

Doença de Chagas



✓ Enfoque desta aula:

- Agente etiológico
- Introdução ao subgrupo Kinetoplastida e ao gênero Trypanosoma
- Epidemiologia
- Transmissão - Vetor
- Ciclo de vida
- Diferentes formas do parasita
- Patogenia e Mecanismos de escape
- Diagnóstico
- Tratamento
- Controle

O que é a Doença de Chagas?

✓ A Doença de Chagas (ou tripanossomíase americana) é uma doença infecciosa causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi*.

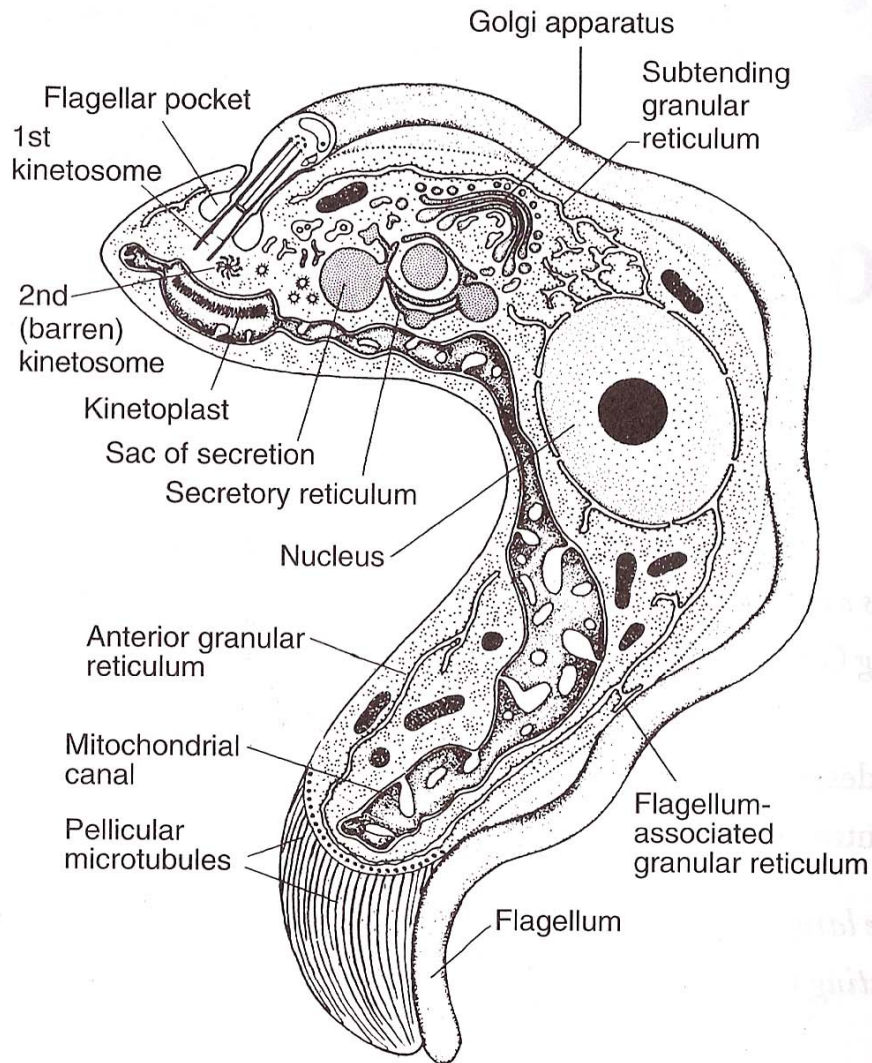
✓ Taxonomia

- Supergrupo - Excavata
- Grupo - Euglenozoa
- Subgrupo - *Kinetoplastea*
- Agrupamento - Metakinetoplastina
- Clado - Trypanosomatida
- Gênero - *Trypanosoma*



✓ Transmitida por insetos *triatomíneos*.

Ordem Kinetoplastida



➤ Todos os membros deste grupo possuem uma mitocôndria grande e única contendo um **cinetoplasto** localizado na base do flagelo.

➤ O DNA do cinetoplasto (kDNA) é organizado em uma rede de círculos ligados entre si (30% do DNA celular):

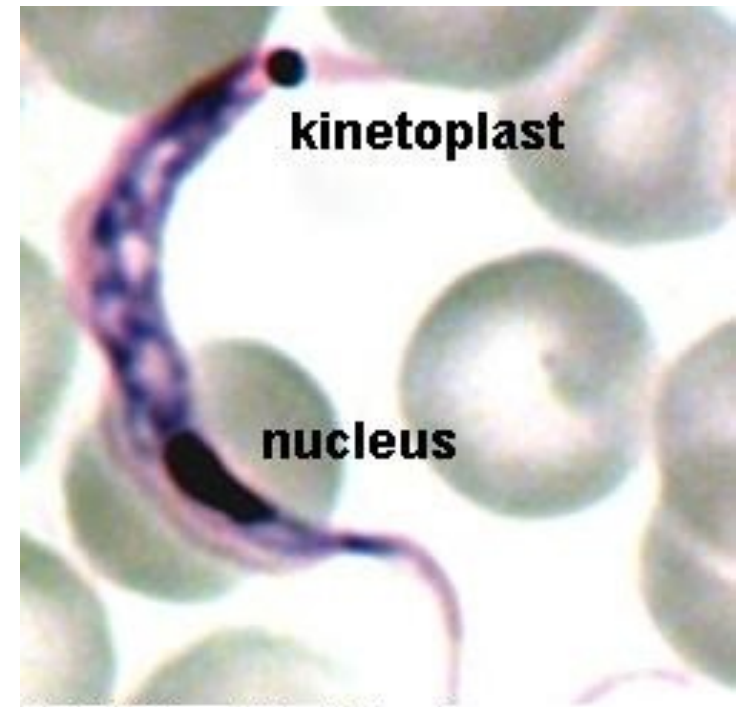
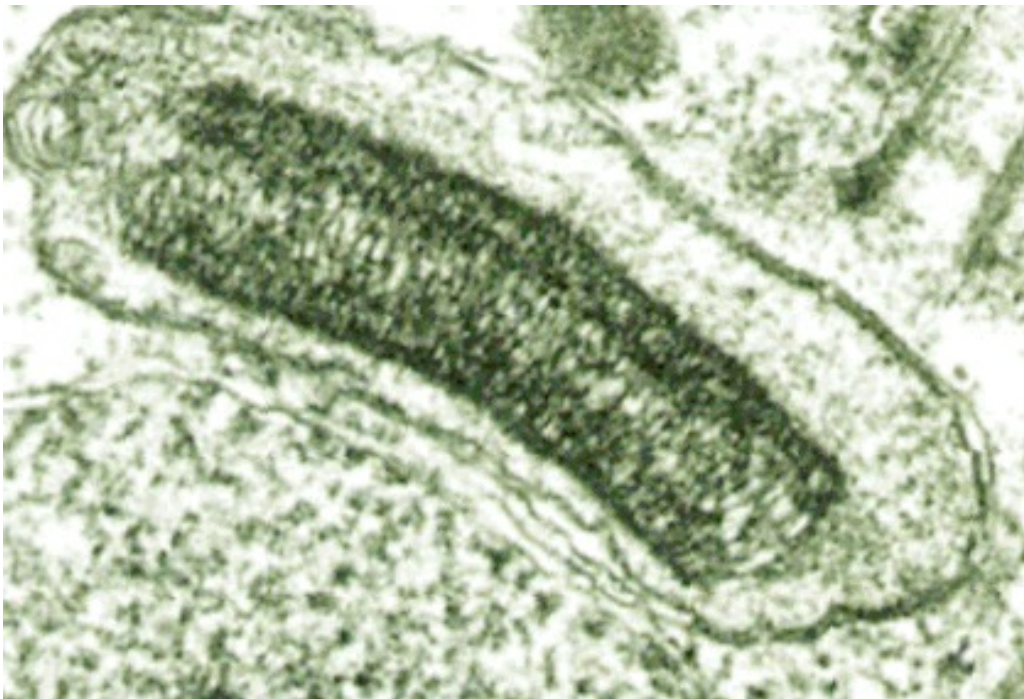
- minicírculos: 20.000 (1.500pb)
- maxicírculos: 50 (20.000pb)

➤ Possuem glicossomos: onde ocorrem as reações de glicólise.

➤ Possuem pré-RNA policistrônico e uma sequência líder (spliced leader) que é adicionada na frente de cada RNA maduro (monocistrônico).

Cinetoplasto.

- Compartimento que contém DNA e está localizado dentro da mitocôndria.



Mark F. Wiser, Tulane University
www.tulane.edu/~wiser/protozoology/notes/kinet.html

Gênero *Trypanosoma*

- Centenas de espécies em todo o mundo. Todos são parasitos.
- Grande variabilidade de hospedeiros vertebrados (mamíferos, aves, répteis, peixes e anfíbios).
- Grande variabilidade de hospedeiros invertebrados (moscas, mosquitos, pulgas, carrapatos).
- Espécie-especificidade ou não.

Espécies de importância médica

Humana

T. cruzi
T. brucei gambiense
T. brucei rhodesiense
T. rangeli

Veterinária

T. brucei brucei
T. evansi
T. vivax
T. congolense

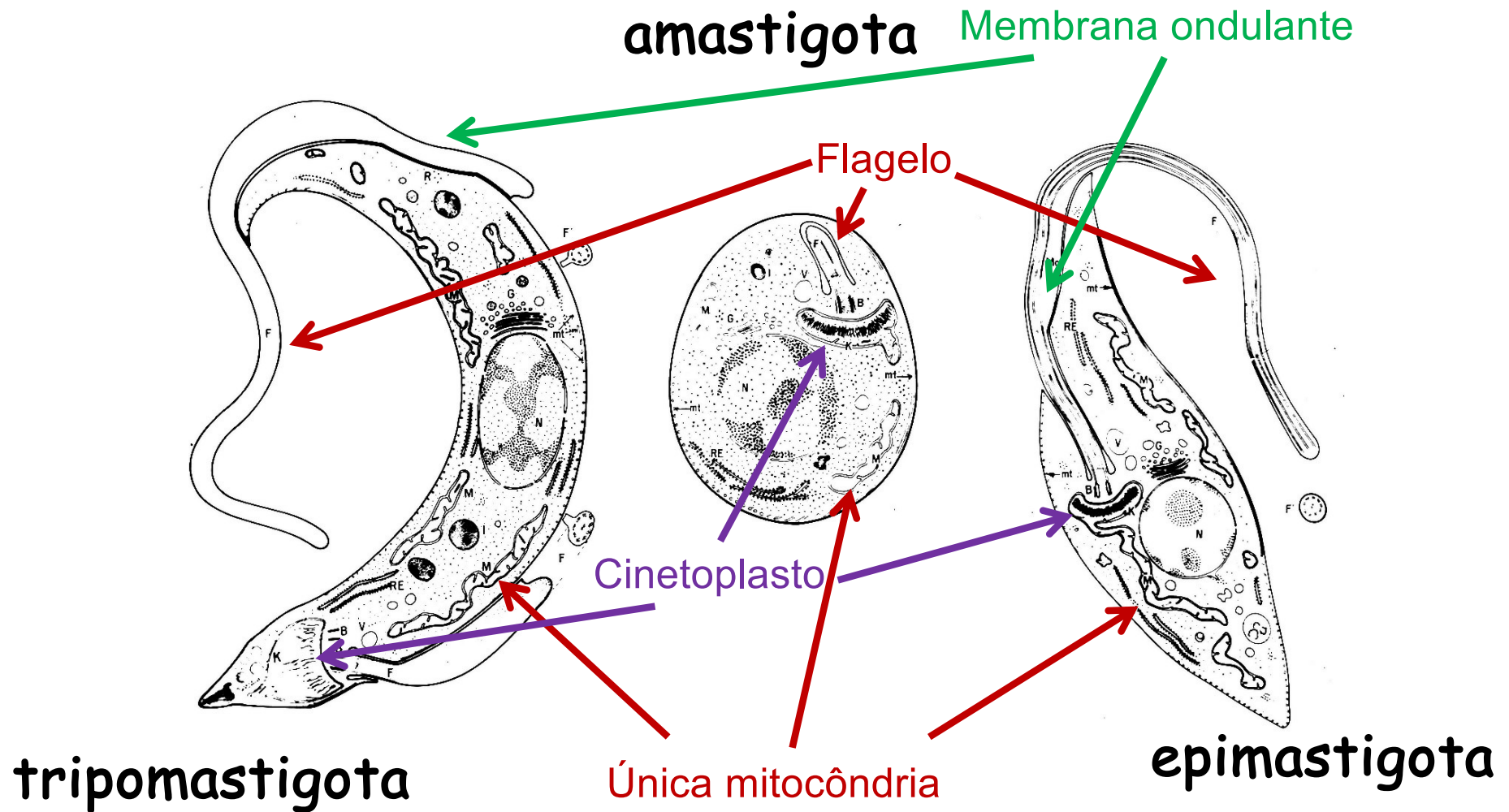
Classificação dos tripanosomas de acordo com sua transmissão.

