progressiva de certas espécies de triatomíneos, o que pode mudar o padrão de transmissão da doença.

No Brasil, as espécies vetoras mais importantes são *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus* e *Triatoma brasiliensis*. São vetores secundários *Triatoma rubrofasciata*, *Triatoma pseudomaculata* e *Triatoma sordida*. No norte da América do Sul e em diversos países da América Central, *Rhodnius prolixus* é o principal vetor da doença de Chagas. A diferenciação entre os três gêneros principais pode ser feita com facilidade, comparando-se a posição da inserção da antena em relação aos olhos do inseto. Em *Panstrongylus*, o tubérculo em que a antena é implantada localiza-se junto aos seus olhos, enquanto em *Rhodnius* a antena é inserida na extremidade anterior do clipeo, longe dos olhos. No gênero *Triatoma*, as antenas inserem-se em posição intermediária entre os olhos e o clipeo (Figura 4.8).

Triatoma infestans é o principal vetor de *T. cruzi* em grande parte da América do Sul. É uma espécie bem adaptada ao domicílio humano, encontrada particularmente nas frestas das paredes de casas não rebocadas. Os adultos são capazes de voar, mas não atingem grande distância. Em casas infestadas, geralmente são encontradas grandes quantidades de ovos, ninfas e adultos; como as ninfas e os adultos são suscetíveis à ação de diversos inseticidas, a borrifação dos domicílios com inseticidas de ação residual tem grande impacto sobre a população de vetores. *T. brasiliensis* é um importante vetor primário da doença de Chagas no sertão nordestino, onde é frequentemente o único triatomíneo encontrado no interior dos domicílios humanos. *Panstrongylus megistus* apresenta ampla distribuição geográfica no Brasil, sendo o principal (e

às vezes o único) vetor da doença de Chagas em certas áreas endêmicas, especialmente na Bahia e em Minas Gerais. No entanto, é uma espécie pouco domiciliada no Sudeste e no Sul do país, onde não parece desempenhar um papel importante no ciclo doméstico da doença de Chagas. É possível, portanto, que exista um complexo de espécies com comportamento distinto reunidas sob o nome comum de *P. megistus*.

Desde o final da década de 1960 são relatados casos autóctones de doença de Chagas na Amazônia brasileira. Dez espécies de triatomíneos amazônicos foram encontradas naturalmente infectadas por *T. cruzi*; dessas, *Panstrongylus geniculatus* e algumas espécies do gênero *Rhodnius* são os principais vetores locais (Coura *et al.*, 2002).

► Prevenção e controle da doença de Chagas

A principal via de transmissão da doença de Chagas é a vetorial, mas a infecção pode ser adquirida por vias alternativas, que exigem medidas preventivas específicas. Acredita-se que a transmissão oral tenha maior relevância epidemiológica do que se suspeitava até recentemente. Os principais veículos de transmissão descritos são o caldo de cana de açúcar e a polpa ou suco de açaí, patauí, buriti, bacaba e de outras palmeiras amazônicas, contaminados durante seu preparo com fezes de triatomíneos infectados. Outras fontes mais raras de transmissão oral são a ingestão de carne de caça, crua ou malcozida, de animais contaminados e o aleitamento materno. A transmissão transfusional é extremamente importante em regiões com grande número de doadores de sangue provenientes de áreas endêmicas. A probabilidade de infecção a partir da transfusão de uma bolsa de sangue infectado situa-se em torno de 10 a 20%, dependendo de fatores como a parasitemia do doador e o tipo de hemoderivado transfundido. Finalmente, a doença de Chagas pode também ser adquirida por via transplacentária (congenita), bem como em acidentes de laboratório ou transplante de órgãos. A frequência de transmissão congênita é extremamente variável; cerca de 1 a 18% dos filhos de mães cronicamente infectadas apresentam infecção congênita em diferentes regiões da América Latina.

Os recentes sucessos obtidos no controle da transmissão da doença de Chagas no Brasil devem-se essencialmente a um extenso programa de eliminação de vetores domiciliados e à melhoria da qualidade do sangue e demais hemoderivados usados em transfusões. A eliminação dos vetores é feita com a borrifação regular de domicílios sabidamente infestados por triatomíneos. Pretendem-se a completa eliminação de *T. infestans* e a erradicação de colônias intradomiciliares de *P. megistus*, *T. brasiliensis* e outros triatomíneos que mantêm focos silvestres. Os inseticidas organoclorados (BHC e dieldrina) vêm sendo substituídos por piretroides (cipermetrina, deltametrina, lambdacialotrina e ciflutrina), que apresentam ação inseticida e repelente. Os ciclos de borrifação são feitos a cada 12 meses até a completa erradicação de colônias intradomiciliares de triatomíneos.

