

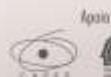
# CIELO CARLOS CHAGAS

DE PALESTRAS

2ª EDIÇÃO

Livro de resumos

10 e 11  
2014 ABRIL



Apoio

CNPq

Realização

IOC

Instituto Oswaldo Cruz



Ministério da Saúde  
INCCM  
Instituto Nacional de Câncer



**100+5 ANOS APÓS A DESCOBERTA:**  
**TERAPIA E CICLOS DE TRANSMISSÃO DA DOENÇA DE CHAGAS – AVANÇOS E DESAFIOS**  
**ORGANIZADORES: ANA MARIA JANSEN, SOLANGE DE CASTRO E JOSELI LANNES**

**10 de abril de 2013**

**Manhã**

**08:00 – 08:55h – Crachas**

**09:00h-09:30h Abertura**

**O Ciclo Carlos Chagas de Palestras - II**

Presidência da Fiocruz, Diretoria do IOC e Organizadores

**09:30h-10:15h**

**Palestrante: Dra. Maria de Nazaré Soeiro – IOC/Fiocruz/RJ**  
**Terapia para a doença de Chagas: história e estado da arte**

**10:15h-10:30h Coffee Break**

**10:30h-11:10h**

**Palestrante: Dra. Maria Terezinha Bahia – UFOP/MG**  
**Modelos experimentais e testes para terapia etiológica da doença de Chagas**

**11:10h-11:45h**

**Palestrantes: Dra. Gláucia Santana e Dra. Mariana Abi-Saab – DNDi**  
**Novas oportunidades de tratamento para as pessoas que vivem com Chagas**

**11:45h-12:15h**

**Palestrante: Dra. Lucia Brum – MSF**  
**MSF 15 anos de ação em doença de Chagas – Acesso a diagnóstico e terapia na atenção primária de saúde**

**Intervalo de Almoço - 12:15h-14:00h**

**Tarde**

**14:00h-14:40h**

**Palestrante: Dr. – André Roque – IOC/Fiocruz/RJ**  
**Conceitos de reservatório, reservatórios e hospedeiros de *T. cruzi***

**14:40h-15:10h**

**Palestrante: Dra. Samanta Xavier – IOC/Fiocruz**  
**A cartografia e a lógica *fuzzy* como ferramentas de estudo da epidemiologia da Doença de Chagas Aguda**

**15:10h-15:30h Coffee Break**

**15:30h-16:30h**

**Palestrante: Dr. Fernando Abad – CPqL&MD/Fiocruz**  
**Ecologia de triatomíneos**

**16:30h-18:00h Sessão de Pôsteres**

**17:30h-18:30h Popcorn & Talent Section**



11 de abril de 2013

**Manhã – Centro de Estudos Especial**

**09:00h-10:00h**

**Apresentação dos 3 trabalhos selecionados  
(jovens pesquisadores/estudantes)**

**10:00h-11:00h**

**Palestrante: Dr. Antônio Carlos Campos de Carvalho – UFRJ/INC/DECIT-MS**  
**Terapia celular na doença de Chagas crônica – dos modelos animais aos ensaios clínicos**

**11:00h-12:00h**

**Palestrante: Dra. Carezza Botto – Facultad de Ciencias, Universidad de Chile**  
**Ecologia da transmissão do *Trypanosoma cruzi***

**12:00h-12:30h Entrega do Prêmio aos melhores trabalhos**  
**Encerramento**

## Resumo 061B

### Tema – Aspectos Clínicos

#### Quantificação da carga parasitária em soro de pacientes portadores da doença de Chagas crônica com diferentes manifestações clínicas.

Myllena F A D Melo<sup>1</sup>; Otacilio Moreira<sup>1</sup>; Virginia M B de Lorena<sup>2</sup>; Maria G Cavalcanti<sup>3</sup>; Fábio L Melo<sup>2</sup>; Izaura Lorena-Rezende<sup>2</sup>; Yara G de Miranda<sup>2</sup>; Constança Britto<sup>1</sup>.

1 - Instituto Oswaldo Cruz - IOC / Fiocruz RJ; 2 – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães- CPqAM / Fiocruz PE; 3 – Hospital Universitário Oswaldo Cruz de Pernambuco – HUOC/PE

Os resultados inconclusivos do diagnóstico sorológico da doença de Chagas (DC) geram um impacto em bancos de sangue em todo o mundo, com alto número de bolsas descartadas e com aumento na transmissão transfusional. Técnicas moleculares, como a PCR em Tempo Real quantitativa (qPCR), vem sendo utilizadas para auxiliar no diagnóstico da DC e no monitoramento da carga parasitária, a partir de amostras de sangue periférico. Uma grande perspectiva para o diagnóstico molecular da DC é a possibilidade de detecção do DNA de *T. cruzi* em amostras de soro, o que permitiria aproveitar a mesma amostra utilizada na triagem sorológica. Para avaliar a eficácia da técnica de qPCR em detectar e quantificar o DNA de *T. cruzi* a partir de amostras de soro, foram coletadas amostras de sangue e soro de 40 pacientes com DC crônica, que apresentavam as formas cardíaca (FC =23), digestiva (FD =4), mista (FM = 7) e indeterminada (FI = 6) da doença, recrutados no Ambulatório do HUOC de Pernambuco. Como controle, foram utilizadas amostras clínicas de 20 indivíduos soronegativos de áreas não endêmicas. As amostras foram extraídas utilizando QIAamp DNA mini kit (QIAGEN) e a qPCR foi realizada utilizando o sistema TaqMan em multiplex, com alvos direcionados para o DNA nuclear satélite do *T. cruzi* e DNA humano (RNase P), segundo Moreira e cols., 2013. Para avaliar a migração do DNA para o soro durante o processo de coagulação, realizamos ensaios de PCR em Tempo Real utilizando um controle exógeno comercial (EXO IPC, Applied Biosystems), DNA nuclear satélite de *T. cruzi* e RNase P humana, a partir de amostras de sangue reconstituído. Observamos que, mesmo havendo um aumento nos valores de Ct, foi possível detectar todos os alvos no soro. Ao avaliar os pacientes com diferentes formas clínicas, observamos que não houve diferença significativa de carga parasitária entre os grupos, tanto em sangue quanto soro ( $p>0,05$ ). Além disso, os valores medianos de carga parasitária total dos pacientes foram de 1,125 e 1,230 equivalentes de parasito/mL para soro e sangue, respectivamente. Utilizando a sorologia como padrão ouro, observamos uma sensibilidade para detecção de *T. cruzi* de 95% para amostras de soro e 97,5% para sangue, e especificidade de 100% para ambas. Em conjunto, nossos dados confirmam o potencial das amostras de soro para o diagnóstico molecular e quantificação da carga parasitária por qPCR, sugerindo sua aplicação em laboratórios de referência para o diagnóstico sorológico da DC.

## Resumo 132

### Tema – Aspectos Clínicos

#### Estudo do polimorfismo do gene TGF- $\beta$ 1 e correlação com os estágios da forma cardíaca da doença de Chagas

Roberto Rodrigues Ferreira<sup>1</sup>, Renata Almeida de Sá<sup>1</sup>, Aline dos Santos Moreira<sup>1</sup>, Tania de Araújo-Jorge<sup>2</sup>, Jean Jacques Feige<sup>3</sup>, Sabine Bailly<sup>3</sup>, Wim Degrave<sup>1</sup>, Roberto Magalhães Saraiva<sup>4</sup>, Mariana Caldas Waghbi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática, <sup>2</sup>Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos - Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro RJ, Brazil. <sup>3</sup>INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale), U878, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble, France. <sup>4</sup>Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro RJ, Brazil.