- Dois grupos:
 - ✓ Estercorários: os parasitas desenvolvem-se na porção posterior do inseto vetor e são transmitidos nas fezes
 - Ex.: *T. cruzi*

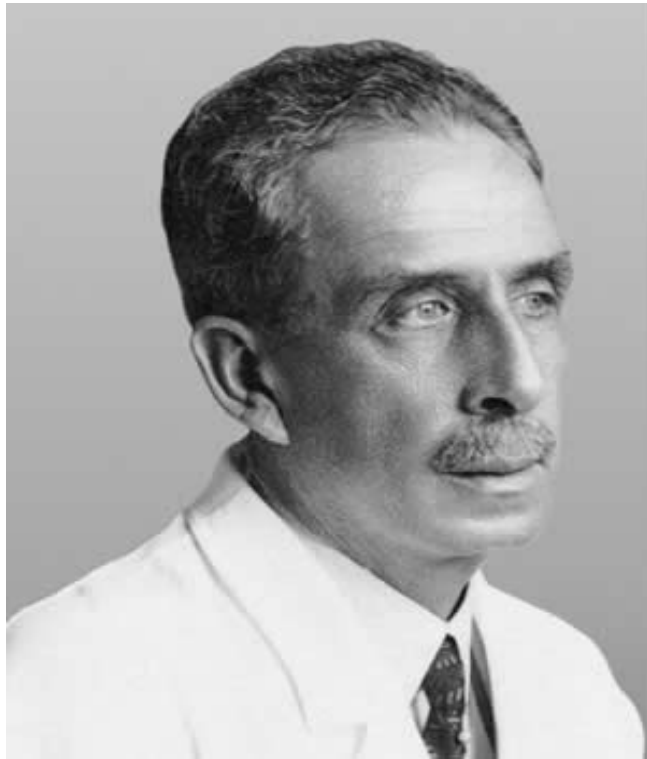
 - ✓ Salivários: os parasitas desenvolvem-se na porção anterior do inseto vetor e são transmitidos na saliva
 - Ex.: *T. brucei*



Características morfológicas principais do *Trypanosoma cruzi*.



História da Doença de Chagas



Carlos Justiniano Ribeiro Chagas

Lassance (MG) em 1909



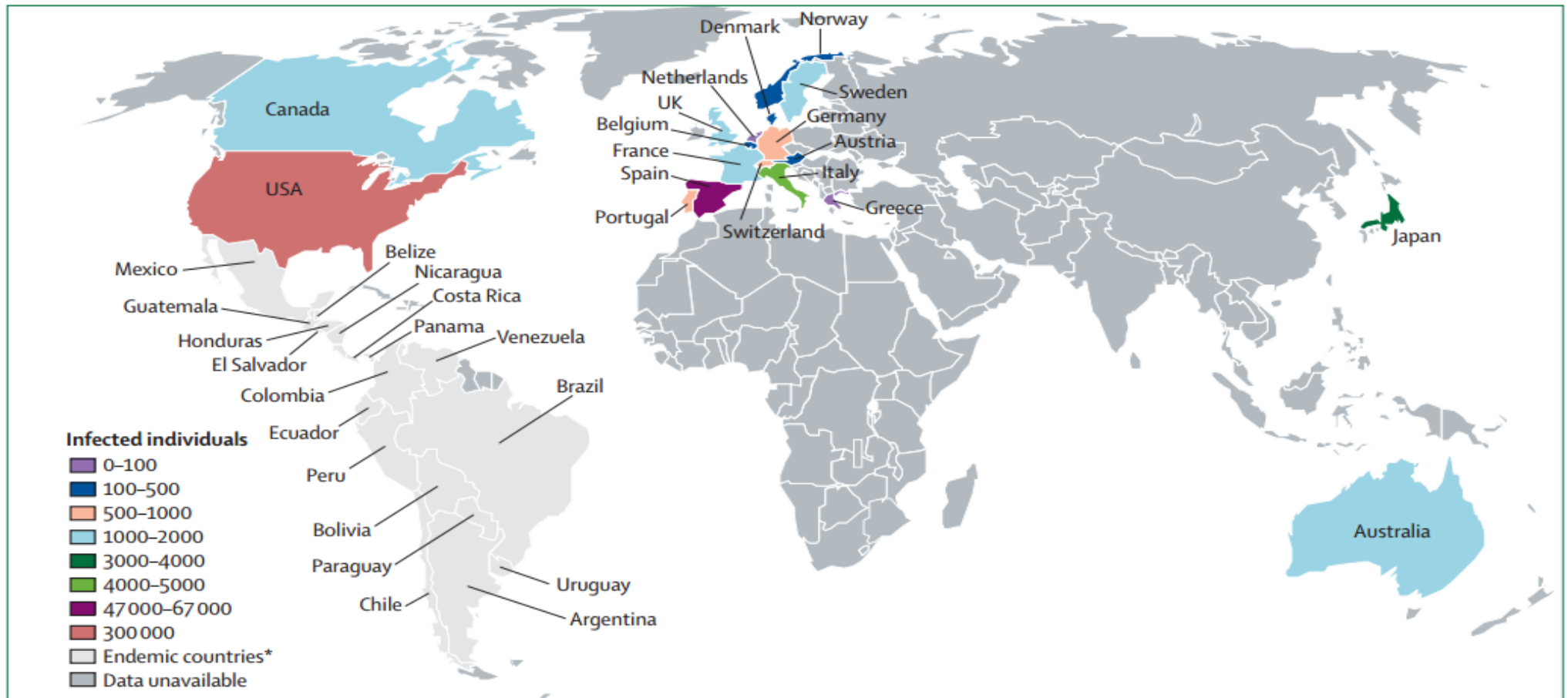
Distribuição da Doença de Chagas.



Epidemiologia

- ✓ Endêmica em 21 países da América Latina;
- ✓ 8-10 milhões de pessoas cronicamente infectadas, sendo cerca de 5 milhões só no Brasil;
- ✓ 70 milhões de pessoas residem nas áreas de risco;
- ✓ 100-200 mil novos casos por ano;
- ✓ Risco de transmissão em áreas não endêmicas.

Estimativa do número de imigrantes infectados pelo *Trypanosoma cruzi* em países não endêmicos



Vetor

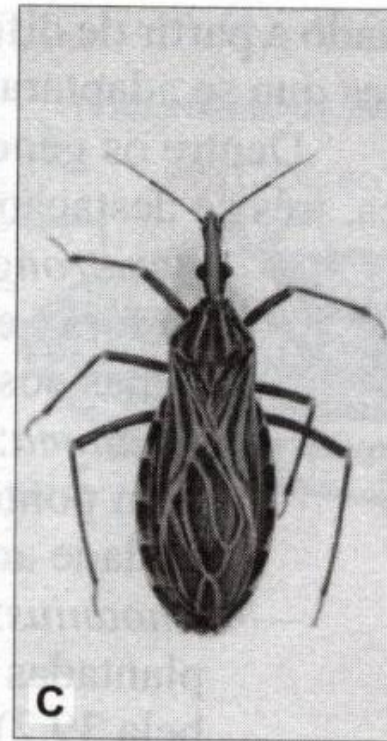
- ✓ A Doença de Chagas é transmitida por insetos hemípteros hematófagos da família Reduviidae e subfamília Triatominae;
- ✓ Estes insetos são popularmente conhecidos como barbeiros, chupões, procoetós (sertão da Paraíba), vum-vum (Bahia), chupança (Mato Grosso), vinchucas (países andinos), chinha voladora (México), kissing bugs (Estados Unidos);
- ✓ Gêneros: *Panstrongylus*, *Triatoma* e *Rhodnius*.



Panstrongylus



Triatoma



Rhodnius

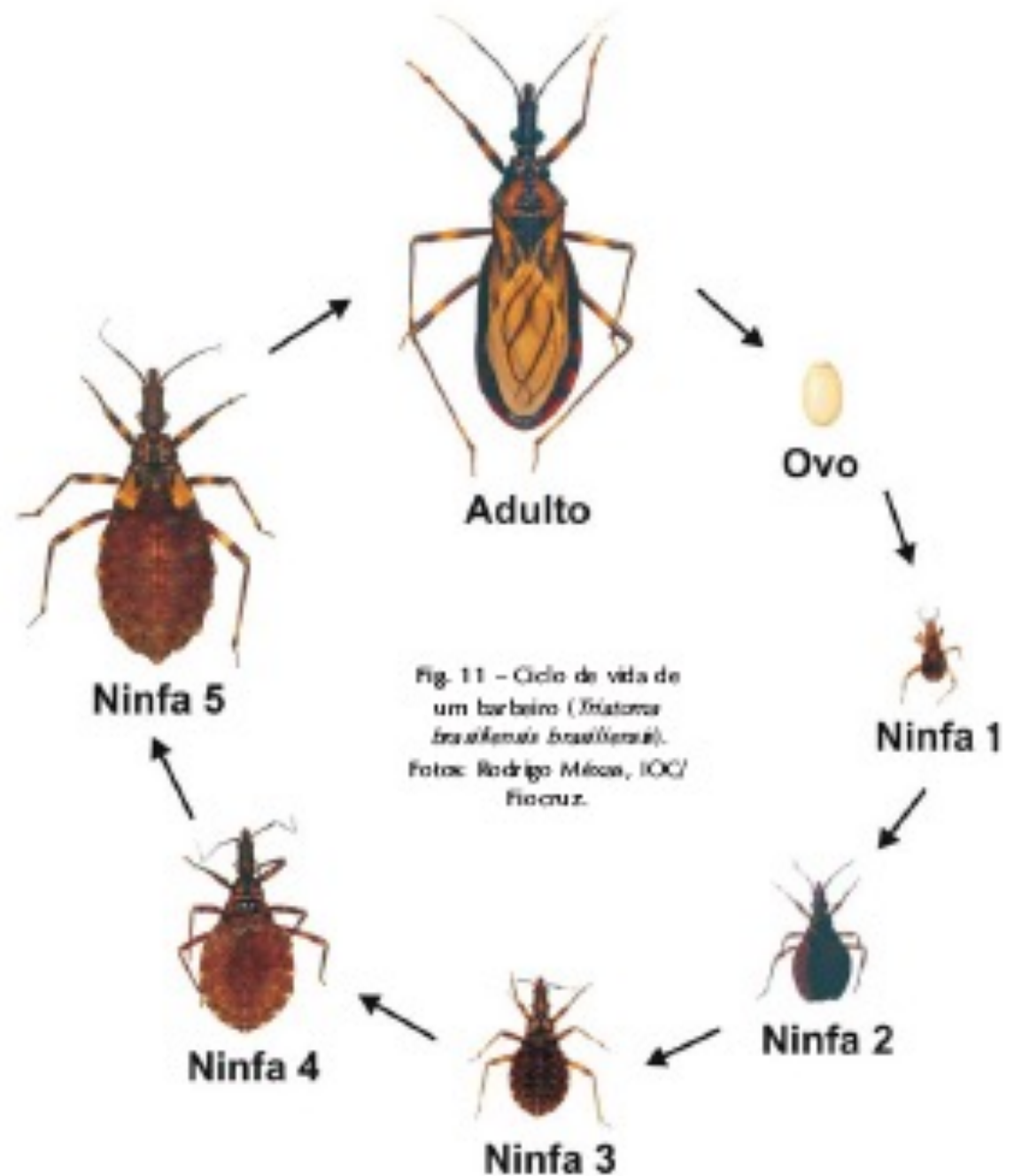
Vetor

- ✓ 141 espécies conhecidas (da subfamília Triatominae);
- ✓ 63 identificadas no Brasil (30 capturadas em ambiente domiciliar);
- ✓ No Brasil, as espécies mais importantes são:

1. *Triatoma infestans*
2. *Triatoma brasiliensis*
3. *Panstrongilus megistus*
4. *Triatoma pseudomaculata*
5. *Triatoma sordida*
6. *Triatoma rubrofasciata*

Vetor

Tanto ninfas como adultos de ambos os sexos são hematófagos.