A prevenção da transmissão transfusional requer a triagem sorológica dos doadores de sangue na rede de hemocentros e bancos de sangue, diretamente fiscalizados pelo Ministério da Saúde. O sangue de doadores com resultado positivo ou duvidoso deve ser descartado. Uma alternativa de alta eficácia

e baixo custo, a adição de substâncias tripanocidas ao sangue a ser transfundido (como a violeta de genciana), não alcançou popularidade no Brasil. O controle da transmissão oral requer

medidas de educação em saúde pública sobre os alimentos de risco e estratégias para garantir a higiene e a inocuidade dos alimentos que servem de meio para a infecção.

Parasitologia em foco

Entrada e sobrevivência de *Trypanosoma cruzi* na célula hospedeira

Penetrar as células do hospedeiro mamífero é fundamental para o estabelecimento da infecção por *T. cruzi*. Diferentes formas evolutivas do parasito interagem com um grande número de células hospedeiras distintas; portanto, não é surpreendente que o parasito apresente diferentes estratégias de invasão celular.

A interação mais estudada é aquela entre os parasitos e os macrófagos. Em geral, os *tripomastigotas* e *amastigotas* penetram macrófagos e outras células com grande capacidade fagocitária através de *fagocitose clássica*, que envolve a formação de projeções da membrana celular para englobar o parasito. Este processo é geralmente descrito como um mecanismo de *penetração passiva*. Neste processo, parasitos intracelulares são inicialmente encontrados em vacúolos com características de *fagossomos*. A invasão de macrófagos ativadas resulta na destruição da maioria dos parasitos, como consequência da produção de radicais superóxido e água oxigenada; não ocorre estresse oxidativo significativo, entretanto, quando os parasitos penetram macrófagos residentes.

Quando os tripomastigotas penetram em *células não fagocitárias*, como células musculares ou nervosas, não se formam projeções citoplasmáticas na célula hospedeira que caracterizam a fagocitose. A adesão do parasito a receptores de membrana da célula hospedeira desencadeia uma troca de sinais moleculares entre a célula hospedeira e o parasito, que resulta no recrutamento de lisossomos para a região da superfície onde se iniciará a invasão. Este é definido como um *processo ativo* de invasão celular. Os lisossomos recrutados podem fundir-se à membrana da célula hospedeira, logo no início da formação do vacúolo parasitóforo que abrigará o parasito, ou fundir-se ao fagossomo já formado, quando o parasito é fagocitado (Burleigh & Andrews, 1998).

As principais moléculas de superfície dos tripomastigotas envolvidas no processo de adesão e penetração nas células hospedeiras pertencem à família da

transialidase, também conhecida como família da gp85. A transialidase catalisa a transferência de resíduos de ácido siálico para a superfície do parasito (Figura 4.10) (Schenckman & Eichinger, 1993). As moléculas receptoras de ácido siálico, majoritariamente mucinas, parecem desempenhar um papel fundamental durante a invasão celular. Os glicoconjugados da superfície celular da célula hospedeira que tiveram o ácido siálico removido apresentam resíduos de galactose em posição terminal, que funcionam como receptores de proteínas do parasito com atividade de lectina.

Outros membros dessa família de proteínas não apresentam atividade enzimática, mas servem como ligantes de receptores presentes na superfície das células hospedeiras. Nesse segundo grupo de moléculas encontram-se, entre outras, as glicoproteínas Tc85 e gp82, diretamente envolvidas na adesão do parasito a diferentes glicoconjugados de membrana de células de mamíferos, incluindo estruturas ricas em ácido siálico, galactose, proteoglicanas e laminina. Uma interação bem definida é aquela que envolve Tc85 e a citoqueratina 18 da célula do hospedeiro (Figura 4.10). Acredita-se que a adesão de amastigotas às células hospedeiras envolve receptores e ligantes distintos, ainda não completamente caracterizados (Mortara, 1991). Os poucos dados disponíveis sugerem que os *amastigotas* de *T. cruzi* sejam somente capazes de entrar passivamente em células fagocitárias.