Estudos desenvolvidos pelo grupo nos últimos anos demonstram o envolvimento do TGF- $\beta$  na cardiopatia chagásica, com exacerbação dos seus níveis plasmáticos e da ativação da sua via de sinalização celular como aspectos desenvolvidos por pacientes nos estágios mais avançados da doença, associado também a níveis elevados de fibrose. Pacientes que apresentavam altos níveis TGF- $\beta$  circulantes, após 10 anos de acompanhamento, evoluíram com pior prognóstico da doença. Recentemente, o polimorfismo no códon 10 do gene que codifica o TGF- $\beta$ 1 foi descrito por influenciar na produção desta citocina. Também foi observado que, em populações da Colômbia e do Peru, o mesmo polimorfismo pode estar envolvido na susceptibilidade à infecção pelo T. cruzi. O presente trabalho se baseia em avaliar o polimorfismo dos alelos do gene do TGF- $\beta$ 1 nos pacientes nas fases crônicas da doença de Chagas: indeterminada e os diversos estágios da forma cardíaca correlacionando a expressão dos diferentes alelos do TGF- $\beta$ 1, os níveis séricos desta citocina e a manifestação clínica da doença de Chagas. Para isso, 180 indivíduos controle e pacientes das diferentes formas da fase crônica da doença de Chagas foram convidados a participar do trabalho. Foram realizadas análises de cinco polimorfismos de base única por PCR e sequenciamento dos fragmentos do gene de TGF- $\beta$ 1 que são descritos por influenciar na produção desta citocina. Além disso, os níveis séricos desta molécula foram dosados por ELISA. Até o momento, 176 pacientes consentiram em participar do projeto, 170 amostras foram sequenciadas para as cinco regiões de interesse, 80 soros já foram dosados para TGF- $\beta$ , e todas estão sendo analisadas. Três regiões do gene de TGF- $\beta$  foram estudadas por sequenciamento: na região promotora, dois polimorfismos foram analisados e foi observada na região -800G>A a alteração em cerca de 10% dos pacientes e para a posição -509T>C 90%; no exon 1, dois polimorfismos também foram avaliados e apenas um (+10C>T) apresentou-se em cerca de 60% dos pacientes; e na região do exon 5 não foi observado polimorfismo nas amostras analisadas. Dosagens de TGF- $\beta$  circulantes demonstraram que cerca de 70% dos pacientes, analisados até o momento, apresentam níveis mais elevados desta citocina. Desta forma, pretendemos identificar se há padrões genotípicos mais frequentes em pacientes em estágios mais avançados do acometimento cardíaco. Para assim, caracterizar o TGF- $\beta$  como um marcador de susceptibilidade ao desenvolvimento da doença de Chagas.

## Resumo 018

### Tema – Biologia Celular

#### **Biomarcadores de infecção aguda e crônica pelo *Trypanosoma cruzi*: glicofenótipos em populações de linfócitos T CD8+**

Leonardo Alexandre de Souza Ruivo<sup>1</sup>, Lucia Mendonça Previato<sup>2</sup>, José Osvaldo Previato<sup>2</sup>, Joseli Lannes Vieira<sup>1</sup>

Laboratório de Biologia das Interações – Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz<sup>1</sup>  
Laboratório de Glicobiologia – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho - UFRJ<sup>2</sup>

As células dos organismos vivos são cobertas por uma densa camada de carboidratos pela qual interagem com o ambiente externo. A glicosilação de proteínas tem inúmeras implicações desde funções fisiológicas como o tráfego intracelular até efeitos patológicos como invasão de tumores e metástases. O ácido siálico (Neu5Ac) é um açúcar terminal presente em células de diversos tecidos. Moléculas oligossacarídicas contendo Neu5Ac são biologicamente significativas, pois este está envolvido em mecanismos moleculares de reconhecimento celular, interação parasito-hospedeiro, tráfego de linfócitos e de modulação do sistema imune. O *T. cruzi* expressa em sua superfície e libera no plasma do hospedeiro, uma enzima unicamente encontrada no gênero *Trypanosoma*, a *trans*-sialidase (TS). A TS é uma enzima que catalisa preferencialmente a transferência de Neu5Ac para unidades terminais de Galp- $\beta$ -ligadas. A atividade da TS consiste em transferir moléculas terminais de Neu5Ac para glicoproteínas do tipo mucinas presentes na superfície do parasito ou, alternativamente, sialilar glicoproteínas presentes na superfície de células do hospedeiro mamífero. A modificação na sialilação de glicoproteínas pode modular a invasão de células do hospedeiro e/ou resposta das células do sistema imune. Recentemente, foi demonstrado que na infecção pelo *T. cruzi* as populações de células T CD8<sup>+</sup> expressam perfis segregados, citotóxico, células expressando perforina (Pfn<sup>+</sup>), e inflamatório, células que expressam interferon gama (IFN $\gamma$ <sup>+</sup>). Estas subpopulações de células T CD8<sup>+</sup> estão diferencialmente compartimentalizadas, se acumulando as Pfn<sup>+</sup> preferencialmente em infiltrados cardíacos e as IFN $\gamma$ <sup>+</sup> majoritariamente em tecidos periféricos (sangue e baço). Neste projeto nos propomos a identificar alterações no perfil de N-glicanas de linfócitos T CD8<sup>+</sup> nas fases aguda e crônica na infecção pelo *T. cruzi*. Assim, a comparação no perfil do domínio das N-glicanas na superfície de células T CD8<sup>+</sup> funcionalmente segregadas de camundongos infectados com diferentes cepas de *T. cruzi*, das fases aguda e crônica, poderá resultar no aprimoramento de métodos de diagnóstico, sorológico e bioquímico, a identificação de biomarcadores para as fases da doença, assim como poderá levar ao melhor entendimento da patogenia da doença de Chagas. Para este fim, utilizaremos camundongos C57BL/6 competentes e deficientes na enzima sialil transferase. Tecidos serão coletados em diversos momentos da infecção. Perfil de glicofenótipo de linfócitos T CD8<sup>+</sup> será analisado em populações do baço (por citometria de fluxo) e tecido cardíaco (imunoistoquímica). Nossos dados iniciais indicam aumento da frequência de células com ligantes da lectina PNA em linfócitos T CD8<sup>+</sup> de animais em fase aguda da infecção, quando comparados a animais controles não infectados.

## Resumo 019

### Tema – Biologia Celular

#### **CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA FUNCIONAL DE MACRÓFAGOS NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL MURINA PELO TRYPANOSOMA CRUZI: relação com a formação da cardiomiopatia chagásica crônica.**

Ellen D. M. Sarmiento<sup>1</sup>, Joseli Lannes-Vieira <sup>2</sup>, Isabela R. Pereira<sup>2</sup> (Lab. de Biologia das Interações/IOC/RJ. Fiocruz, RJ)

Na infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, o controle do parasito e a formação da cardiomiopatia crônica estão relacionados à migração de leucócitos para o coração. Células T CD8+, CD4+ e macrófagos são os principais componentes inflamatórios da miocardite chagásica. Macrófagos são caracterizados como M1 (inflamatórios) e M2 (reparadores). Estudamos o papel de macrófagos na patogênese da cardiomiopatia chagásica experimental, através de imunocitoquímica de macrófagos, imunohistoquímica de tecido cardíaco, citometria de fluxo (baço). Resultados parciais mostram que, (1) a infecção de macrófagos *in vitro* resultou em aumento do número de células que expressam arginase (ARG), ARG1 high e ARG2 high, porém também aumentou a produção de óxido nítrico (NO) por essas células. A análise fenotípica por citometria de fluxo de macrófagos de baço de animais com 150 dias de infecção mostrou aumento da frequência de células F4/80+ (particularmente F4/80high), Ly6C+ e F4/80+Ly6C+. Em relação ao perfil de migração desses macrófagos, observou-se aumento da frequência de células F4/80high CCR5+LFA1+. Com relação à expressão de fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina-10 (IL-10), a infecção crônica pelo *T. cruzi* reduziu a frequência de células IL-10+ em F4/80+ e Ly6c+, mas aumentou a frequência de células TNF+ entre F4/80+, e TNF+IL-10+ em células Ly6C. Resultados preliminares mostraram que em camundongos tratados com pentoxifilina, um inibidor de NFkB, houve aumento da expressão de IL-10 em células F4/80+ do baço. Já no tecido cardíaco, a IHQ revelou (1) maior número de células iNOS+, ARG1+ e ARG2+ na fase aguda em comparação à fase crônica da infecção; (2) número de células iNOS+ compatível com o número de células F4/80+; e (3) número de células ARG (I e II) superior ao número de células F4/80+, sugerindo que outras células além dos macrófagos devem expressar ARG I e II neste tecido, possivelmente cardiomiócitos e fibroblastos. O predomínio da expressão de ARG, em relação à iNOS no tecido cardíaco, pode favorecer a persistência do parasito e fibrose. Enquanto o aumento de expressão de CCR5 e LFA-1 em macrófagos no baço, aliado a alta expressão de TNF indica maior capacidade de migração dessa subpopulação, o que pode contribuir para os danos cardíacos na fase crônica da infecção. A expressão de IL-10 ou TNF em diferentes populações abre a possibilidade de terapias que favoreçam população com perfil regulador durante a infecção.

Suporte: PIBIC/CNPq-Fiocruz, BP/CNPq, CNE/FAPERJ, INCTV/CNPq.