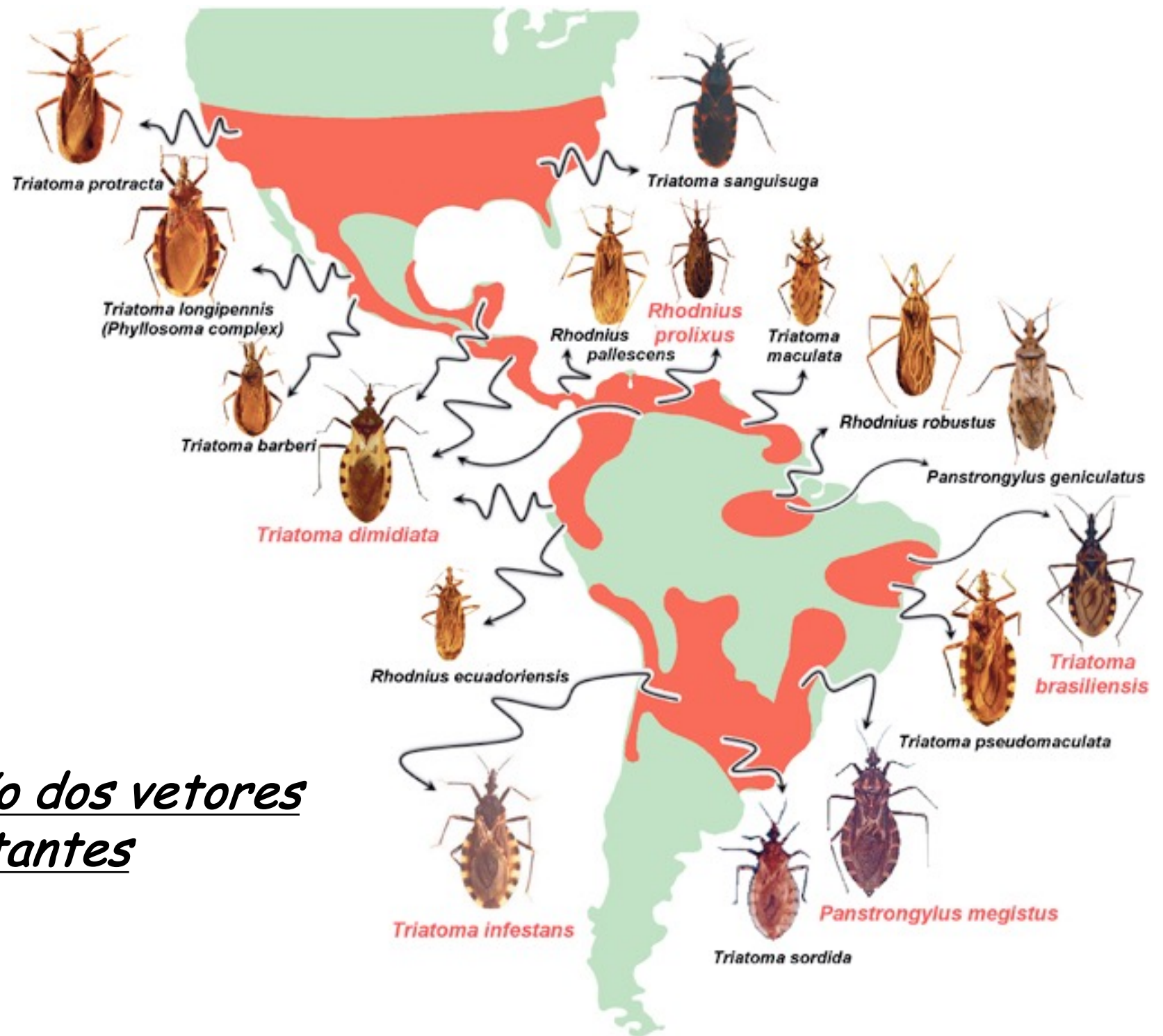


Fotos: Rodrigo Méxas, IOC/Fiocruz.

Vetor

- ✓ Hábitos noturnos;
- ✓ Durante o dia, são encontrados nas fendas das paredes de casas não rebocadas, telhados de palha;
- ✓ Vivem no domicílio e região peridomiciliar;
- ✓ Longevidade do adulto: 9 a 20 meses.

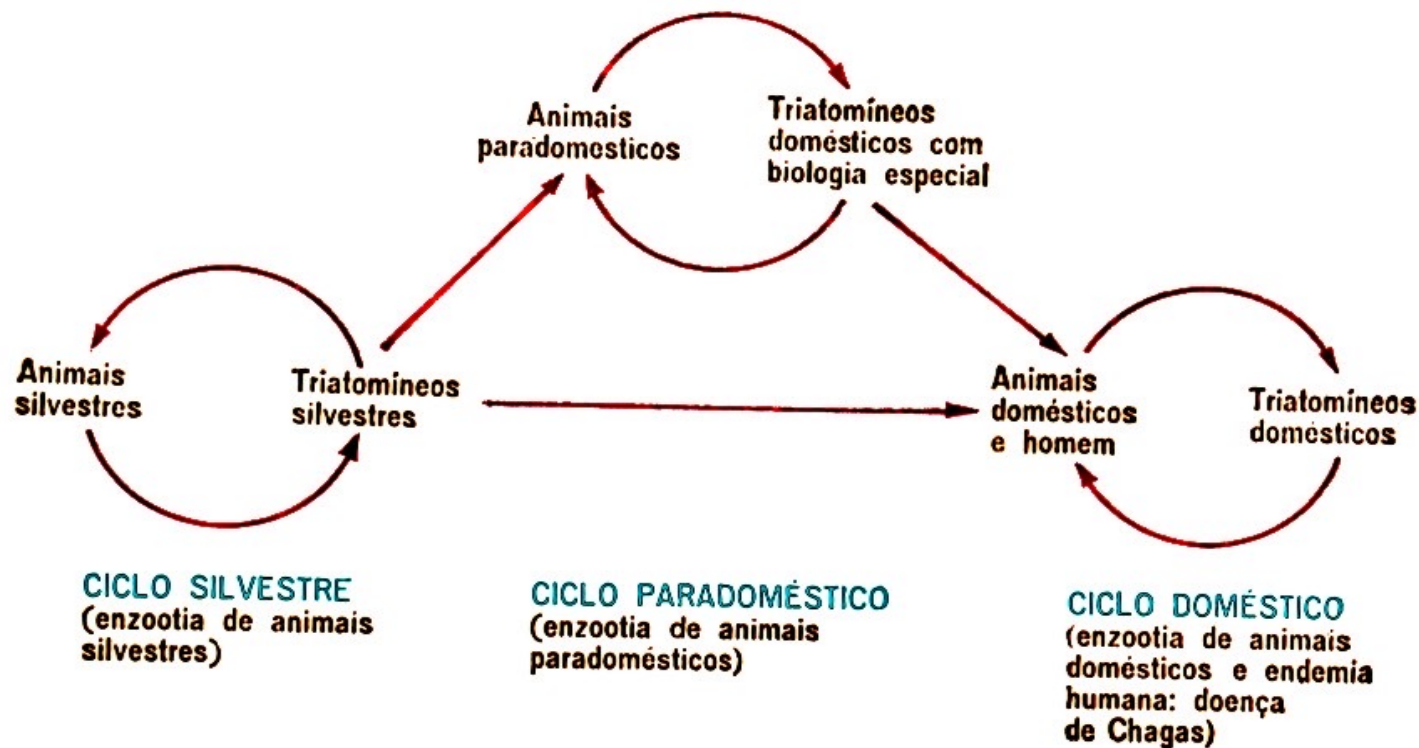




Distribuição dos vetores mais importantes

Ciclos de transmissão

1. Ciclo silvestre (zoonose) - reservatórios silvestres: só mamíferos (gambá, tatu, roedores, tamanduá, preguiça, morcegos, macacos, etc);
2. Ciclo para-doméstico (antropozoonose) - animais domésticos (cão, gato, porcos) - homem;
3. Ciclo doméstico - homem - triatomíneo doméstico- homem.



Linhagens ou cepas de *T. cruzi*.

- ✓ Mais de 60 linhagens ou cepas já foram descritas;
- ✓ Dividem-se em 6 grupos, de acordo com a tabela abaixo:

TABLE I

2009 nomenclature for *Trypanosoma cruzi* divisions

DTU designation	Abbreviation	Equivalence to former <i>T. cruzi</i> grouping schemes
<i>T. cruzi</i> I	TcI	<i>T. cruzi</i> Ia, ^b and DTU Ic
<i>T. cruzi</i> II	TcII	<i>T. cruzi</i> II ^a and DTU IIb ^c
<i>T. cruzi</i> III	TcIII	Z3/Z1 ASAT ^d , Z3-A ^e , DTU IIc ^c and <i>T. cruzi</i> III ^f
<i>T. cruzi</i> IV	TcIV	Z3 ^d , Z3-B ^e and DTU IIa ^c
<i>T. cruzi</i> V	TcV	Bolivian Z2 ^d , rDNA 1/2 ^g , clonet 39 ^h and DTU IId ^c
<i>T. cruzi</i> VI	TcVI	Paraguayan Z2 ⁱ , Zymodeme B ^j and DTU IIe ^c

a: Anonymous 1999; *b*: Falla et al. 2009; *c*: Brisse et al. 2000; *d*: Miles et al. 1981; DTU: discrete typing units; *e*: Mendonça et al. 2002; *f*: Freitas et al. 2006; *g*: Souto et al. 1996; *h*: Tibayrenc and Ayala 1991; *i*: Chapman et al. 1984 ; *j*: Carneiro et al. 1990.

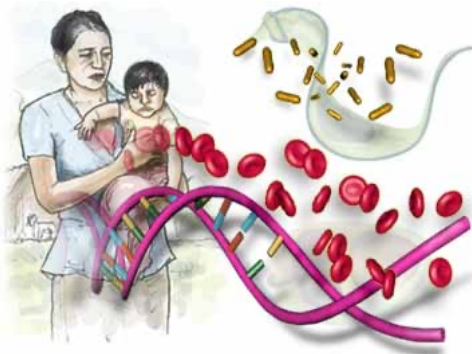
Transmissão

- ✓ Aproximadamente 80% da transmissão é vetorial (há algumas décadas);
- ✓ Durante a picada o inseto alimenta-se do sangue do hospedeiro e defeca próximo ao local da picada;
- ✓ nas fezes do vetor estão presentes as formas infectantes (tripomastigotas metacíclicas).



Outras formas de transmissão

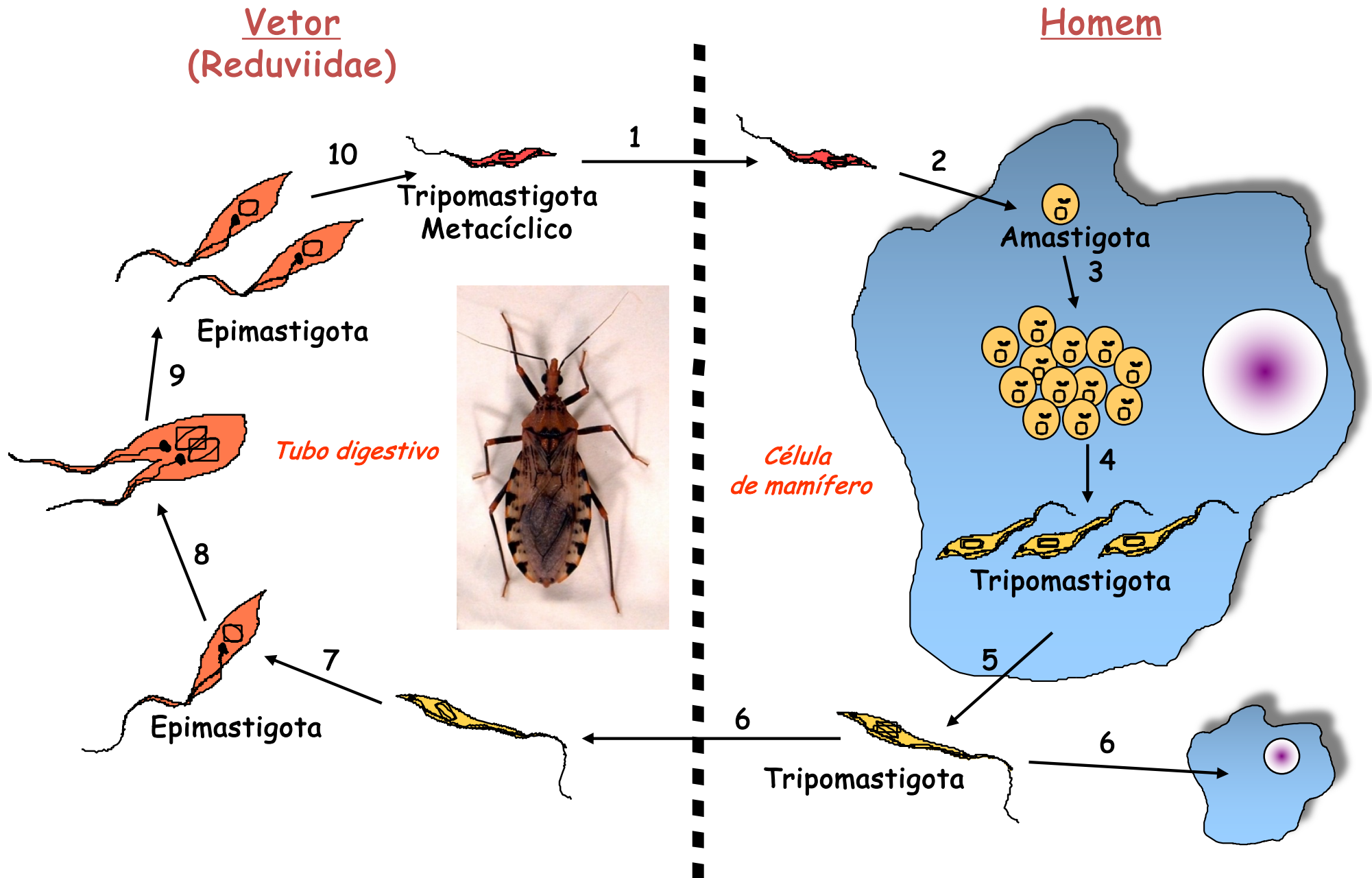
- ✓ Transfusão sanguínea (~10-20%)
(importante em áreas não endêmicas)



