

Em busca de novos espaços: um *T.cruzi* (em vinho), com vesículas (em amarelo) sobre o corpo, próximo a uma célula hospedeira

Parasita pronto para o ataque

Vesículas com proteínas ajudam *Trypanosoma cruzi* a invadir células hospedeiras

Ao examinarem as informações que eles próprios e outros grupos haviam produzido nos últimos 40 anos, pesquisadores de São Paulo identificaram um possível mecanismo que deve ajudar o protozoário causador da doença de Chagas a invadir as células hospedeiras. Tão logo se instala em uma única célula, o *Trypanosoma cruzi* se diferencia, se divide intensamente a ponto de romper a célula e libera vesículas com proteínas e lipídeos (gorduras) que devem facilitar a instalação dos parasitas em outras células.

“Parece que esse é um fenômeno abrangente”, diz Walter Colli, professor do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP) e supervisor desse estudo, realizado por Ana Cláudia Torrecilhas, da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp) em Diadema, em colaboração com Robert Schumacher e Maria Júlia Manso Alves, da USP. “Outros grupos de parasitas e células tumorais também liberam vesículas que funcionam de modo similar e facilitam a infecção das células hospedeiras.”

Os especialistas dessa área, no Brasil e em outros países, estão animados com a possibilidade de usar essas informações para desenvolver novas formas de combater ou diagnosticar doenças tropicais de amplo alcance mundial. É o caso da doença de Chagas, que atinge cerca de 10 milhões de pessoas na América do Sul e está se tornando um problema de saúde pública nos Estados Unidos.

Em um editorial publicado em maio deste ano na revista *PLoS Neglected Diseases*, pesquisadores dos Estados Unidos e do México alertaram para o avanço da doença de Chagas nos Estados Unidos, principalmente entre imigrantes nos estados mais próximos da fronteira com o México; estima-se em 1 milhão o número de pessoas infectadas. Nesse trabalho a doença de Chagas foi chamada de “uma nova Aids das Américas”: embora uma seja causada por um protozoário transmitido por um inseto e a outra por vírus, principalmente por contato sexual, ambas podem ser passadas adiante por meio de transfusão de sangue, são mais frequentes entre pessoas mais pobres e exigem tratamentos prolongados. Além disso, a doença de Chagas tem se mostrado uma infecção oportunista relevante entre pessoas vivendo com HIV/Aids e, como nas primeiras

duas décadas da epidemia de Aids, a maioria das pessoas com Chagas não tem acesso a serviços médicos de saúde.

Em agosto, Peter Hotez, professor da Escola de Medicina Baylor e diretor do Instituto de Vacinas Sabin, ambos em Houston, nos Estados Unidos, e primeiro autor do editorial na *PLoS*, assinou um artigo no jornal *New York Times* argumentando que as doenças tropicais como Chagas, dengue e leishmaniose e cisticercose eram as “novas pragas da pobreza”. Segundo ele, 20 milhões de pessoas nos Estados Unidos vivem na pobreza extrema. “Sem novas intervenções”, ele comentou, “essas doenças estão aqui para ficar, mantendo as pessoas na pobreza por décadas”.