## Resumo 040

### Tema – Biologia Celular

#### **Rearranjo de VE- caderina cardíaca e quebra da integridade juncional vascular durante a infecção aguda pelo *Trypanosoma cruzi***

NISIMURA, L.M.1; DE SOUZA, E.M.2; PEREIRA, M, C.3; MESQUITA, L.3; SOARES, R. 3; TIBIRIÇÁ, E.1; GARZONI, L.R.1

1 Laboratório de Investigação Cardiovascular / IOC- RJ

2 Laboratório de Biologia Celular / IOC- RJ

3 Laboratório de Ultraestrutura Celular / IOC- RJ

Caderina- endotelial vascular (VE- caderina) é uma proteína específica de adesão célula-célula do complexo juncional aderente endotelial. Uma vez que, VE- caderina é necessária para integridade da barreira endotelial e para a angiogênese, a sua disponibilidade e função é rigorosamente controlada. A vasculopatia e a inflamação que ocorrem durante a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) resultarão em remodelamento e disfunção cardíaca. Estudos anteriores, incluindo do nosso grupo, demonstraram que a infecção pelo *T. cruzi* altera junções aderentes e junções comunicantes *in vitro* e *in vivo* em cardiomiócitos. Neste trabalho, avaliamos VE- caderina durante a infecção aguda pela cepa Y de *T. cruzi* no coração de camundongos *Swiss Webster*. Immunoblotting revelou redução da expressão de VE- caderina 8 dias após infecção (dpi), que retornou aos níveis de controle após 15 e 22 dpi. A expressão de c - Src foi reduzida 8 dpi e aumentada 15 e 22 dpi, quando comparada com o grupo controle. Análises por imunofluorescência mostraram alterações no padrão de distribuição de VE- caderina cardíaca nos vasos dos camundongos infectados. Além de que, a análise por microscopia eletrônica de transmissão mostraram alterações na integridade juncional das células endoteliais cardíacas durante a infecção pelo *T. cruzi*. De modo que estes dados sugerem que as alterações na expressão de VE- caderina, c - Src e na ultra-estrutura das junções entre as células endoteliais, durante a fase inicial da infecção, pode contribuir para a patogênese de cardiomiopatia de Chagas.

Agências Financiadoras: IOC, POM Fiocruz, FAPERJ, CNPq

## Resumo 049

### Tema – Biologia Celular

#### EFEITOS DO FATOR DE NECROSE TUMORAL NA INFECÇÃO DE ASTRÓCITOS MURINOS PELO *TRYPANOSOMA CRUZI*

Silva RR,<sup>1</sup> Silva AA,<sup>1,2</sup> Moreira OC,<sup>3</sup> Lannes-Vieira J,<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia das Interações/IOC/RJ;

<sup>2</sup>Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina/UFF/RJ;

<sup>3</sup>Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas/OC/RJ.

[rafaelrs@ioc.fiocruz.br](mailto:rafaelrs@ioc.fiocruz.br)

O comprometimento do sistema nervoso central (SNC) na doença de Chagas (DC) foi estabelecido por Carlos Chagas, a partir de estudos histopatológicos em fase aguda da doença. Como a maioria das alterações neurológicas desaparece espontaneamente ainda na fase aguda, foi, por muito tempo, consenso a não existência da forma nervosa crônica na DC. Contudo, a existência de quadros de alterações comportamentais e a reativação da infecção, de modo preferencial no SNC, em indivíduos cronicamente infectados pelo *T. cruzi* e imunocomprometidos (neoplasias, co-infecção pelo HIV, tratamento com imunossupressores, submetidos a transplantes de órgãos ou desnutridos) levam à proposta de existência de forma nervosa crônica da DC. Ainda não estão esclarecidos (i) os mecanismos que favorecem a persistência do *T. cruzi* no tecido nervoso e (ii) os mecanismos patogênicos das lesões encefálicas agudas, que não evoluem para inflamação crônica no SNC, apesar de frequente evolução para a miocardite crônica. Neste trabalho, investigamos os efeitos do fator de necrose tumoral (TNF) na infecção de astrócitos (principais células gliais do SNC) pelo *T. cruzi*, com análise das taxas de infecção e da produção de mediadores inflamatórios. Foram utilizados cultivos primários de astrócitos (acima de 95% de enriquecimento) de animais C57BL/6, tratados ou não com TNF antes e/ou após a infecção com tripomastigotas da cepa Colombiana do *T. cruzi*. Confirmamos que astrócitos são susceptíveis à infecção pelo *T. cruzi*. As taxas de infecção sofreram influência do tempo de interação parasito-célula hospedeira e da multiplicidade da infecção (MOI), sendo aumentadas pelo pré-tratamento dos astrócitos com TNF, de maneira dependente de concentração. Observamos aumento na expressão dos mRNAs de TNF e de seus receptores (TNFR1 e TNFR2) em cultivos de astrócitos infectados pelo *T. cruzi*, o que foi ainda maior quando a infecção ocorreu na presença de TNF. De modo interessante, pentoxifilina, inibidor de expressão de receptores de TNFR1, reduziu significativamente ( $P < 0.05$ ) o número de amastigotas/célula e a porcentagem de células infectadas em cultivos pré-tratados com TNF. Por fim, detectamos níveis elevados de TNF e IL-6 em sobrenadantes de astrócitos infectados pelo *T. cruzi*, que foram ainda maiores na infecção em presença de TNF. Nossos dados sugerem ser o TNF um possível facilitador da entrada do *T. cruzi* em astrócitos, os quais respondem expressando TNF e seus receptores. Essa resposta possivelmente contribui para manter um ambiente inflamatório no SNC e facilita a persistência do *T. cruzi* nessa área, albergado em astrócitos.

**Suporte Financeiro:** CAPES, CNPq.

## Resumo 081

### Tema – Biologia Celular

#### **A resposta imune adaptativa em modelo de infecção subcutânea pelo *Trypanosoma cruzi* é modulada por vias inatas interdependentes que envolvem a sinalização de C5a e bradicinina**

Veronica Schmitz<sup>\*,\*\*</sup>, Larissa Nogueira Almeida<sup>\*\*</sup>, Erik Svensjö<sup>\*\*</sup>, Ana Carolina Monteiro<sup>\*\*</sup>, Jörg Köhl<sup>||, #</sup> & Julio Scharfstein<sup>\*\*</sup>

\*Laboratório de Biologia das Interações, IOC, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil.

\*\*Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil.

||Division of Cellular and Molecular Immunology, Cincinnati Children's Hospital Medical Center and University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati, OH, USA #Institute for Systemic Inflammation Research, University of Lübeck, Lübeck, Germany.

A premissa de que células dendríticas imaturas pudessem ser sensibilizadas através da ativação de receptores B<sub>2</sub> (B<sub>2</sub>R) após a liberação de cininas foi demonstrada em modelo murino subcutâneo experimental de Doença de Chagas. Análises *in vivo* e *in vitro* da resposta inflamatória desencadeada por tripomastigotas de cultura de tecidos (TCT) demonstrou que receptores do tipo toll 2e neutrófilos dirigem o efluxo de proteínas plasmáticas, incluindo os cininogênios, para tecidos periféricos permitindo que a cruzipaina, a cisteína protease majoritária de *T. cruzi*, mediasse à liberação de cininas. Atuando como sinais de perigo, as cininas ativam células dendríticas via B<sub>2</sub>R e induzem uma resposta adaptativa do tipo 1. Considerando que a entrada de plasma no tecido é fundamental para a resposta inflamatória, nos perguntamos se a proteína C5 do complemento poderia sofrer ação da cruzipaina, liberando C5a e em seguida levando a ativação de receptores de C5a (C5aR) nos tecidos. Através de microscopia intravital na bolsa da bochecha do hamster demonstramos que TCT induziram o extravasamento de plasma e que essa resposta foi bloqueada com o uso do antagonista seletivo de C5aR (C5aRA). A análise por Elisa do sobrenadante de TCT incubados com C5 demonstrou que a liberação de C5a ocorre a partir da atividade da cruzipaina. Ensaios de invasão *in vitro* demonstraram que o bloqueio de C5aR reduz significativamente a entrada de TCT em macrófagos residentes peritoneais e em linhagens de células endoteliais. Estudos em camundongos infectados com TCT pela rota subcutânea demonstram que C5aRA inibe a resposta edematogênica. As respostas secundárias *in vitro* 30 dias após a infecção com células do linfonodo na presença de antígeno de *T. cruzi* demonstrou que a produção de IFN- $\gamma$  foi bloqueada nos animais tratados com C5aRA e que a produção de IL-4 foi aumentada. Em conjunto, esses achados sugerem que a ativação de C5a/C5aR interferem na resposta do tipo 1 induzida por TCT Dm28c. Em síntese, foram demonstradas evidências de que C5aR regula a imunidade inata e adaptativa da infecção pelo *T. cruzi*.