- ✓ Congênita (variável: 1-18%)

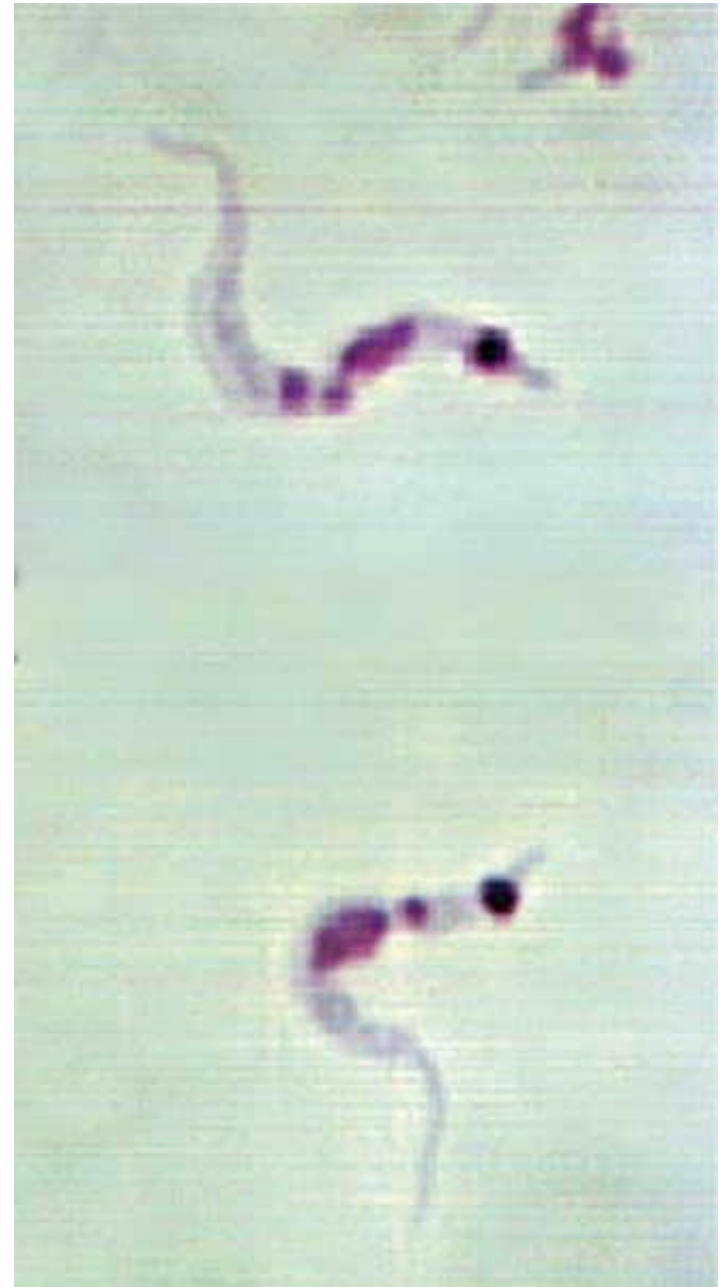
- ✓ Acidentes de laboratório (fezes de triatomíneos, culturas de *T. cruzi*, manejo de animais em experimentação)
- ✓ Oral (triatomíneos infectados macerados junto com alimentos, p. ex. açaí, caldo de cana): tem adquirido importância epidemiológica devido aos surtos ocorridos nos últimos anos
- ✓ Transplante de órgãos

Ciclo evolutivo



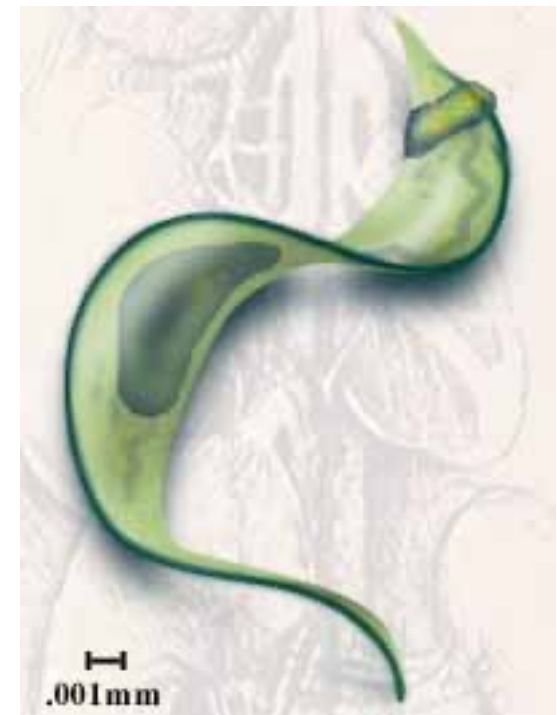
O tripomastigota metacíclico

- ✓ É a forma infectiva encontrada no intestino posterior do inseto vetor;
- ✓ Mede cerca de 17 μm de comprimento;
- ✓ É fina e com cinetoplasto grande;
- ✓ Membrana ondulante estreita;
- ✓ Curto flagelo livre;
- ✓ Tem capacidade invasiva para atravessar mucosas e a conjuntiva, ou penetrar pelas soluções de continuidade da pele.

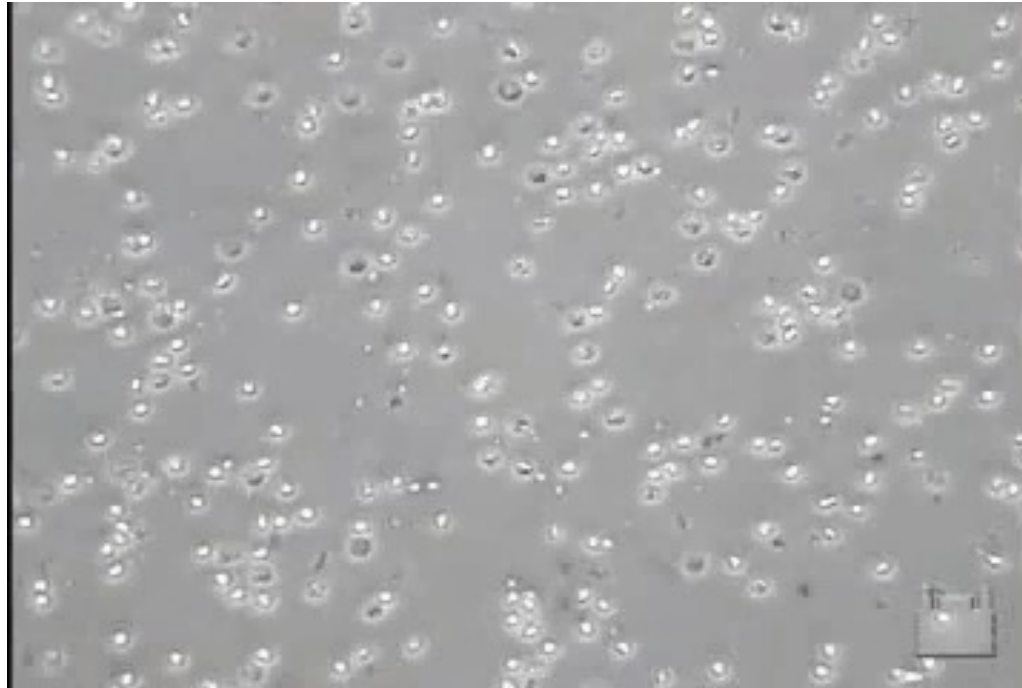


O tripomastigota sanguíneo

- ✓ É capaz de infectar diferentes tipos celulares;
- ✓ Mede cerca de 15 μm de comprimento;
- ✓ Apresenta cinetoplasto grande e redondo, bastante saliente;
- ✓ O flagelo representa cerca de 1/3 do comprimento total.



Invasão da célula pelo tripomastigota



- ✓ A formas tripomastigotas são capazes de invadir diferentes tipos celulares, especialmente:
 - ✓ células do sistema fagocítico mononuclear
 - ✓ fibras musculares estriadas (tanto cardíacas como esqueléticas)
 - ✓ fibras musculares lisas
 - ✓ células nervosas
 - ✓ células epiteliais e fibroblatos

Interação *T. cruzi*-célula hospedeira

Fagócito
macrófago

penetração passiva

fagocitose clássica

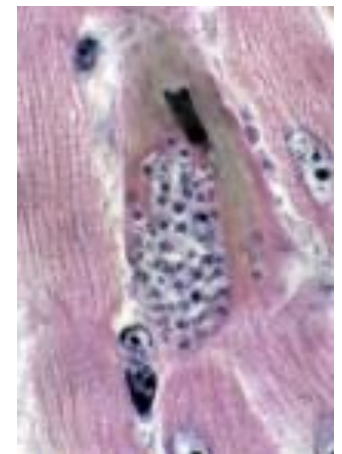
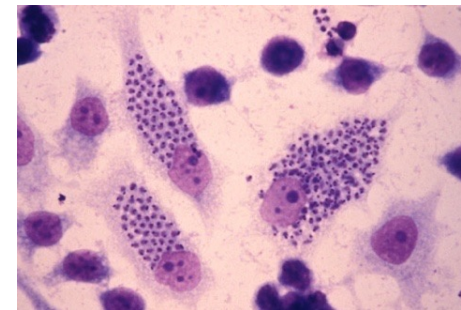
Células não fagocíticas
epiteliais, musculares, nervosas

penetração ativa

fagocitose induzida

O amastigota

- ✓ É a forma encontrada dentro da célula parasitada;
- ✓ É ovoide e mede $\sim 3-5 \mu\text{m}$ no maior diâmetro;
- ✓ Não possui flagelo ou membrana ondulante;
- ✓ Núcleo ovoide e compacto e cinetoplasto com aspecto de disco convexo-côncavo próximo ao núcleo;
- ✓ Multiplica-se por divisão binária simples (12 horas);
- ✓ O ciclo intracelular dura cerca de 5-6 dias e produz cerca de 9 gerações de parasitas.



O epimastigota

- ✓ Desenvolve-se na porção posterior do intestino médio do inseto;
- ✓ Dimensões variáveis ($\sim 20 \mu\text{m}$);
- ✓ Citoplasma abundante;
- ✓ Cinetoplasto situado perto do núcleo;
- ✓ Reproduz-se por divisão binária longitudinal;
- ✓ Muitas vezes os epimastigotas agrupam-se formando rosáceas, com as extremidades flageladas voltadas para o centro.



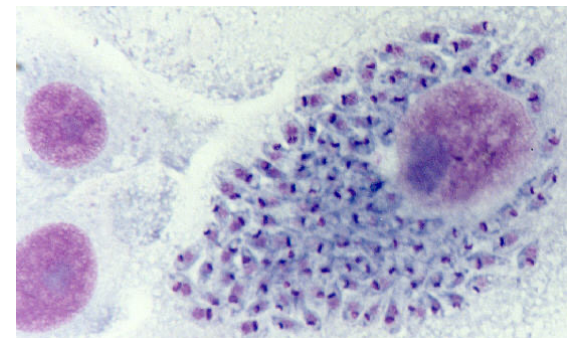
Forma	Hospedeiro	Multiplicação	Localização
Epimastigotas	Inseto	Divisão binária	Trato digestório anterior e médio
Tripomastigotas Metacíclicos	Inseto	Não se multiplica	Trato digestório posterior
Amastigotas	Mamífero	Divisão binária	Interior de células nucleadas
Tripomastigotas Sanguíneos	Mamífero	Não se multiplica	Sangue



Epimastigota



Tripomastigota



Amastigota

Período de incubação.

- ✓ Depende do inóculo, da via de penetração, da cepa do parasita e das condições do paciente;
- ✓ Transmissão vetorial: 5-15 dias;
- ✓ Transmissão oral: 3-22 dias;
- ✓ Transfusão sanguínea: 30-40 dias podendo estender-se por mais de 60 dias.
- ✓ Transmissão vertical: pode ocorrer em qualquer período da gestação ou durante o parto.

Patogenia

Fase Aguda

duração 3-4 meses

Sintomática ou Assintomática

✓ Manifestações locais:

- Sinal de Romaña (edema na região da pálpebra)
- Chagoma de inoculação (resposta inflamatória no local da entrada do parasito)



✓ Manifestações gerais: Parasitemia patente



✓ Outros sintomas

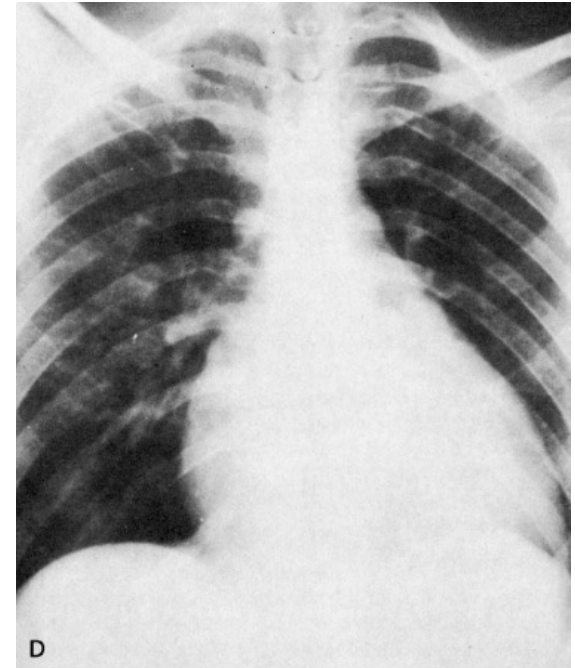
- Febre, mal estar, cefaléia e anorexia;
- Linfadenomegalia e hepatoesplenomegalia sutis;
- Miocardite aguda com alterações eletrocardiográficas (raramente);
- Meningoencefalite (raramente).