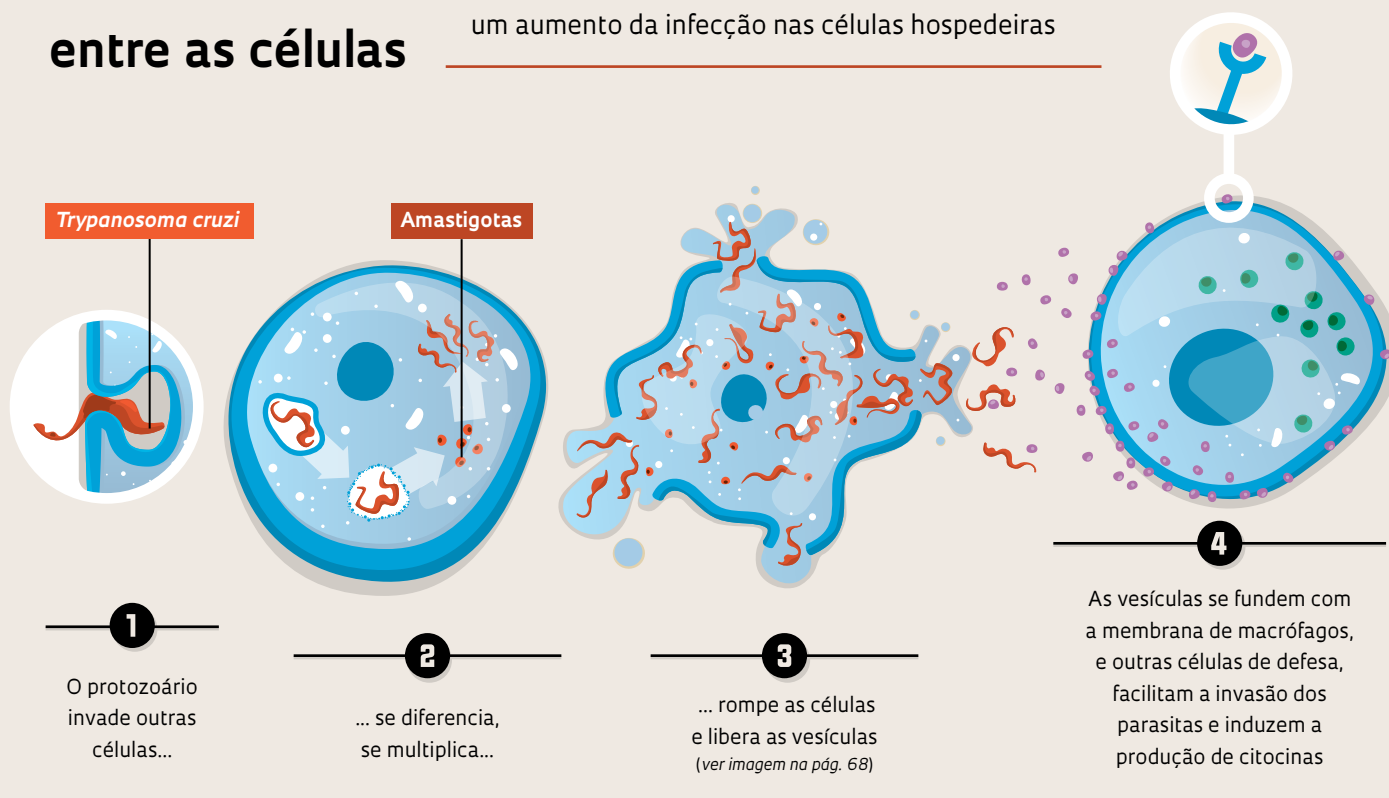
VÁRIOS TAMANHOS

A produção científica sobre as vesículas é intensa – cerca de 3.500 artigos sobre essas estruturas foram publicados nos últimos cinco anos –, mas também há muitas dúvidas. A primeira delas: como chamar esses compartimentos repletos de proteínas? Em um artigo publicado em fevereiro deste ano na revista *Proteomics and Bioinformatics*, dois pesquisadores da Universidade La Trobe, Austrália, observaram que as chamadas microvesículas extracelulares estão recebendo nomes diferentes, de acordo com suas dimensões, origem e composição. Um dos tipos de vesícula, o exossomo, com diâmetro de 30 a 100 nanômetros, se mostrou relevante por ter muitas funções, como transferir o vírus HIV para células-alvo, e ganhou um *site* exclusivo, o www.exocarta.org, com quase 150 estudos e 4.563 proteínas identificadas até o início de setembro. Há também vesículas de outros tipos, por enquanto menos relevantes, como o ectossomo, grande vesícula de membrana e bolha apoptótica, que pode ter 5 mil nanômetros e é liberado por células agonizantes.

As vesículas do *T. cruzi* são menores, com 20 a 80 nanômetros de diâmetro, e inicialmente não ganharam muita importância. No final dos anos 1980, ao identificarem as vesículas, Marinei Gonçalves, Maria Júlia Manso Alves, Bianca Zingales e outros pesquisadores da equipe de Colli pensaram, como outros dessa área, que se tratava apenas de material descartado, embora já tivessem visto que variedades mais virulentas de *T. cruzi* liberavam mais vesículas que as menos virulentas.