## Resumo 086

### Tema – Biologia Celular

#### Efeito da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* sobre fibroblastos cardíacos *in vitro*

Laura Lacerda Coelho<sup>1,5</sup>; Daniel Adesse<sup>2</sup>; Patrícia Melo Ferrão<sup>1,3</sup>; Alanderson da Rocha Nogueira<sup>4</sup>; Joseli Lannes- Vieira<sup>5</sup>; Luciana Ribeiro Garzoni<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Investigação Cardiovascular/IOC/RJ; <sup>2</sup>Laboratório de Biologia Estrutural/IOC/RJ; <sup>3</sup>Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática/IOC/RJ;

<sup>4</sup>Laboratório de Ultra-estrutura Celular/IOC/RJ; <sup>5</sup>Laboratório de Biologia das Interações/IOC/RJ

A cardiomiopatia, principal manifestação da doença de Chagas, é caracterizada por parasitismo, inflamação e fibrose progressiva. Neste projeto nosso objetivo é investigar os mecanismos envolvidos na geração de fibrose cardíaca induzida pelo *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), agente etiológico da doença. Para tal, estudamos o efeito da infecção pelo parasito sobre fibroblastos cardíacos. Utilizamos parasitas de massa (provenientes de sangue de camundongos infectados) ou de cultura de células Vero. Analisamos, por microscopia de fluorescência (DAPI), a proliferação dos fibroblastos cardíacos e avaliamos através de western blot (*in vitro* e *in vivo*) e imunofluorescência a expressão de  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) e fibronectina (FBN). A análise de proliferação indicou que após 72 horas de infecção não houve diferença no número de células por campo, quando comparamos culturas controles e infectadas, fazendo-nos questionar sobre o balanço entre proliferação morte celular (n=3). Observamos, por western blot (n=4), uma regulação negativa da expressão de  $\alpha$ -SMA, durante a cinética (6h-72h), sugerindo ativação nos tempos iniciais e possível degradação do citoesqueleto no percurso da infecção. No entanto, verificamos por imunofluorescência (n=3) no tempo de 72hpi, um aumento no percentual de células fortemente marcadas nas culturas infectadas e um padrão heterogêneo na marcação. Nossos resultados de imunofluorescência (n=3) para FBN, demonstraram que não há variação na quantidade de células marcadas entre as culturas controle e infectada nos tempos estudados (6h-72). Contudo, verificamos por western blot (n=4), um aumento na expressão desta proteína no tempo de 48hpi, sugerindo, mais uma vez, ativação. No modelo murino, verificamos por western blot (n=5), que a infecção pelo *T. cruzi* (cepa Y) induziu aumento da expressão de fibronectina e  $\alpha$ -SMA, principalmente no 15<sup>o</sup> e 22<sup>o</sup>dpi. Sendo mais acentuado no 15<sup>o</sup>dpi, tempo em que ocorre pico da inflamação e do parasitismo cardíaco, nos levando a questionar se o fator regulador seria a inflamação. Outros experimentos estão sendo analisados para que possamos confirmar os dados obtidos até o momento e nosso próximo objetivo será investigar o papel da inflamação (citocinas - IFN $\gamma$ , TNF e TGF- $\beta$ ) sobre a ativação dos fibroblastos cardíacos durante a infecção pelo *T. cruzi*. Esperamos que com o presente estudo possamos ajudar a elucidar os mecanismos envolvidos na gênese da fibrose observada na cardiomiopatia chagásica.

## Resumo 093

### Tema – Biologia Celular

#### ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS DE LIGAÇÃO À HEPARINA EM TRIPOMASTIGOTAS DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

Amanda R. Tucci<sup>1</sup>, Francisco O. R. Oliveira Jr<sup>1</sup>, Patricia S. Oliveira<sup>1</sup>, Leny Toma<sup>2</sup>, Jacenir R. Santos-Mallet<sup>3</sup> & Mirian Claudia. S. Pereira<sup>1</sup>

Email: [atucci@ioc.fiocruz.br](mailto:atucci@ioc.fiocruz.br)

<sup>1</sup>Laboratório de Ultra-estrutura Celular, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, RJ

<sup>2</sup>Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de São Paulo, SP

<sup>3</sup>Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, RJ

Proteínas de ligação à heparina (PLHs) desempenham importante papel no reconhecimento e invasão de patógenos intracelulares. A ligação entre PLHs e proteoglicanos de heparan sulfato (PGHS) na superfície de células de mamíferos medeia invasão de formas tripomastigotas e amastigotas de *Trypanosoma cruzi* (clone Dm28c) em cardiomiócitos. O mecanismo de invasão disparado pela interação PLHs-PGHS, assim como a presença de PLHs em *T. cruzi* de diferentes linhagens (TCI e TCII) ainda não foi evidenciado. Neste estudo, avaliamos a expressão de PLHs em tripomastigotas derivados de cultivo celular e metacíclicos de *T. cruzi* cepa Y e SMM-36 (isolado de *Triatoma vitticeps* da região de Santa Maria Madalena, RJ). Para avaliar a expressão e localização subcelular de PLHs em *T. cruzi*, tripomastigotas ( $4 \times 10^6$ ) foram incubados por 1h no gelo com 20µg/ml de heparina ou heparan sulfato (HS) conjugados à biotina e processados para citometria de fluxo e fluorescência. As análises por citometria de fluxo revelaram uma expressão diferencial de PLHs entre as formas tripomastigotas (derivados de cultivo celular e metacíclicos) nas diferentes cepas do *T. cruzi*. Ainda, nossos resultados revelaram que as formas metacíclicas (Y e SMM36) apresentaram cerca de 90% da população positiva para gp82 e sugere reatividade reduzida para heparina nestes parasitos. Ensaio de competição com glicosaminoglicanos (GAGs) e aplicação de modelo celular deficiente em GAGs serão aplicados para avaliar o papel de PLHs na invasão das diferentes linhagens de *T. cruzi*.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*; Glicosaminoglicanos; Reconhecimento Celular.

Apoio financeiro: Fiocruz; FAPERJ; CNPq; PAPES VI

## Resumo 096

### Tema – Biologia Celular

#### **PAPEL DIFERENCIAL DO TGF- $\beta$ NA REGULAÇÃO DA MATRIZ EXTRACELULAR DURANTE INTERAÇÃO *TRYPANOSOMA CRUZI*-CÉLULA HOSPEDEIRA**

**Tatiana Araújo Silva, Mirian Cláudia de Souza Pereira e Cláudia Magalhães Calvet.**

Laboratório de Ultra-estrutura Celular, Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

tatibio86@gmail.com

A doença de Chagas é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Além de causar cardiomiopatia, a infecção pelo *T. cruzi* também afeta o tecido muscular esquelético. O acúmulo de matriz extracelular (MEC) está envolvido com a patogenia da doença de Chagas, mas seus mecanismos de regulação durante a infecção ainda não estão elucidados. Assim, nós propomos a comparar a resposta de cardiomiócitos (CM), fibroblastos cardíacos (FC) e mioblastos esqueléticos (L6E9) infectados pelo *T. cruzi* frente ao estímulo de TGF- $\beta$ , que é uma importante citocina fibrogênica envolvida no desenvolvimento da cardiomiopatia chagásica, analisando também os mecanismos de sinalização envolvidos neste processo. Culturas de CM, FC e L6E9 normais e infectados pelo *T. cruzi* (cepa Y) foram tratadas por 48h com TGF- $\beta$  (1, 5 e 10 ng/ml) e a expressão de fibronectina (FN) foi analisada por imunofluorescência indireta e Western blot após 72h de infecção. FC e L6E9 tratados a partir de 1ng/ml de TGF- $\beta$  apresentam um aumento na expressão de FN, em contraste com CM, em que só foi observado aumento após tratamento com 15ng/ml. Após infecção pelo *T. cruzi*, foi observada uma redução e desorganização de FN em CM e L6E9 enquanto resultados preliminares sugerem que FC apresentam perfil de FN similar ao controle. Nossos resultados também revelam que esta resposta diferencial resulta de mecanismos distintos de sinalização intracelular de TGF- $\beta$ , uma vez que FC e L6E9 apresentam maior disparo da via de SMADs que CM, enquanto vias independentes de SMADs como p38 são menos estimuladas em FC. Assim, nossos dados abrem novas perspectivas para identificação de alvos terapêuticos contra a fibrose chagásica para avaliar as alterações nas vias de sinalização do TGF- $\beta$  e mecanismos que resultam na redução de matriz em células infectadas, incluindo alterações do citoesqueleto e modulação de receptores.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*; TGF- $\beta$ ; MEC; Vias de sinalização.

Apoio financeiro: Fiocruz; FAPERJ; CAPES; PAPES VI

## Resumo 130 (Apresentação Oral)

### Tema – Biologia Celular

#### **Cruzipaína participa no processo de invasão de *T. cruzi* através da ativação de TGF-beta latente das células hospedeiras**

Ferrão, PM<sup>1,2</sup>, d'Avila-Levy CM<sup>3</sup>, Araujo-Jorge, TC<sup>4</sup>, Degrave, WM<sup>1</sup>, Garzoni, LR<sup>2,9</sup>, Lima AP<sup>5</sup>, Feige, JJ<sup>6,7,8</sup>, Bailly, S<sup>6,7,8</sup>, Mendonça- Lima, L<sup>1</sup> and Waghbi, MC<sup>1,9</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática, <sup>2</sup>Laboratório de Investigação Cardiovascular, <sup>3</sup>Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas, <sup>4</sup>Laboratório de Inovações em Terapias, Ensino e Bioprodutos, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro RJ 20045-900, Brazil, <sup>5</sup>Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Peptidases, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil. <sup>6</sup>INSERM, Unité 1036, Grenoble, F-38054, France, <sup>7</sup>Université Grenoble-Alpes - Grenoble, F-38041, France, <sup>8</sup>CEA, DSV, iRTSV, Laboratory of Biology of Cancer and Infection, Grenoble, F-38054, France; <sup>9</sup>Programa Integrado de doença de Chagas da Fiocruz.