Patogenia

Fase Crônica

Inicia-se após a queda da parasitemia

1. Formas indeterminadas;
2. Cardiopatia chagásica crônica;
3. Formas digestivas (megas).



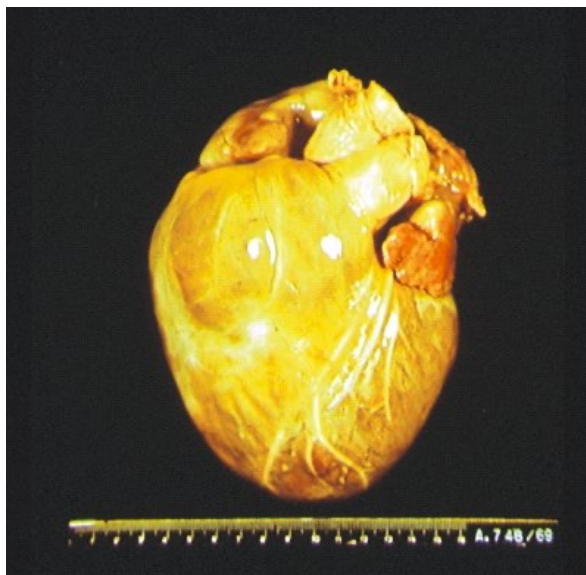
1. Forma indeterminada ou de latência.

- ✓ Ausência de manifestações clínicas, radiográficas e eletrocardiográficas;
- ✓ A maioria dos pacientes permanece na forma indeterminada, sem apresentar sintomatologia, por toda a vida;
- ✓ Parasitemia - subpatente.

2. Cardiopatía chagásica crônica - CCC.

- ✓ Aparecimento cerca de 15-20 anos após a infecção inicial;
- ✓ É a mais importante forma de limitação ao doente chagásico e principal causa de morte;
- ✓ Pode apresentar-se sem sintomatologia, mas com alterações eletrocardiográficas;
- ✓ Caracterizada por miocardite crônica progressiva, dilatação de cavidades e hipertrofia ventricular, distúrbios de condução elétrica, arritmias e insuficiência cardíaca.

Cardiomegalia



Aneurisma de ponta



3. Formas digestivas (megas).

➤ Caracterizam-se por alterações ao longo do trato digestório

✓ destruição de neurônios dos plexos mioentéricos (parassimpático)

✓ esfíncteres em contração permanente (simpático)

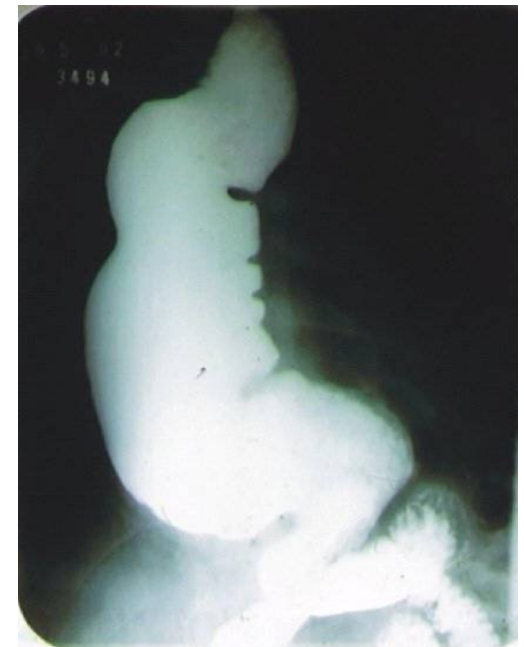
❖ Dificuldade de trânsito de alimentos/fezes

- cárdia: acúmulo de alimentos -

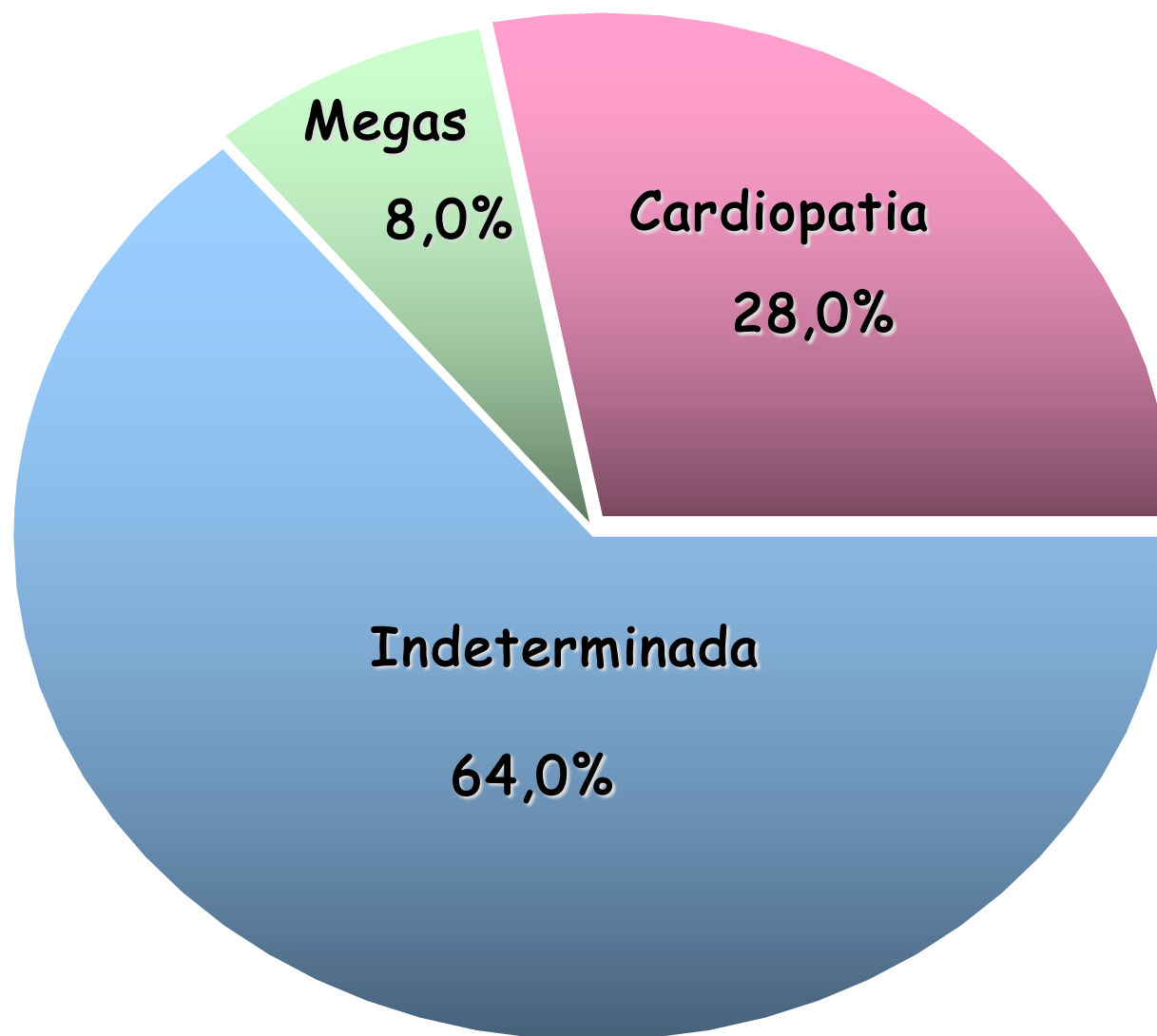
megaesôfago

- reto-sigmóide: acúmulo de fezes -

megacólon



Fase Crônica



Resposta imune

T. cruzi



Resposta imune do hospedeiro

Celular

Humoral

Inata

Adaptativa

Anticorpos líticos

MØs

Células dendríticas

Células NK

Linfócitos T

Linfócitos B

Resposta Protetora

Resposta imune

Camundongos KO:

- ✓ Células B
- ✓ Células TCD8
- ✓ Células TCD4
- ✓ IFN- γ
- ✓ IL-12
- ✓ TNF α
- ✓ GM-CSF



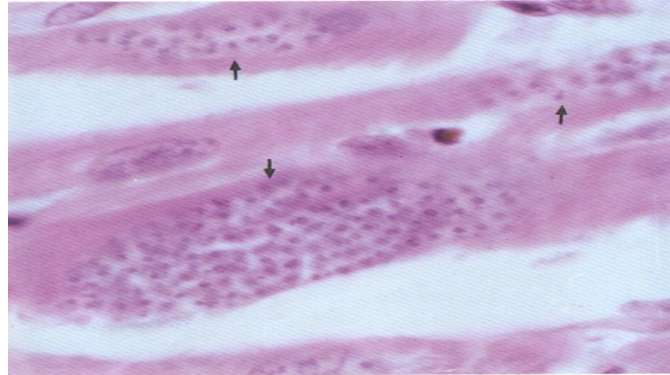
Susceptibilidade
de Infecção

Resposta imune

Equilíbrio relação parasito-hospedeiro

- Parasitemia baixíssima - Parasita nunca é totalmente eliminado
- Resposta Imune Humoral
 - ✓ anticorpos IgG anti-tripomastigotas
 - opsonização: macrófagos ativados matam parasita
 - bloqueio da penetração
 - lise pelo complemento
 - ADCC ("antibody-dependent cell mediated cytotoxicity")
- Resposta Imune Celular
 - ✓ Células efectoras - T, NK, Macrófagos