Batalha entre as células

O *Trypanosoma cruzi* libera vesículas que induzem um aumento da infecção nas células hospedeiras



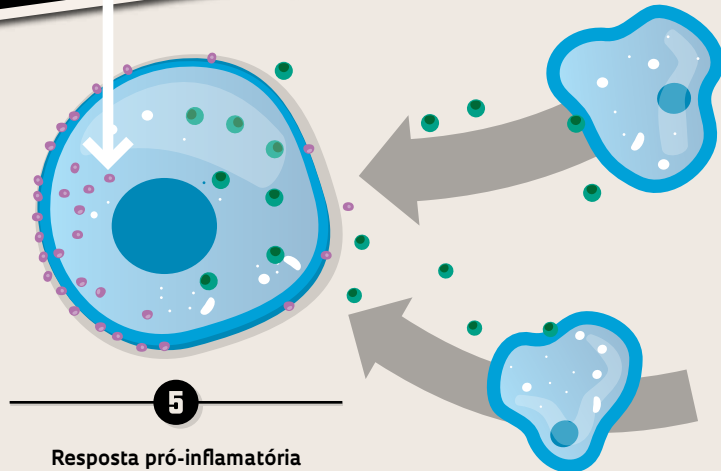
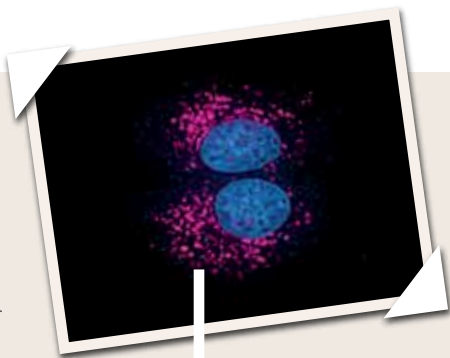
Nos anos seguintes, outros estudos e equipamentos mais sensíveis indicaram que as proteínas e os lipídeos das vesículas poderiam facilitar a infecção das células hospedeiras pelo parasita. Em seu doutorado e no pós-doutorado, feito sob a supervisão direta de Maria Júlia, Ana Claudia Torrecilhas verificou que as proteínas das vesículas aumentam a quantidade e a ação dos parasitas nos tecidos e induzem uma resposta inflamatória do hospedeiro. Em um estudo com camundongos, ela observou que as vesículas facilitavam a entrada do parasita nas células do coração e antecipavam a morte dos animais.

Agora, em um estudo a ser publicado em outubro na *Microbes and Infection*, os pesquisadores da USP e da Unifesp comentam que quase metade do conteúdo das vesículas é formada de glicoproteínas (proteínas associadas com açúcares). Uma delas é a transialidase, enzima específica desse parasita, além de outras codificadas por uma superfamília de genes – com cerca de 700

Os parasitas causadores da doença do sono e da leishmaniose também liberam vesículas

genes ativos e 700 pseudogenes – denominada gp85, também descoberta no laboratório de Colli.

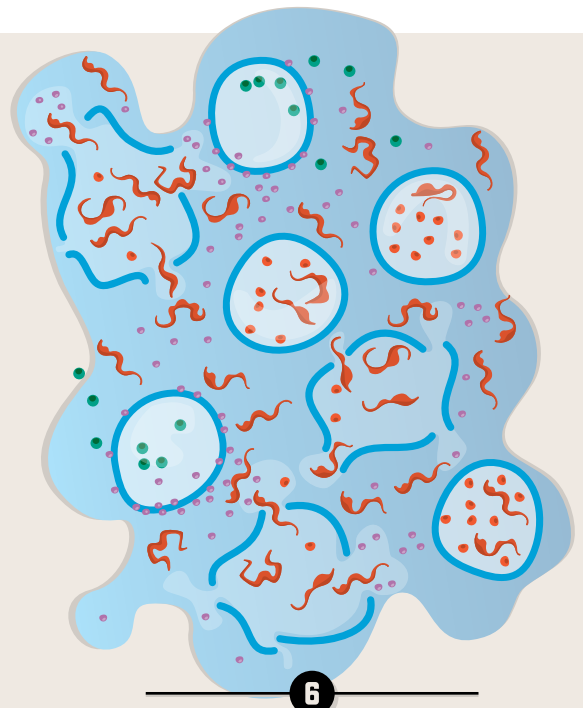
Essas moléculas podem ativar proteínas – ou receptores – da membrana externa de células de defesa como os macrófagos, células dendríticas e linfócitos. Por sua vez, os receptores estimulam a produção de óxido nítrico e de moléculas como o interferon-gama, o fator de necrose tumoral e a interleucina-12. Essas moléculas aumentam a resposta inflamatória das células hospedeiras, atraindo mais células, que destroem os parasitas, mas também danificam as células do organismo, facilitando a invasão dos parasitas que sobreviveram à batalha ou chegaram em seguida. Após um *T. cruzi* invadir uma célula, o que não faltará é parasita. Segundo Colli, um único *T. cruzi* se divide rapidamente e em poucas horas pode se multiplicar em 500 outros, que fazem a célula hospedeira explodir, liberando-os para o meio extracelular e a corrente sanguínea, que lhes permite chegar a outras células.