Vários estudos indicam que a atividade da principal cisteína peptidase de *Trypanosoma cruzi*, a cruzipaína, contribui para a infectividade do parasito. Também foi descrito que o processo de invasão dos parasitos às células hospedeiras de mamíferos é dependente da ativação da via de sinalização de TGF- $\beta$ . Neste trabalho testamos a hipótese de que a cruzipaína pode ser um importante ativador de TGF- $\beta$  latente e, assim, mediar os eventos cruciais disparados por TGF- $\beta$  durante o desenvolvimento da doença de Chagas. Estudamos as formas epimastigotas de *T. cruzi* e observamos que elas são capazes de ativar TGF- $\beta$  latente *in vitro*. Vimos também que tanto lisados de epimastigotas como a cruzipaína purificada são capazes de ativar TGF- $\beta$  latente *in vitro* e que esta ativação, em ambos os casos, pode ser inibida com o uso do inibidor de cisteína peptidase Z-Phe-Ala-FMK, reforçando a ideia de que epimastigotas de *T. cruzi* ativam TGF- $\beta$  latente via cisteína peptidases. Além disso, observamos que parasitos transfectados que superexpressam chagasina – um potente inibidor endógeno da cruzipaína – apresentam reduzida capacidade de ativação de TGF- $\beta$  latente, muito provavelmente por apresentarem a maior parte de sua cruzipaína na forma precursora. Demonstramos ainda que a adição de cruzipaína purificada às culturas de células Vero aumenta a capacidade invasiva de tripomastigotas de *T. cruzi* e que este efeito pode ser inibido pela adição de um anticorpo neutralizante anti-TGF- $\beta$ . Reciprocamente, a adição de TGF- $\beta$  latente aumenta o número de células infectadas e este efeito é inibido pela adição de Z-Phe-Ala-FMK às culturas. Em conjunto, estes dados mostram que as atividades de cruzipaína e TGF- $\beta$  no processo de invasão celular estão funcionalmente ligadas. Nossos achados sugerem que o uso de compostos anti-cruzipaína podem ser considerados para a terapia da doença de Chagas, não somente pela sua atividade tripanossomicida, mas também pelo seu efeito inibitório sobre a ativação de TGF- $\beta$ .

## Resumo 034

### Tema – Comportamento do Hospedeiro

Caracterização do perfil comportamental de ansiedade na infecção experimental pelo  
*Trypanosoma cruzi*

Maralice Gilla P. Da Silva, Glauca Vilar Pereira, Joseli Lannes Vieira

Laboratório das Interações/IOC –Rio de Janeiro

Desde a descoberta da doença de Chagas, sabe-se que o *Trypanosoma cruzi* causa danos no tecido cardíaco, digestivo e no sistema nervoso central (SNC). Entretanto, pouco se sabe a respeito das lesões histológicas no SNC e da sua gênese. Tem sido dada atenção ao estudo das alterações ocorridas no coração, principal órgão acometido, contudo o comprometimento do SNC durante a fase aguda foi bem documentado, principalmente em modelo felino e canino. O parasito pode ser observado dentro de células endoteliais e gliais, como os astrócitos e micróglias, e em alguns casos em neurônios. Os infiltrados inflamatórios apresentaram-se multifocais (em meninges, leptomeninges e espaços perivasculares) de intensidade e distribuição variadas. O comprometimento do SNC durante a infecção chagásica é frequente em indivíduos abaixo de dois anos de idade e em indivíduos imunocomprometidos, como os submetidos a transplantes, pacientes com neoplasias ou que desenvolvem a AIDS. É possível observar sintomas como alterações cognitivas, motoras e psíquicas após a fase aguda da doença. Portanto o presente trabalho tem como objetivo estabelecer modelos que reproduzam aspectos de ansiedade na infecção experimental e avaliar o papel do parasito no desenvolvimento desta alteração comportamental. Para tal animais C57BL/6 são submetidos à infecção, com 100 formas tripomastigotas da cepa Colombiana do *T. cruzi*, tratados com a droga tripanossomicida (Benznidazol; Bz), avaliados junto aos seus respectivos grupos controles. A parasitemia é determinada e utilizada como parâmetro para definição dos estágios da infecção experimental pelo *T. cruzi*. Para avaliação do perfil de ansiedade os animais são submetidos aos testes comportamentais de labirinto em cruz elevado e teste de esconder esferas e analisados em diferentes momentos da infecção aguda e crônica. Nossos dados preliminares indicaram um perfil de ansiedade, através do teste do campo aberto, nos camundongos C57BL/6 quando comparados aos animais não infectados, seja na fase aguda ou crônica da infecção.

## Resumo 050

### Tema – Comportamento do Vetor

#### Estudo populacional e aspectos biológicos de *Triatoma sordida* no bioma de cerrado brasileiro

Edson Santos Dantas<sup>1</sup>, Fernando Araujo Monteiro<sup>1</sup> e Rafael Maciel de Freitas<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Transmissores de Hematozoários, Instituto Oswaldo Cruz—Fiocruz, Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro, RJ 21045-900, Brazil

<sup>2</sup> Laboratório de Epidemiologia e Sistemática Molecular, Instituto Oswaldo Cruz—Fiocruz, Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro, RJ 21045-900, Brazil

Uma vez que a atividade de controle dos triatomíneos, vetores do *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, se mostra de difícil êxito, o maior conhecimento da biologia desses vetores pode fornecer novos subsídios para o desenvolvimento de ferramentas de controle mais eficientes e bem-sucedidas. Estudos de campo com triatomíneos vetores são escassos e, quando realizados, geralmente levam em consideração os insetos em sua fase adulta, negligenciando assim as fases de ninfa. Além disso, grande parte dos estudos de campo têm utilizado ferramentas bioquímicas ou moleculares para avaliar aspectos da ecologia destes vetores, tais como movimentação entre os ambientes intradomiciliar, peridomicíliar e silvestre. Através do método de marcação, soltura e recaptura (MSR), pretendemos investigar a capacidade de dispersão, movimentação entre os ambientes domiciliar e silvestre, tamanho populacional e dinâmica temporal de exploração do peridomicílio, assim como a capacidade de recolonização do mesmo por *Triatoma sordida*. Para tal, os insetos serão marcados com pó fluorescente quando estiverem adultos e com elementos-traço quando ainda estiverem como ninfas. Para *T. sordida*, observamos que os elementos Cr, Cd e Cu apresentaram-se em concentrações próximas de zero neste inseto. Nosso objetivo será liberar ninfas a distâncias variadas do peridomicílio (galinheiro), entre 5 e 100m, sendo que os insetos de cada ponto serão marcados com um elemento-traço distinto. As coletas dar-se-ão a cada 15 dias, aproximadamente. A coleta dos insetos será realizada através de busca ativa no peridomicílio e no domicílio. Os insetos capturados serão trazidos ao Rio de Janeiro e analisados para presença do elemento-traço por um espectrofotômetro de emissão atômica. De posse dessas informações vamos estimar a qual distância barbeiros são capazes de recolonizar o peridomicílio ou invadir o domicílio. Em um segundo momento, propomos realizar múltiplas capturas de adultos e estimar aspectos como densidade populacional, sobrevivência e recrutamento desse vetor na área de estudo. Os barbeiros nativos de campo, ou seja, livres da marcação com elementos-traço, terão sua estruturação genética e determinação de haplótipos pela análise de microssatélite. Posteriormente, iremos comparar a dispersão medida de maneira direta (MSR) com uma metodologia indireta (microssatélite). Investigando alguns aspectos da biologia e ecologia de barbeiros do cerrado esperamos melhor compreender a epidemiologia da doença de Chagas nesse ecótono.

## Resumo 127

### Tema – Comportamento do Vetor

#### Suscetibilidade de *Triatoma brasiliensis brasiliensis*, *Triatoma juazeirensis* e seus híbridos experimentais à infecção por *Trypanosoma cruzi*, Nathália Correia<sup>1</sup>, Teresa Cristina Monte Gonçalves<sup>2</sup>, Carlos José de Carvalho Moreira<sup>3</sup>, Jane Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biodiversidade Entomológica, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Transmissores de Leishmanioses, Setor de Entomologia Médica e Forense, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>3</sup>Laboratório de Doenças Parasitárias, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil. [nathcor@gmail.com](mailto:nathcor@gmail.com); [n.correia@ioc.fiocruz.br](mailto:n.correia@ioc.fiocruz.br).