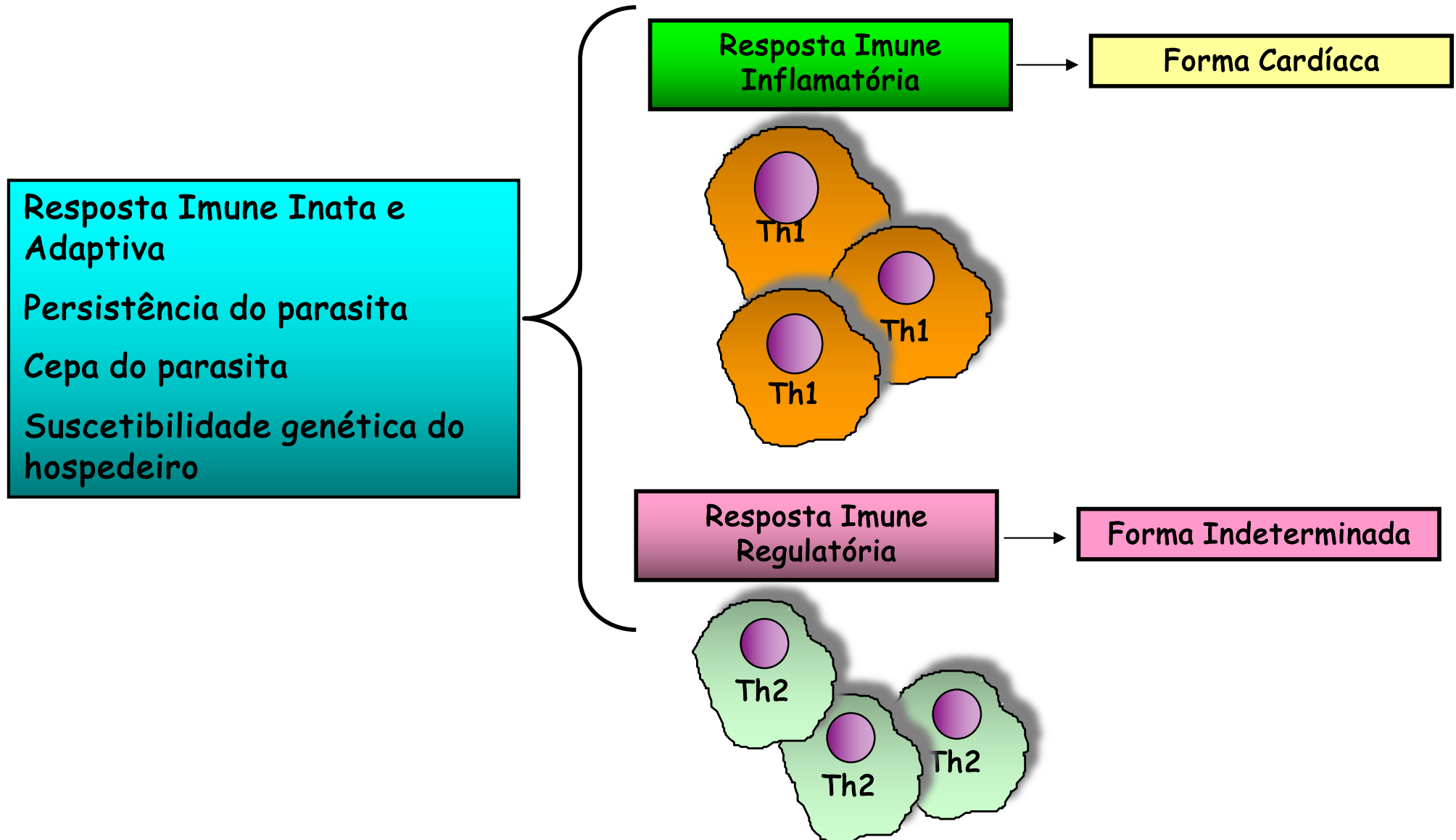
Mecanismos de Patogenicidade



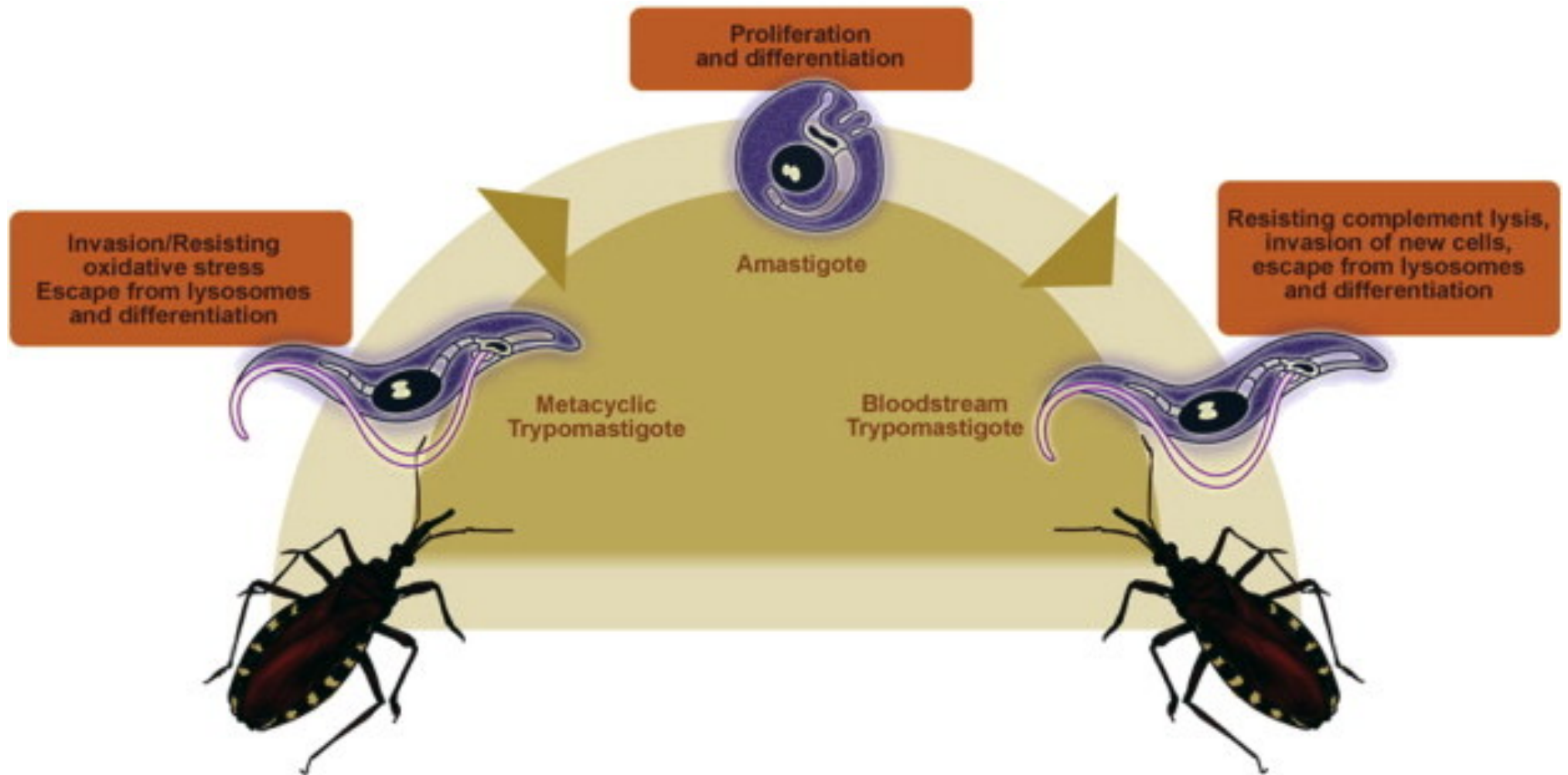
- Destruição células parasitadas pelo *T. cruzi*.
 - ✓ Apresentação de antígenos de *T. cruzi* em complexos peptídeo-MHC na superfície das células parasitadas.

- Destruição células não parasitadas pelo *T. cruzi*.
 - ✓ Autoimunidade: Antígenos de *T. cruzi* reagem cruzadamente com antígenos de células hospedeiras - reatividade cruzada

O balanço da resposta imune pode definir o estabelecimento das formas cardíaca ou indeterminada da doença de Chagas.



Mecanismos de Escape



Mecanismos de Escape

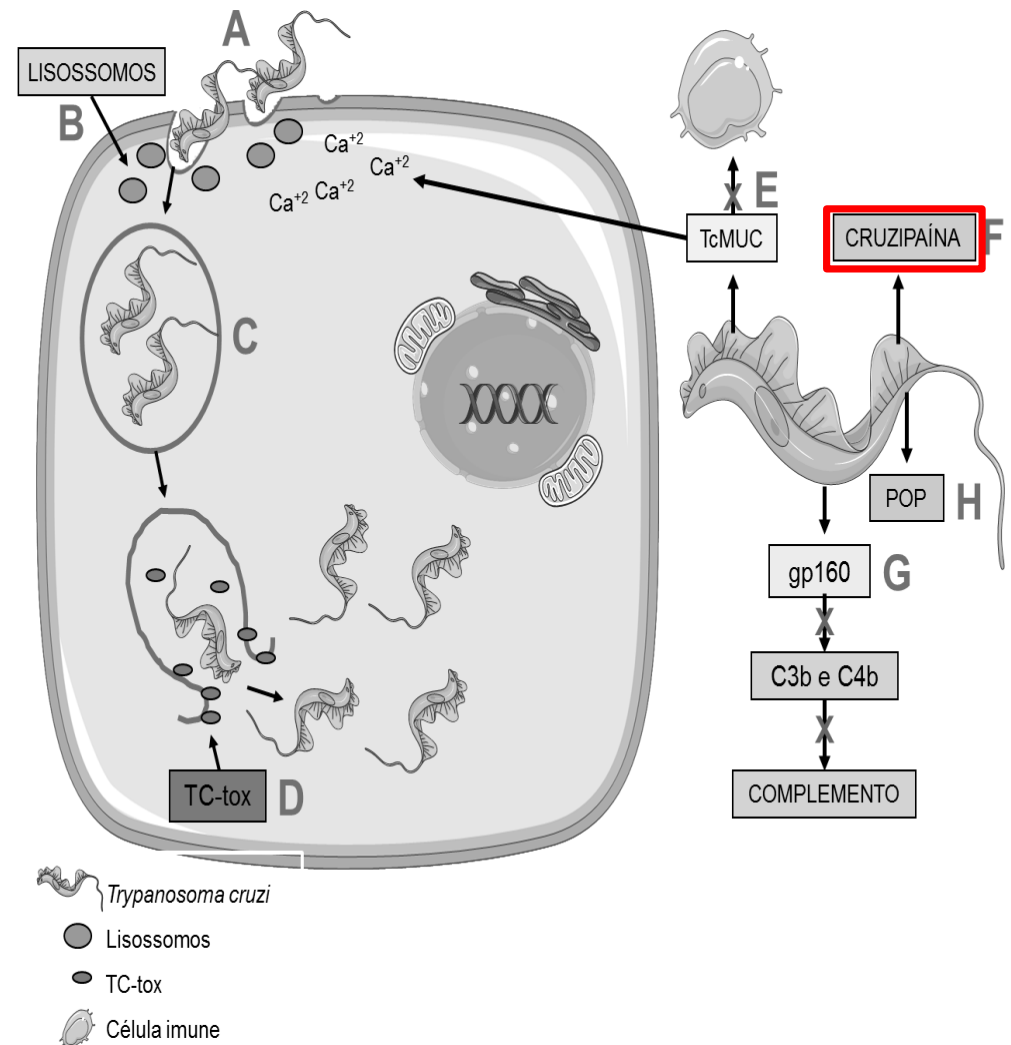
MECANISMOS PROPOSTOS

- ✓ Moléculas de superfície
- ✓ Escape do fagolisossomo
- ✓ Supressão do burst oxidativo fagocítico

Moléculas de superfície

Cruzipaína

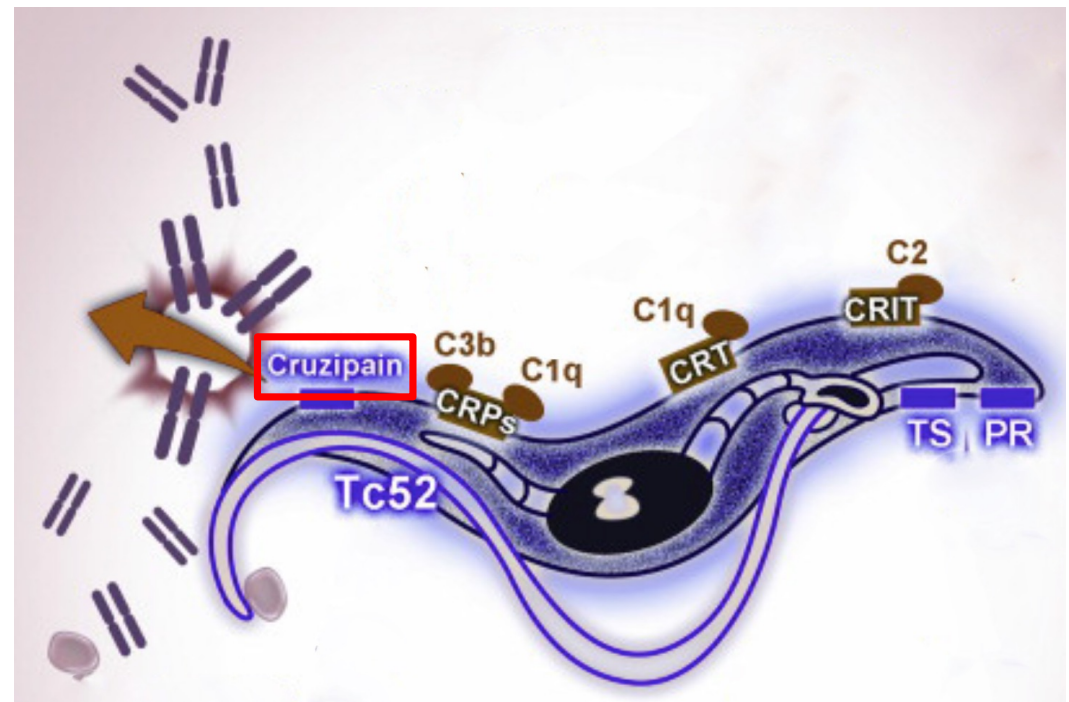
- ✓ Cisteínoprotease
- ✓ Expressa em todas as formas de desenvolvimento do parasita
- ✓ Medeia mecanismos anti-apoptóticos em células do miocárdio infectadas com *T. cruzi*
- ✓ Parasitas deficientes de cruzipaína ativam rapidamente os macrófagos do hospedeiro e não sobrevivem
- ✓ induz proteólise de NF-KB



Moléculas de superfície

Cruzipaína

- Interfere na resposta imune humoral: digestão na dobradiça de todas as subclasses de IgG
- “Fabulação”: fragmento Fab2 protegendo o parasita
- Aumento de atividade de arginase-1, secreção de IL-10 e TGF-beta em macrófagos

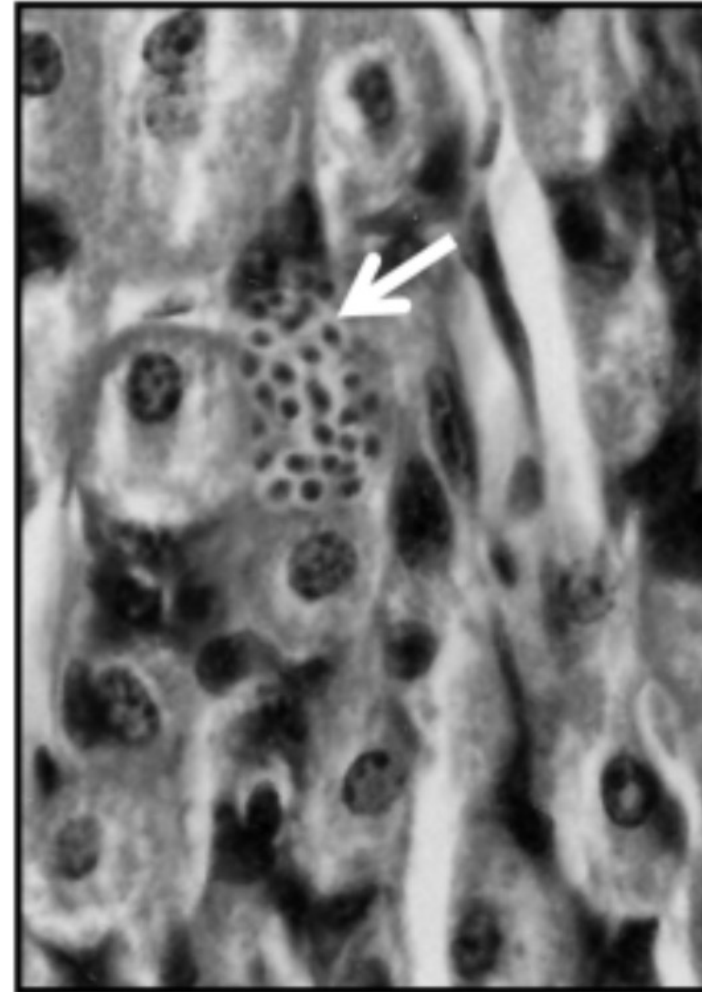


Moléculas de superfície

GP82

- Expressa predominantemente nas formas metacíclicas;
- Liga-se às mucinas gástricas e facilita a invasão pelo epitélio gástrico.