Os tripomastigotas de *T. cruzi* são capazes de sobreviver por um período de várias horas no interior de um vacúolo resultante da fusão de lisossomos com a membrana celular. As membranas lisossômicas contribuem com bombas de prótons ATP-dependentes que acidificam o vacúolo. O baixo pH é ideal para a ação coordenada de enzimas de *T. cruzi*, como a transialidase, que instabiliza as membranas, e a Tc-TOX, que apresenta atividade de tipo hemolisina. Essas enzimas contribuem com a lise desses vacúolos, permitindo a saída dos tripomastigotas, depois de uma ou duas horas de permanência no vacúolo parasitóforo. No citosol das células hospedeiras, diferenciam-se em amastigotas e começam a multiplicar-se em cerca de 24 h. Posteriormente, convertem-se em tripomastigotas, que

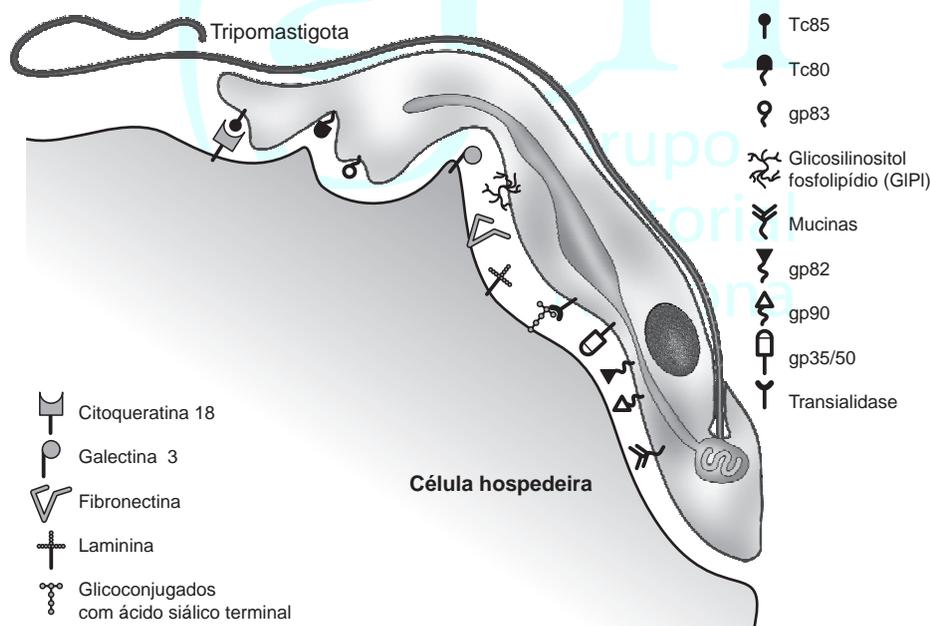


Figura 4.10 Principais moléculas do parasito e do hospedeiro vertebrado envolvidas nas fases iniciais de adesão de *Trypanosoma cruzi* à célula hospedeira. (Adaptada de: de Souza, W., de Carvalho, T. M. & Barrias, E. S. 2010. Review on *Trypanosoma cruzi*: host cell interaction. *International Journal of Cell Biology* pii: 295394.)

são liberados para o meio extracelular ao romper-se a célula. Em infecções crônicas, encontram-se geralmente poucos tripomastigotas na corrente sanguínea, sugerindo que esse processo de multiplicação intracelular possa ser desacelerado. Não existem, no entanto, formas dormentes encistadas nos tecidos, como os bra-zidozitos de *Toxoplasma gondii*.

Bibliografia

Burleigh, B.A. & Andrews, N.W. 1998. Signaling and host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. *Current Opinion in Microbiology* 4: 461-5.
Mortara, R. 1991. *Trypanosoma cruzi*: amastigotes and trypomastigotes interact with different structures on the surface of HeLa cells. *Experimental Parasitology* 73: 1-14.

Schenckman, S. & Eichinger, D. 1993. *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase and cell invasion. *Parasitology Today* 9: 218-22.

Leitura sugerida

Alves, M.J. & Colli, W. 2008. Role of the gp85/trans-sialidase superfamily of glycoproteins in the interaction of *Trypanosoma cruzi* with host structures. *Subcellular Biochemistry* 47: 58-69.
de Souza, W., de Carvalho, T.M. & Barrias, E.S. 2010. Review on *Trypanosoma cruzi*: host cell interaction. *International Journal of Cell Biology* pii: 295394.
Mott, G. A. & Burleigh, B. A. 2008. The role of host cell lysosomes in *Trypanosoma cruzi* invasion. *Subcellular Biochemistry* 47: 165-73.