Evidências apontam para a ocorrência de um processo de especiação híbrida homoploidal no complexo *T. brasiliensis*, relacionado à *T. juazeirensis* e *T. brasiliensis*, originando *T. b. macromelasoma* (Costa *et al.* 2009). No estado de Pernambuco, área de ocorrência de *T. b. macromelasoma*, treze fenótipos diferentes de *T. brasiliensis* foram capturados em ecótopos artificiais e naturais o que também reforça que esse estado representa uma área de hibridação natural, estando geograficamente localizado entre as áreas de distribuição de *T. juazeirensis* e *T. brasiliensis* (Costa *et al.* 2014), Estes fenótipos apresentaram baixíssima porcentagem de infecção natural em comparação aos observados para outros membros do complexo *T. brasiliensis* (Gumiel 2011). Porém, outros estudos (Herrera-Aguilar *et al.* 2009; Martínez-Ibarra *et al.* 2010) mostraram que híbridos naturais podem apresentar maior suscetibilidade à infecção por *T. cruzi* do que as espécies parentais. Neste trabalho, testamos a suscetibilidade de híbridos experimentais e das espécies parentais (*T. juazeirensis* e *T. brasiliensis*) à infecção pelo agente etiológico da doença de Chagas. Foram separadas e sexadas trinta ninfas de 5º estágio de *T. b. brasiliensis* (Caicó-RN) e *T. juazeirensis* (Juazeiro-BA), formaram-se casais para a realização dos cruzamentos entre as espécies. Os híbridos F1 obtidos dos cruzamentos ♀ *T. brasiliensis* x ♂ *T. juazeirensis* e a combinação inversa foram acompanhados até sua ecdise para ninfas de 5º estágio. Estas foram mantidas em jejum até a realização do repasto sanguíneo infectado com *T. cruzi*. Os dois grupos foram artificialmente alimentados com 10 ml sangue de coelho citratado com  $1,5 \times 10^7$  de parasito em forma epimastigota da cepa (Tcl) isolada de *T. brasiliensis* provenientes de Caicó. O mesmo procedimento será realizado com *T. b. brasiliensis*, *T. juazeirensis*. O tubo digestório foi seccionado em três segmentos: estômago, intestino e ampola retal. A contagem de *T. cruzi* foi realizada em câmara de Neubauer, nos 10º e 20º dias após a alimentação infectante (Perlowagora-Szumlewicz & Moreira 1994; Mello *et al.* 1996; Carvalho-Moreira *et al.* 2003; Araújo *et al.* 2008). Os híbridos de ambos os cruzamentos apresentaram infecção durante os 20 dias após alimentação infectiva, sendo encontradas primordialmente as formas epimastigotas nas três porções do tubo digestivo. Nos híbridos de ♀ *T. b. brasiliensis* x ♂ *T. juazeirensis* observamos maior taxa de epimastigotas (76,2-84,5%) no estômago, em comparação às formas transitórias (9,0-11,4%) e tripomastigotas metacíclicos (6,5-12,3%) assim como nos híbridos de ♀ *T. juazeirensis* x ♂ *T. brasiliensis* com 77,2-87,9% de formas epimastigotas, 6,5-12,8% formas transitórias e 5,7-10% tripomastigotas metacíclicos. Houve decréscimo de 34,9% de parasitemia do 10º para o 20º dias de infecção. A análise dos resultados para as espécies parentais está em andamento.

**Apoio:** CAPES; FIOCRUZ.

## Resumo 061A

### Tema – Diagnóstico

#### **AVALIAÇÃO DAS 5' UTRS DA FAMÍLIA DE TRANS-SIALIDASES PARA DIFERENCIAÇÃO DOS GRUPOS POPULACIONAIS DE *TRYPANOSOMA CRUZI***

Myllena F A D Melo<sup>1</sup>; Christian M. Probst<sup>2</sup>, Otacilio Moreira<sup>1</sup>; Franklin S Silva<sup>1</sup>;  
Franklyn H

Samudio<sup>1</sup>; Adeilton Brandão<sup>1</sup>; Constança Britto<sup>1</sup>.

1- Instituto Oswaldo Cruz (IOC) - Fiocruz RJ; 2 - Instituto Carlos Chagas (ICC) -  
Fiocruz PR.

A região 5' UTR dos genes de trans-sialidases (TS) de *Trypanosoma cruzi* apresenta variações em sua composição, as quais possibilitariam a caracterização das cepas nas diferentes linhagens ou DTUs – *Discrete Typing Units* (TcI a TcVI). A principal vantagem residiria na utilização de apenas um único marcador, e, por ser genes multicópias, poderiam ser aplicados como alvo molecular em amostras de pacientes com doença de Chagas crônica. Para identificar o polimorfismo nessas regiões, desenhamos iniciadores genéricos, os quais foram capazes de amplificar o segmento da 5'UTR de trans-sialidase de 13 cepas (seis cepas TcI, uma cepa representativa de cada DTU TcII, TcIII, TcIV, TcV e três cepas TcVI). Após a clonagem e sequenciamento convencional, as 501 sequências apresentaram semelhança acima de 90% com 32 genes de TS depositadas no NCBI, localizados em 12 cromossomos e distribuídos nos grupos II, IV, V, VII e VIII de TS. Após o alinhamento das sequências, agrupamos as cepas de acordo com a identidade entre elas através de aplicativos em R. Três ramos foram gerados: (1) com quatro cepas representativas de TcI; (2) com uma cepa cada de TcI, TcII, TcIII, TcIV e as três de TcVI e (3) com uma cepa TcI e outra TcV. Para alcançar melhores agrupamentos das DTUs utilizamos adicionalmente o sequenciamento pelo ION TORRENT, que nos forneceu um número bem maior de sequências TS (5.145.163 leituras), as quais foram editadas e organizadas em grupos similares intracepa. Através da análise por k-means, numa razão de distintos / idênticos e pelo índice de *Jaccard*, foi possível construir uma árvore de identidade entre as cepas através do pacote *PhyIip*. Nossos resultados preliminares possibilitaram diferenciar as 13 cepas de *T. cruzi*, com a formação de nós diferenciados na árvore equivalentes as seis DTUs. Os dados sugerem ser a região 5' UTR de TS um alvo potencial para caracterização molecular de cepas de *T. cruzi*, porém novas análises ampliando o painel de cepas para as DTUs TcII, TcIII, TcIV e TcV, ainda estão sendo realizadas com a finalidade de certificar a acurácia e reprodutibilidade do alvo na diferenciação de DTUs de *T. cruzi*.

**Resumo 072**  
**Tema – Diagnóstico**

**AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE MÉTODOS PARASITOLÓGICOS DIRETOS  
NA DETECÇÃO DO *TRYPANOSOMA CRUZI* DURANTE A FASE AGUDA DA  
INFECÇÃO EM MODELO ANIMAL**

SANTOS, B. A.; MOREIRA, C. J. C.; JUNQUEIRA, A. C. V.

Laboratório de Doenças Parasitárias - FIOCRUZ/IOC

A Doença de Chagas é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e o curso da infecção apresenta 2 fases distintas. A fase inicial ou aguda, caracterizada pela quantidade significativa de parasita, e a fase crônica representada por um número menor de parasitas no sangue circulante. De acordo com o Ministério da Saúde (2013) entre 2000 e 2011 foram registrados no Brasil 1.245 casos de doença de Chagas aguda, sendo 70% (877/1.245) por suspeita de transmissão oral, 7% por transmissão vetorial (92/1.245), e em 22% (276/1.245) não foi identificada a forma de transmissão. O sucesso de cura é maior quando o parasita é identificado na fase inicial da infecção, através dos métodos parasitológicos diretos, sendo recomendado pelo Ministério da Saúde o exame a fresco, a gota espessa, Strout e micro-hematócrito. O objetivo deste trabalho foi avaliar quatro métodos parasitológicos diretos e estabelecer comparativamente o limite de sensibilidade tomando como referência o início e a fase final da parasitemia patente, em coelho experimentalmente infectados com *Trypanosoma cruzi*. Os métodos de escolha foram os preconizados pelo Ministério da Saúde, ou seja, exame a fresco, gota espessa, Strout e o micro-hematócrito. Verificamos a presença do parasito por maior período, utilizando micro-hematócrito, seguido pelo método a fresco. Ambas as técnicas demonstraram que podem ser executadas de maneira simples e eficiente, desde que o laboratório tenha uma centrífuga clínica específica e um microscópio ótico. Embora, o método de Strout utilize um volume maior de sangue e tenha a possibilidade do recurso de concentração de parasitos por dupla centrifugação, apresentou rendimento inferior ao exame da gota espessa. As lâminas preparadas pelo método de Strout e a fresco, quando armazenadas sob-refrigeração e em câmara úmida, apresentaram sinais de ressecamento parcial, porém, com positividade até 24h após a coleta. Os microtubos de micro-hematócrito também foram armazenados e avaliados até 48h com boa visualização do parasito. Os resultados adquiridos demonstraram que não há necessidade de leitura imediata dos exames em laboratórios menos estruturados e poderão contribuir para a melhor escolha do método a ser empregado. APOIO: LABORATÓRIO DE DOENÇAS PARASITÁRIAS-FIOCRUZ/IOC.