Amastigote nest



Stomach section

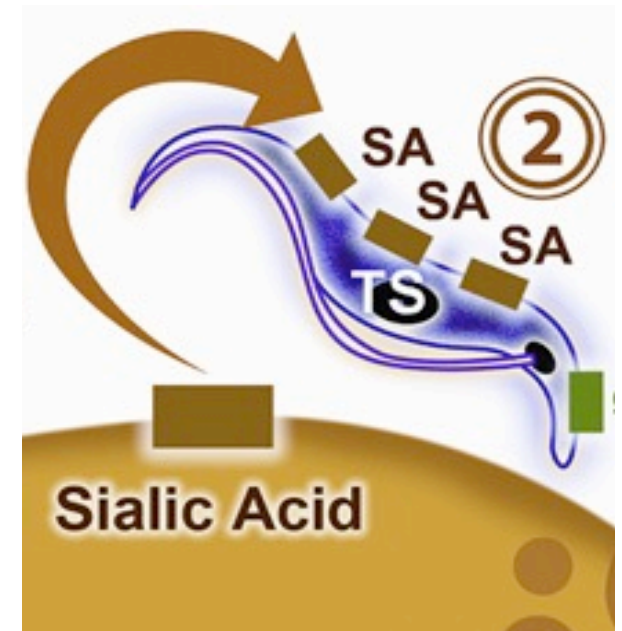
Moléculas de superfície

Trans-sialidase (TS)

- ✓ Proteína presente na membrana externa ou na forma livre com propriedade de ligação e função enzimática

T. cruzi:

- ✓ Não sintetiza ácido siálico
- ✓ Adquire o ácido siálico pela TS após sua entrada em um meio rico de doadores da molécula
- ✓ Expressa enzima trans-sialidase (TcTS): catalisa reação de transglicosilação



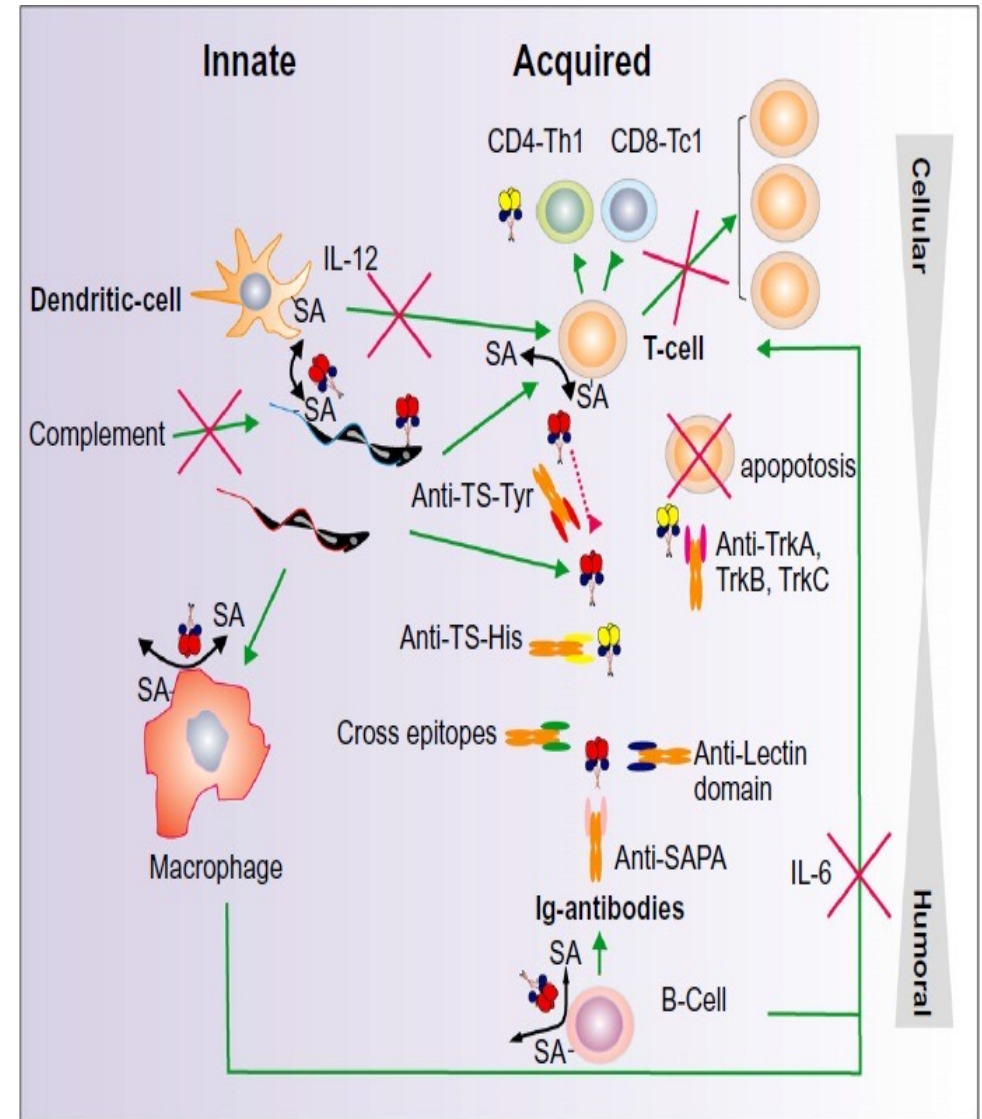
Moléculas de superfície

- Gera uma barreira sialilada e carregada negativamente na superfície do parasita

Proteção:

- Via alternativa do complemento
- Opsonização e morte por anticorpos naturais
- Superfície sialilada interage com Siglec-C das células dendríticas suprimindo a produção de IL-12

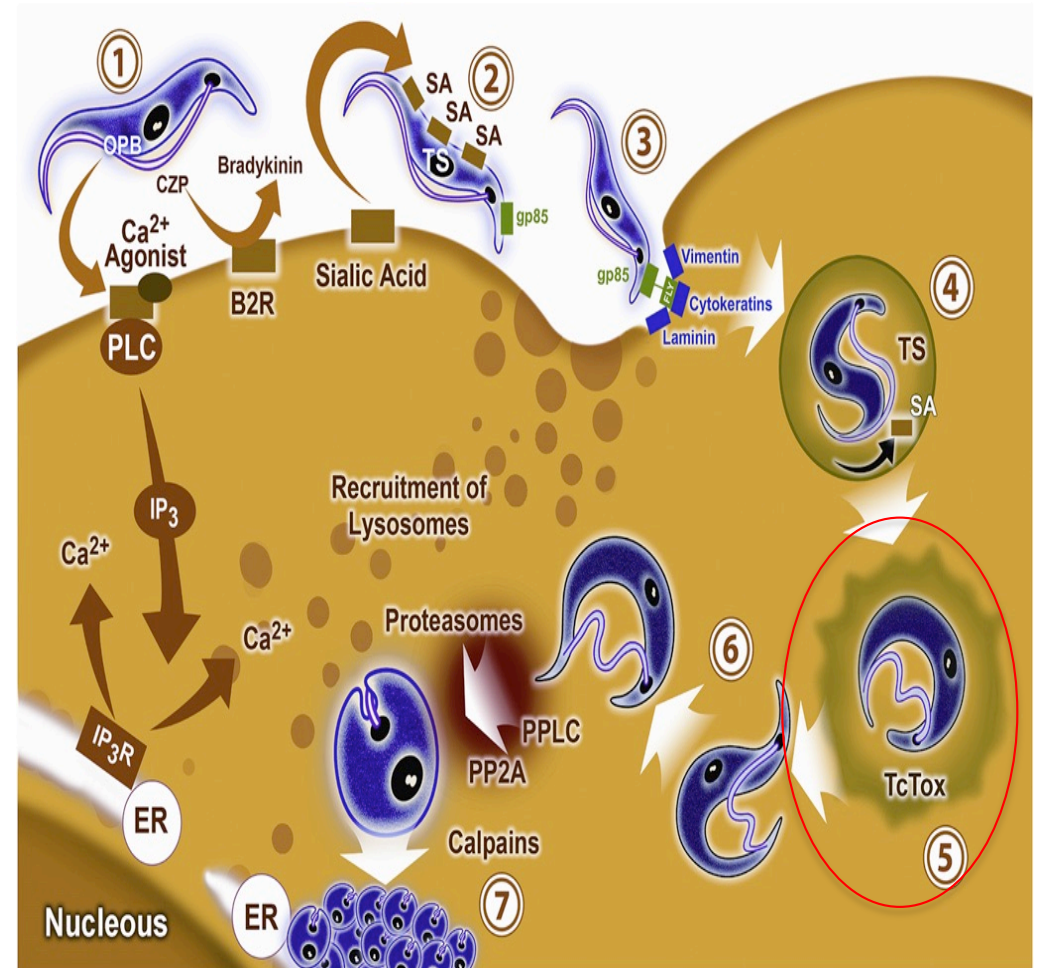
Trombocitopenia: retirada do ácido siálico das plaquetas



Escape do fagolisossomo

TcTox

- Proteína secretada pelo parasita
- Atividade lítica e formadora de poros no vacúolo em pH ácido
- *T. cruzi* rompe o fagolisossomo usando a TcTox

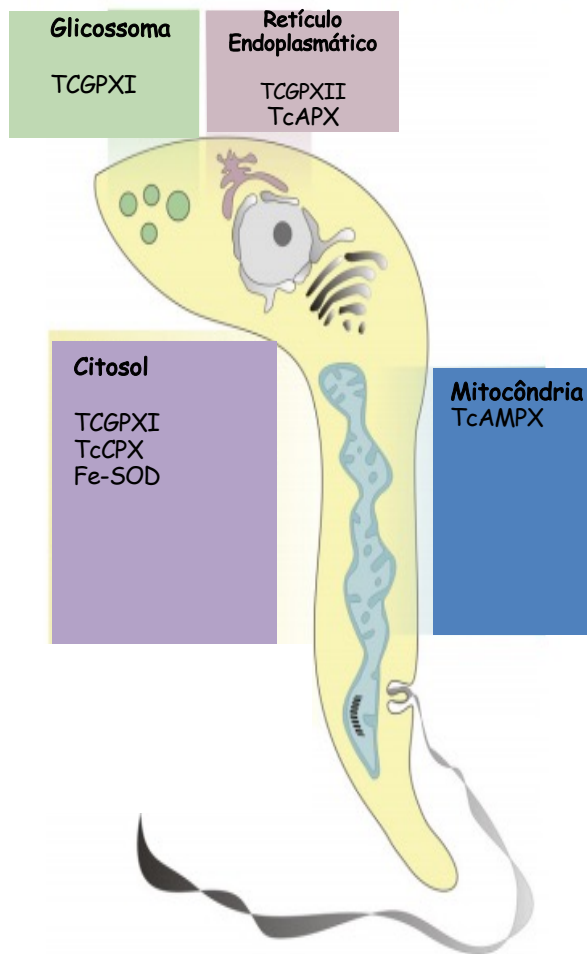


Supressão do burst oxidativo fagocítico

Enzimas antioxidantes estão mais expressas na forma
tripomastigota metacíclica

Supressão do burst oxidativo fagocítico

E. Irigoin et al. / Free Radical Biology & Medicine 45 (2008) 733-742



5 PEROXIDASES

- Glutathiona peroxidase I (TCGPXI)
- Glutathiona peroxidase II (TCGPXII)
- Tripanoredoxina peroxidase citosólica (TcCPX)
- Tripanoredoxina peroxidase mitocondrial (TcAMPX)
- Oxidase dependente de ascorbato (TcAPX)

(Wilkinson *et al.*, 2000, 2002a, 2002b, 2002c)