5

Resposta pró-inflamatória

As citocinas ativam outras células de defesa que podem eliminar os parasitas



6

Chegam mais parasitas, que liberam mais vesículas, e, por mecanismos ainda incertos, alteram a resposta do organismo em benefício dos parasitas

OUTROS PARASITAS

“Em 15 minutos, as vesículas do *T. cruzi* podem se fundir com os macrófagos”, diz Ana Claudia. Outros pesquisadores verificaram que outros dois grupos de protozoários também liberam vesículas, com funcionamento similar e conteúdo provavelmente distinto. O primeiro são os protozoários do gênero *Leishmania*, causador da leishmaniose, que se espalhou por 98 países, com 2 milhões de novos casos por ano. O segundo é o *Trypanosoma brucei*, com subespécies (*T. b. gambiense* e *T. b. rhodesiense*) causadoras da doença do sono, que atinge cerca de 70 mil pessoas na África subsaariana.

Outros dois parasitas, o *Plasmodium falciparum*, causador da malária, responsável por cerca de 1 milhão de mortes por ano na África, e o *Toxoplasma gondii*, causador da toxoplasmose, agem de outro modo: invadem as células hospedeiras e em seguida são elas que produzem vesículas com proteínas dos microrganismos invasores, que são liberadas e alertam outras células de defesa.

Os pesquisadores pretendem o mais breve possível saber quais proteínas das vesículas de *T. cruzi* e de outros protozoários ativam as respostas inflamatórias das células hospedeiras e como a resposta do organismo é alterada de modo a beneficiar os parasitas. Desde já está claro, porém, que as vesículas funcionam como um meio de sinalização ou comunicação a distância entre os parasitas e as células hospedeiras.

Nos últimos anos várias estruturas celulares estão sendo reconhecidas como capazes de destruir ou, inversamente, beneficiar outras células. Outros estudos mostraram que as células podem produzir estruturas chamadas nanotubos de tunelamento, com diâmetro de 50 a 200 nanômetros e uma extensão equivalente ao diâmetro de várias células. Por meio desses tubos um linfócito pode se ligar a outro e enviar nutrientes ou componentes celulares que, no caso das células de defesa, ajudam a prolongar – e geralmente vencer – o combate contra parasitas e células tumorais. ■ Carlos Fioravanti

Projetos

1. Interação entre *Trypanosoma cruzi* e hospedeiro: ligantes, receptores e condicionantes do desenvolvimento intracelular – n° 04/03303-5;
 2. Vesículas liberadas pelo *T. cruzi*: papel de seus componentes na infecção – n° 04/08487-7.
- Modalidades:** 1. Projeto Temático. 2. Bolsa de pós-doutorado. **Coordenadora:** 1. Maria Júlia Manso Alves – IQ-USP; **Bolsista:** 2. Ana Claudia Torrecilhas - IQ-USP **Investimento:** 1. 1.248.031,59; 2. R\$ 204.190,40 (FAPESP).

Artigos científicos

- GONÇALVES, M.F. *et al.* *Trypanosoma cruzi*: Shedding of surface antigens as membrane vesicles. **Experimental Parasitology**. v. 72, n. 1, p. 43-53. 1999.
- TORRECILHAS A.C. *et al.* Vesicles as carriers of virulence factors in parasitic protozoan diseases. **Microbes and Infection** (in press). 2012.
- TORRECILHAS A.C. *et al.* *Trypanosoma cruzi*: parasite shed vesicles increase heart parasitism and generate an intense inflammatory response. **Microbes and Infection**. v. 11, p. 29-39. 2009.
- SIMPSON, R. J. e MATHIVANAN, S. Extracellular microvesicles: the need for internationally recognised nomenclature and stringent purification Criteria. **Proteomics & Bioinformatics**. v. 5, n. 2, p. ii. 2012.
- HOTEZ P.J. *et al.* Chagas Disease: the new HIV/AIDS of the Americas. **PLoS Neglected Tropical Disease**. v. 6, n. 5, p. e1498. 2012.