► Bibliografia

Adl, S.M., Simpson, A.G., Farmer, M.A. *et al.* 2005. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 52: 399-451.
Andrade, A.L.S.S., Zicker, F., Oliveira, R.M. *et al.* 1996. Randomised trial of efficacy of benzimidazole in the treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *Lancet* 348: 1407-13.
Aufderheide, A.C., Salo, W., Madden, M. *et al.* 2004. A 9,000-year record of Chagas' disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of EUA* 101: 2034-9.
Boscardin, S.B., Torrecilhas, A.C., Manarin, R. *et al.* 2010. Chagas' disease: an update on immune mechanisms and therapeutic strategies. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 14 (6B): 1373-84.
Brenner, Z. 1973. Biology of *Trypanosoma cruzi*. *Annual Review of Microbiology* 27:347-82.
Burleigh, B.A. & Andrews, N.W. 1998. Signaling and host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. *Current Opinion in Microbiology* 4: 461-5.
Alves, M.J. & Colli, W. 2007. *Trypanosoma cruzi*: adhesion to the host cell and intracellular survival. *IUBMB Life* 59: 274-9.
Alves, M.J. & Colli, W. 2008. Role of the gp85/trans-sialidase superfamily of glycoproteins in the interaction of *Trypanosoma cruzi* with host structures. *Subcellular Biochemistry* 47: 58-69.
Coura, J.R. 2009. Present situation and new strategies for Chagas disease chemotherapy – a proposal. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 104: 549-54.
Coura, J.R., Junqueira, A.C., Fernandes, O., Valente, S.A. & Miles, M.A. 2002. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. *Trends in Parasitology* 18: 171-6.
de Souza, W., de Carvalho, T.M. & Barrias, E.S. 2010. Review on *Trypanosoma cruzi*: host cell interaction. *International Journal of Cell Biology* pii: 295394.
Duschak, V.G. & Couto, A.S. 2007. An insight on targets and patented drugs for chemotherapy of Chagas disease. *Recent Patents in Anti-infectious Drug Discovery* 2: 19-51.
Kollien, A.H. & Schaub, G.A. 2000. The development of *Trypanosoma cruzi* in Triatominae. *Parasitology Today* 16: 381-7.

Lenzi, H.L., Oliveira, D.N., Lima, M.T. & Gatass, C.R. 1996. *Trypanosoma cruzi*: paninfectivity of CL strain during murine acute infection. *Experimental Parasitology* 84: 16 a 27.
Levine, N.D., Corliss, J.O., Cox, F.E.G. *et al.* 1980. A newly revised classification of the protozoa. *Journal of Protozoology* 27: 37-58.
Mortara, R. 1991. *Trypanosoma cruzi*: amastigotes and trypomastigotes interact with different structures on the surface of HeLa cells. *Experimental Parasitology* 73: 1-14.
Pinazo, M.J., Cañas, E., Elizalde, J.I. 2010. *et al.* Diagnosis, management and treatment of chronic Chagas' gastrointestinal disease in areas where *Trypanosoma cruzi* infection is not endemic. *Gastroenterology and Hepatology* 33: 191-200.
Schenckman, S. & Eichinger, D. 1993. *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase and cell invasion. *Parasitology Today* 9: 218-22.
Silber, A.M., Colli, W., Ulrich, H., Alves, M.J. & Pereira, C.A. 2005. Amino acid metabolic routes in *Trypanosoma cruzi*: possible therapeutic targets against Chagas' disease. *Current Drug Targets for Infectious Disorders* 5: 53-64.
Souto, R.P., Fernandes, O., Macedo, A.M., Campbell, D.A. & Zingales, B. 1996. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 83: 141-52.
Tyler, K.M. & Engman, D.M. 2001. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. *International Journal for Parasitology* 31: 472-81.
Zingales, B.S., Andrade, S.G., Briones, M.R. *et al.* 2009. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 104: 1051-4.

► Leitura sugerida

Coura, J.R. & Borges-Pereira, J. 2010. Chagas disease: 100 years after its discovery. A systemic review. *Acta Tropica* 115: 5-13.
Rassi Jr., A., Rassi, A. & Martin Neto, J. A. 2010. Chagas disease. *Lancet* 375: 1388-1402.