SUPERÓXIDO DISMUTASES

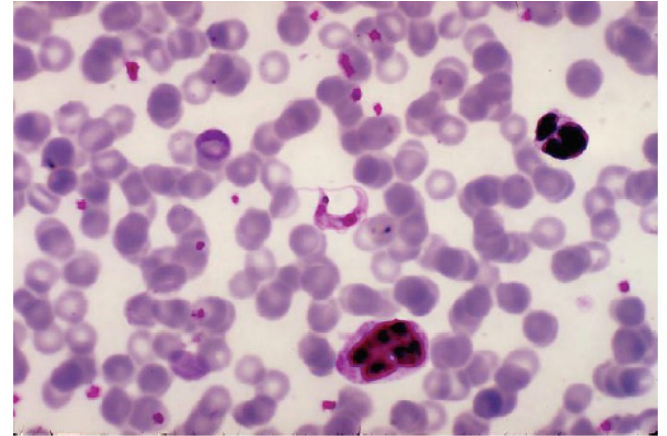
- Ferro superóxido dismutase (Fe-SOD)

(Mateo *et al.*, 2008)

Diagnóstico Parasitológico

✓ Diretos - FASE AGUDA

- Exame a fresco em lâmina (motilidade)
- Gota espessa ou esfregaço corado com Giemsa ou Leishman (morfologia)
- Centrifugação em tubos capilares (micro-hematócrito) - baixa parasitemia

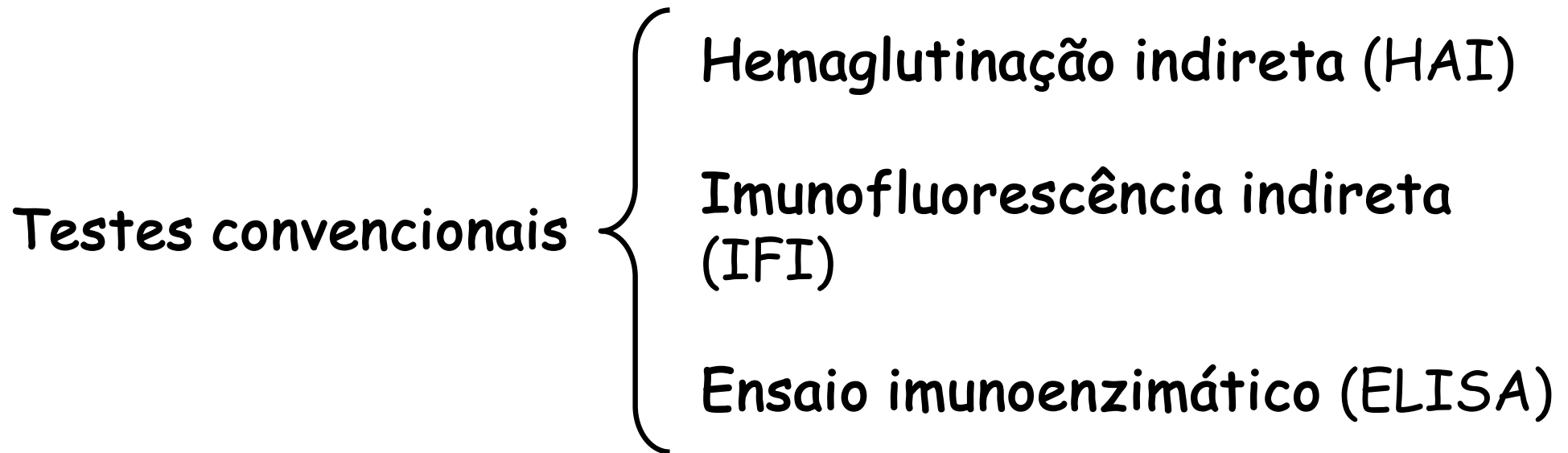


✓ Indiretos - FASE CRÔNICA

- Xenodiagnóstico (alimentação de ninfas de triatomíneos não infectadas com o sangue de pacientes).
- Hemocultura (cultura do sangue em meio LIT)
Leitura: 30, 60, 90 e 120 dias



Diagnóstico sorológico



Antígenos de *T. cruzi*: Extratos totais
Frações semi-purificadas (epimastigotas)

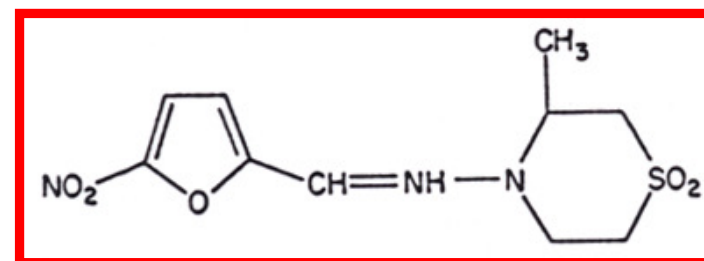
- ✓ Fase aguda: detecção de IgM
- ✓ Fase crônica: detecção de IgG

➤ Pelo menos três testes sorológicos devem ser realizados para confirmação dos resultados.

Tratamento

Nifurtimox (Lampit):

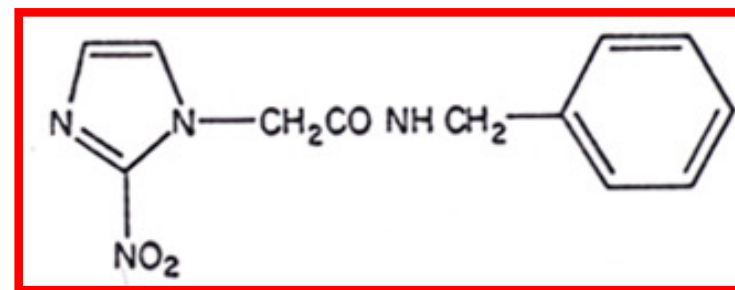
- ✓ Nitro-derivado que age através da produção de radicais livres;
- ✓ Toxicidade frequente (anorexia, náusea, vômitos, reações alérgicas);
- ✓ Parcialmente efetivo na fase aguda;
- ✓ Inativo na fase crônica (??);
- ✓ Tratamento prolongado (até 90 dias);
- ✓ 8-10 mg/Kg por dia (adultos);
- ✓ 15 mg/kg por dia (crianças);
- ✓ Somente disponível nos EUA e Canadá.



Tratamento

Benznidazole (Rochagan):

- ✓ Modo de ação ainda não completamente claro.
- ✓ Parece induzir a formação de radicais livres que podem: inibir a síntese de DNA e RNA e proteína e aumentar o estresse oxidativo;
- ✓ Toxicidade frequente (Anorexia, cefaléia, dermatopatia, gastralgia, insônia, náuseas, perda de peso, polineuropatia, vômitos);
- ✓ Parcialmente efetivo na fase aguda;
- ✓ Inativo na fase crônica (??);
- ✓ Tratamento prolongado (até 60 dias);
- ✓ Adultos e crianças: 5 mg/Kg por dia;
- ✓ Eficaz em ~70% dos casos.

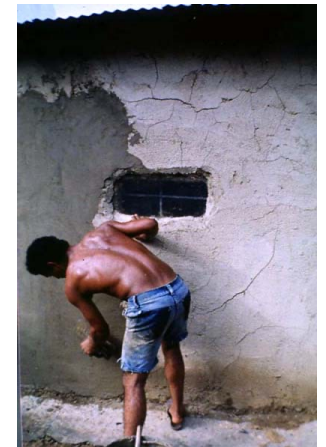


Profilaxia

✓ **Transmissão vetorial:** controle químico de vetores com inseticidas quando a investigação entomológica indicar a presença de triatomíneos domiciliados; melhoria habitacional em áreas de alto risco suscetíveis a domiciliação.



✓ **Transmissão transfusional:** manutenção do controle de qualidade rigoroso de hemoderivados. Na ausência de condições, pode-se utilizar cristal violeta nas bolsas de sangue.



✓ **Transmissão vertical:** identificação de gestantes chagásicas na assistência pré-natal ou de recém-nascidos por triagem neonatal para tratamento precoce.

✓ **Transmissão oral:** cuidados de higiene na produção e manipulação artesanal de alimentos de origem vegetal.

✓ **Transmissão acidental:** utilização de equipamento de biossegurança.

Vacina???

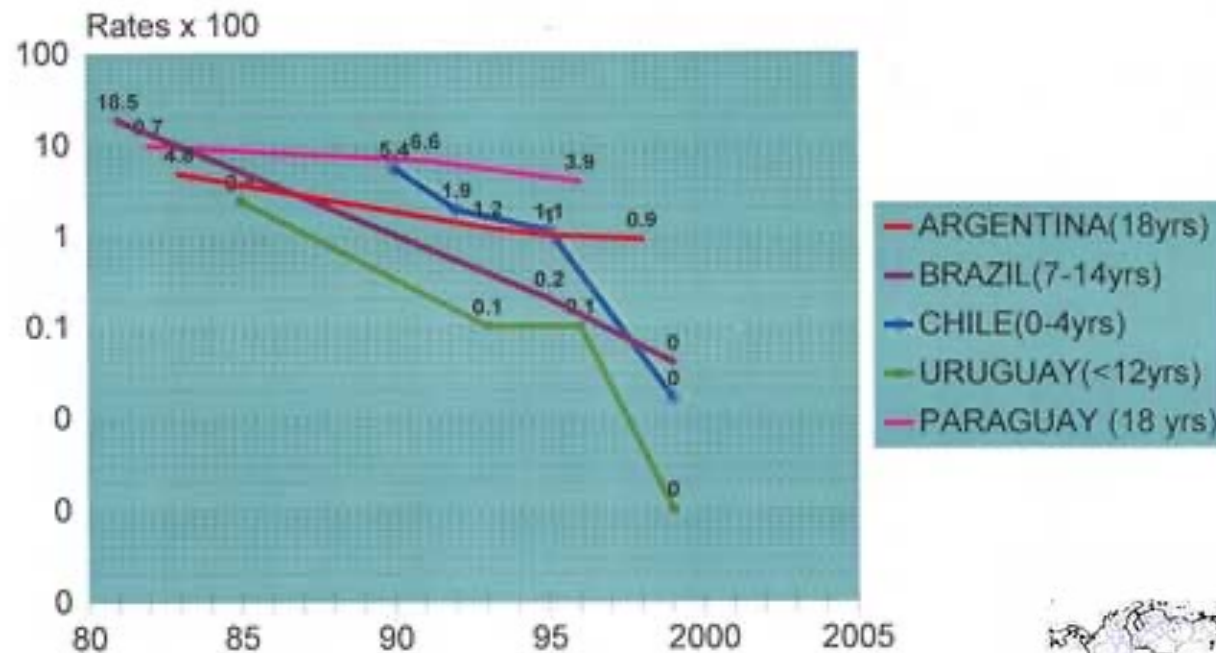
- ✓ inúmeras tentativas: de parasitas atenuados a recombinantes

- ✓ Problemas
 - como avaliar?
 - autoimunidade?

SOUTHERN CONE INITIATIVE

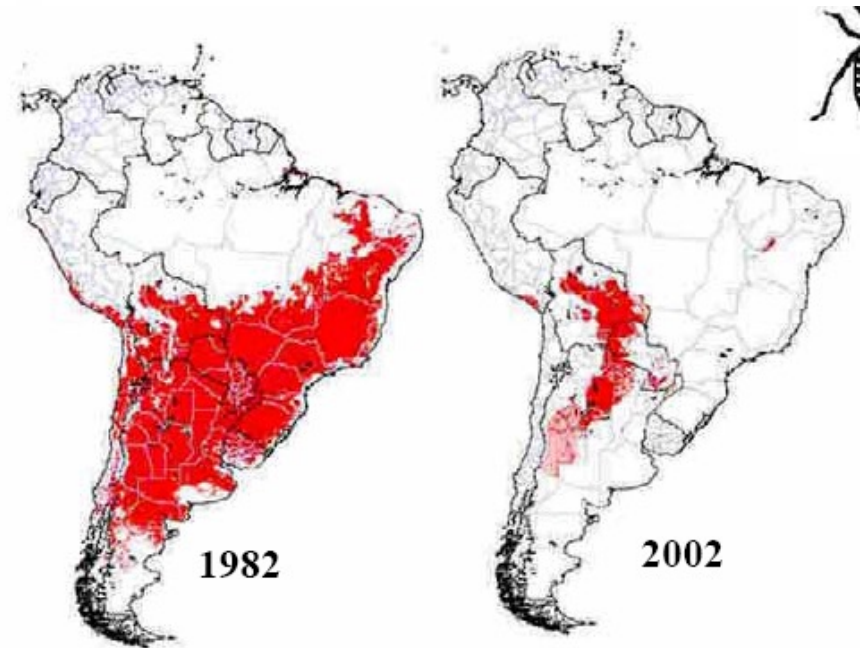
Controle Vetorial

Elimination of Transmission: Incidence of infection 1980-2000



Source: Reports by National Chagas disease control program

- ✓ 2006: Brasil recebeu certificação internacional de interrupção da transmissão da doença pelo *Triatoma infestans*, concedida pela Organização Panamericana da Saúde e Organização Mundial da Saúde.



www.who.int