## Resumo 073

### Tema – Epidemiologia

#### FATORES ASSOCIADOS AO RISCO PARA A DOENÇA DE CHAGAS EM ÁREAS RURAIS ENDÊMICAS DO MUNICÍPIO DE RUSSAS, CEARÁ: INDICADORES ENTOMOLÓGICOS

Antonia de Castro Ribeiro<sup>1</sup>, Taís Ferreira Gomes<sup>1</sup>, Layla C. V. Nunes<sup>1</sup>, Marcio N. Bóia<sup>2</sup>,  
Filipe A. Carvalho-Costa<sup>2</sup>, Marli Maria Lima<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Ecoepidemiologia de Doença de Chagas, <sup>2</sup>Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios, <sup>3</sup>Laboratório de Sistemática Bioquímica, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Avenida Brasil, 4365, Manguinhos, RJ, Brasil, CEP: 21045-900

**Introdução:** O sucesso no controle de *Triatoma infestans* na década de 2000, até então principal responsável pela transmissão vetorial da doença de Chagas no Brasil, mudou o quadro epidemiológico da doença no país. Porém, a endemia ainda é problema de saúde pública, requerendo constante vigilância dos vetores nativos, que apresentam grande capacidade de colonizar/recolonizar áreas tratadas com inseticida químico. Atualmente, a prevenção está voltada para manutenção dos resultados obtidos, solidificando o controle dos focos residuais de *T. infestans* e impedindo o estabelecimento de novos focos de transmissão vetorial, especialmente por espécies consideradas secundárias (Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2005). *Triatoma brasiliensis* e *T. pseudomaculata* são espécies consideradas secundárias e nativas da região semiárida do Nordeste brasileiro, que representam risco para transmissão natural da doença de Chagas. A região do Baixo Vale do Rio Jaguaribe, Ceará, tem sido considerada endêmica desde os estudos pioneiros de J.E. Alencar, na década de 1940. Estudos atuais nessa região, efetuados pelo Lab. de Ecoepidemiologia da Doença de Chagas, relatam a presença de colônias de triatomíneos no peri e intradomicílio, em áreas rurais dos municípios de Russas e Jaguaruana. O objetivo do presente trabalho foi investigar a fauna triatomínica em seis localidades rurais de Russas e calcular os indicadores entomológicos, conforme estabelecido pela Organização Panamericana de Saúde (OPAS, 2003). **Metodologia:** As buscas de triatomíneos foram efetuadas nos ambientes domiciliares e peridomiciliares durante a estação seca (novembro/dezembro de 2013). **Resultados:** Foram capturados 374 espécimes de triatomíneos, dos quais 86,63% eram *T. brasiliensis*, 10,70% *T. pseudomaculata* e 2,67% *Rhodnius nasutus*. As infestações no peridomicílio ocorreram em currais de cabra/ovelha, galinheiro, poleiro, amontoados de madeira e telhas e em um cajueiro; o maior foco de infestação ocorreu nos amontoados de madeira (39,13%), seguido pelos poleiros (21,74%); apenas em um intradomicílio foi encontrado foco de triatomíneos. Os índices de infestação domiciliar, densidade triatomínica domiciliar e colonização domiciliar foram calculados respectivamente para cada localidade estudada, sendo zero para o Açude Santo Antônio e Timbaúba do Pitingão; 3,13%, 0,25/casa visitada e 3,13% em Capim Grosso; 50,00%, 13,92/casa visitada e 41,67% em Patos do Tito; 30,77%, 6,81/casa visitada e 19,23% em Riacho do Barro; e 62,50%, 2,75/casa visitada e 62,5% em Sítio Maxixe. **Conclusão:** Os resultados mostram que existem áreas infestadas pelos vetores da doença de Chagas na região, apesar do esforço das autoridades de saúde para o controle dos vetores, indicando necessidade de constante vigilância no local.

## Resumo 079

### Tema – Epidemiologia

#### **INCIDÊNCIA DE BARBEIROS INFECTADOS POR *TRYPANOSOMA CRUZI* EM MUNICÍPIOS PIAUIENSES – 2011- 2012**

José Carlos Pereira da Silva Júnior<sup>1</sup>, Géssica Bruna de Oliveira Mendes Silva<sup>1</sup>, Nábila Evelyn Martins<sup>1</sup>, Claudio Angelo Ventura<sup>2</sup>, Ana Carolina Fonseca Lindoso Melo<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Acadêmicos do curso de Biomedicina, <sup>2</sup>Docentes do Curso de Biomedicina da Universidade Federal do Piauí, Campus Parnaíba, Parnaíba – PI.

**Introdução:** A tripanossomíase americana é uma infecção causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, transmitida pelo barbeiro. Cerca de um século após sua descoberta a Doença de Chagas ainda é causa significativa de morbidade e mortalidade em muitos países da América do Sul e Central, com o estimado de 18 milhões de pessoas estejam infectadas. **Objetivo:** Investigar a incidência de triatomíneos infectados pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* nos municípios de Parnaíba, Ilha Grande, Cajueiro da Praia e Bom Princípio do Piauí nos anos de 2011 a 2013. **Metodologia:** Foram realizadas coletas de dados na Secretaria Estadual de Saúde do Piauí (Sesapi) e na Coordenação Regional de Saúde de Parnaíba no período de Janeiro de 2011 a Dezembro de 2012. **Resultados e Discussão:** Do total de 81 casos positivos para barbeiros infectados, no período de estudo, o ano de 2011 representou 29,63% dos casos, 2012 com 48,15% e 2013 com 22,22%. No ano de 2011 dos domicílios existentes nos quatro municípios pesquisados, 1917 foram averiguados. No espaço intradomiciliar foram encontrados 16 barbeiros infectados e no peridomiciliar 8, totalizando um número de 24 casos positivos. No ano de 2012 dos domicílios existentes nos quatro municípios pesquisados, 1756 foram averiguados. No espaço intradomiciliar foram encontrados 33 barbeiros infectados e no peridomiciliar 6, totalizando um número 39 casos positivos. A existência desses casos pode ser explicado dentre outros fatores por um aumento das construções domiciliares, onde as mesmas vem a ocupar o espaço, que antes habitavam esses artrópodes, com isso os mesmos se abrigam nas novas moradias e nos seus arredores. Habitações essas que em alguns casos são rudimentares e oferecem condições favoráveis para o seu desenvolvimento, pois os barbeiros encontram abrigo seguro e alimento abundante representado pelo sangue de animais domésticos e do homem. **Conclusão:** Conclui-se que no período do estudo houve uma variação no número de casos positivos de barbeiros, fator que pode estar relacionado às variações climáticas irregulares presentes na região Nordeste e com mais especificidade no estado do Piauí, onde se alternam em pequenos períodos de chuvas e longos períodos de estiagem.

## Resumo 046

### Tema – Parasito

#### **Metaciclogênese e choque térmico aumentam a expressão gênica da TcNTPDase-1 em *Trypanosoma cruzi*.**

Silva-Gomes, NL<sup>1</sup>; Vidal, VE<sup>1</sup>; Menna-Barreto, RFS<sup>2</sup>; Moreira, OC<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas/ IOC/ FIOCRUZ

<sup>2</sup>Laboratório de Biologia Celular/ IOC/ FIOCRUZ

A doença de Chagas afeta milhões de pessoas nas Américas Central e do Sul e, ainda representa uma séria ameaça à saúde pública. As diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi* envolvidas na infecção e sua distribuição regional, tem sido sugeridas como causa das diferentes manifestações clínicas, resposta ao diagnóstico e eficácia terapêutica. A ecto-NTPDase é uma enzima localizada na superfície externa da membrana plasmática do *T. cruzi*. Estudos anteriores têm relacionado esta enzima à infectividade e virulência de tripanosomatídeos, além de sugerir um papel importante na captação de purinas pelos parasitos. Com o objetivo de investigar o papel desta enzima na virulência e infectividade do *T. cruzi*, avaliamos os níveis de RNAm para TcNTPDase-1 por RT-qPCR em diferentes isolados (Dm28c- *T. cruzi* I; Y- *T. cruzi* II; 3663- *T. cruzi* III; 4167- *T. cruzi* IV; LL014- *T. cruzi* V; CL-14- *T. cruzi* VI- avirulenta), em formas não-infectantes (epimastigotas) e infectantes (tripomastigotas e amastigotas). Para isso, as formas epimastigotas das diferentes cepas foram cultivadas a 28°C em meio BHI suplementado com 10% de SFB e as formas amastigotas e tripomastigotas foram obtidas através de infecção experimental em células VERO, a partir de tripomastigotas obtidos de sangue de camundongo. Os ensaios de PCR em Tempo Real foram realizados com oligonucleotídeos desenhados para amplificar uma sequência de 111pb do gene ecto-NTPDase I de *T. cruzi* e, como controles endógenos, uma sequência de 268pb do gene da Calmodulina de *T. cruzi* e uma sequência de 100pb do gene GAPDH de *T. cruzi* foram utilizados. Nós observamos que epimastigotas das cepas Y, 3663, 4167 e LL014 apresentaram os mesmos níveis de expressão do gene TcNTPDase-1 que o clone CL-14, avirulento. Por outro lado, o clone Dm28c expressou cerca de 8 vezes mais o gene desta enzima. Além disso, observamos que as formas infectantes tripomastigota e amastigota apresentaram, respectivamente, uma expressão 24 e 16 vezes maior que a forma epimastigota. Além disso, observamos que durante a curva de crescimento de formas epimastigotas a 28°C e 37°C a expressão deste gene aumenta gradativamente com o tempo de cultivo, sendo mais pronunciado a 37°C, sugerindo que esta enzima possa ter um papel relevante na adaptação do parasita a temperatura do hospedeiro vertebrado, como também no processo de aquisição de purinas provenientes do hospedeiro. Em conjunto, nossos dados sugerem que a NTPDase-1 estaria envolvida na infectividade e adaptação do parasito ao hospedeiro vertebrado, apresentando potencial para participar de estudos sobre novos alvos para a quimioterapia da Doença de Chagas.

## Resumo 065

### Tema – Parasito

#### DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE TRIATOMÍNEOS INFECTADOS POR *Trypanosoma cruzi*

Paula Finamore Araujo<sup>1</sup>; Thaiane de Sousa Verly<sup>1,2</sup>; Otacilio da Cruz Moreira<sup>1</sup>; Suzete G. Araújo<sup>2</sup>; Jacenir Mallet<sup>3</sup>; Catarina Lopes<sup>3</sup>; Constança Britto<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas – Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ- Rio de Janeiro – Brasil; <sup>2</sup>Laboratório de Biodiversidade de Parasitas e Vetores, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil; <sup>3</sup>Laboratório de Transmissores de Leishmanioses - Setor de Entomologia Médica e Forense. Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ- Rio de Janeiro – Brasil

A doença de Chagas constitui a quarta mais importante doença tropical, suplantada somente pela malária, tuberculose e esquistossomose. Sendo assim, a determinação da taxa de infecção por *Trypanosoma cruzi* nos vetores triatomíneos coletados em regiões do Brasil com diferentes índices de endemicidade é relevante para o melhor conhecimento acerca da epidemiologia da doença de Chagas, contribuindo para a elaboração de programas de controle da disseminação desta doença. O método clássico para descrição de infecção natural de triatomíneos por *T. cruzi* – o exame microscópico – apresenta baixa sensibilidade, baixa reprodutibilidade, dificuldade de exame nos diferentes estágios evolutivos dos insetos vetores, necessidade da análise em insetos frescos, além de ser um procedimento extremamente laborioso e demorado. Neste contexto, a utilização de métodos moleculares baseados em PCR permite a detecção acurada de *T. cruzi* em variadas amostras, como tecidos e fezes de triatomíneos, com elevada sensibilidade e especificidade, tornando viável a elaboração de uma metodologia para avaliar a carga parasitária em triatomíneos infectados com *T. cruzi*. No presente estudo, foram analisados 165 insetos triatomíneos e, após coleta e identificação taxonômica, cada triatomíneo foi dissecado e as amostras de intestino obtidas foram submetidas à extração de DNA genômico utilizando o kit QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN). Foi, então, desenvolvida uma PCR *multiplex* utilizando iniciadores para o alvo kDNA de *T. cruzi* (*primers* 121 e 122) e para o gene correspondente à região 12S do RNA ribossomal de triatomíneos. Dentre os triatomíneos coletados, 17 foram positivos para infecção por *T. cruzi* (10,3%), sendo eles dos gêneros *Triatoma* e *Panstrongylus*, coletados no Ceará, Tocantins, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul e Rio de Janeiro. Para estimar a carga parasitária nas amostras de insetos que foram positivas na PCR convencional, estamos padronizando o ensaio de PCR em Tempo Real pelo sistema TaqMan em *multiplex* utilizando iniciadores com alvos para o gene correspondente à região 12S do RNA ribossomal de triatomíneos e para o DNA nuclear satélite de *T. cruzi*. Foi observada uma linearidade para a quantificação de *T. cruzi* na faixa de 10<sup>5</sup> a 0,5 equivalentes de parasito/mL. Com este estudo esperamos aprimorar o método diagnóstico das infecções naturais de triatomíneos no Brasil, contribuindo de forma significativa para uma vigilância epidemiológica mais eficaz dos insetos vetores.

## Resumo 082

### Tema – Parasito

#### **Avaliação da carga parasitária e tipagem molecular de de *T. cruzi* em amostras sanguíneas de pacientes portadores da Doença de Chagas crônica atendidos pelo ambulatório do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC – FIOCRUZ/ RJ)**

Ícaro Rodrigues<sup>1</sup>, Myllena Melo<sup>1</sup>, Pedro Brasil<sup>2</sup>, Alejandro Hasslocher<sup>2</sup>, Constança Britto<sup>1</sup>, Otacílio Moreira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas (LABIMDOE), Instituto Oswaldo Cruz/RJ; <sup>2</sup>Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) – FIOCRUZ/RJ

A doença de Chagas constitui um grande problema de saúde pública em diversos países da América Latina. Atualmente, estima-se que 7 a 8 milhões de pessoas estejam infectadas e 75 a 90 milhões estejam expostas à doença (WHO, 2013, Coura & Dias, 2009). O *Trypanosoma cruzi*, seu agente etiológico, é representado por um conjunto de populações, denominados isolados ou cepas, que circulam em hospedeiros mamíferos e insetos vetores, apresentando grande heterogeneidade de comportamento biológico como, por exemplo, diferentes níveis de virulência para animais experimentais e humanos, além de variações na sensibilidade a drogas e prognóstico da doença (Campbell et al., 2004). Assim, um grande desafio para a comunidade científica vem sendo identificar marcadores genéticos dos isolados capazes de reuni-los em grupos discretos, visando sua caracterização do ponto de vista epidemiológico e de patogenia. Neste trabalho, utilizamos metodologias baseadas em PCR convencional e PCR em Tempo Real (qPCR) no esforço de realizar a quantificação da carga parasitária e tipagem molecular do parasito diretamente de amostras sanguíneas de pacientes portadores da doença de Chagas crônica. Para isso, foram selecionados 144 pacientes do ambulatório do Instituto de Pesquisa Evandro Chagas, sendo 72 com sorologia positiva e 72 com sorologia negativa, provenientes de diferentes regiões do Brasil e apresentando distintas manifestações clínicas da doença. Para cada paciente, foram coletadas duas amostras, em tempos distintos, antes do início do tratamento. Para o procedimento de extração de DNA das amostras de sangue preservadas em Guanidina-EDTA foi utilizado QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen), seguida da quantificação da carga parasitária por qPCR de acordo com a metodologia padronizada por Moreira et al., 2013, onde foi realizada uma reação em multiplex, com um alvo para o DNA nuclear satélite de *T. cruzi* e um alvo para o gene da RNase P humana, como um controle interno. Até o momento, a PCR em Tempo Real foi realizada para 278 amostras, sendo 89 positivas para *T. cruzi*, apresentando uma variação da carga parasitária de  $0,005 \pm 0,003$  a  $336,09 \pm 48,59$  equivalentes de parasito/mL. Em paralelo, estamos realizando a padronização da genotipagem do parasito a partir das amostras de sangue, baseado nas metodologias descritas por Burgos e Cols. (2010) e Ramirez e Cols. (2010), para investigar a importância do genótipo do parasito no desenvolvimento da doença de Chagas.

## Resumo 083

### Tema – Parasito

#### **BIOSSEGURANÇA NA PESQUISA COM *Trypanosoma cruzi***

Maria Alice do Amaral Kuzel<sup>1</sup>; Kelly Cristina Demarque<sup>1</sup>; Janaína Alves Rangel <sup>2</sup>; Manuella Espíndola Vieira <sup>2</sup>; Maria de Nazaré Correia Soeiro <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Tecnologista em Saúde Pública do Laboratório de Biologia Celular/IOC/FIOCRUZ; <sup>2</sup>Bolsista do Laboratório de Biologia Celular/IOC/FIOCRUZ; <sup>3</sup> Chefe do Laboratório de Biologia Celular/IOC/FIOCRUZ

A classificação de Agentes de Risco Biológicos é o instrumento de orientação oficial do Ministério da Saúde para atividades relativas à biossegurança durante uso e manipulação de agentes biológicos visando mitigar possíveis acidentes e agravos ao homem, animais e o meio ambiente. Nesta classificação os agentes são distribuídos em 4 classes, considerando diferentes aspectos como o risco individual e para comunidade, disponibilidade de medidas profiláticas e/ou terapêuticas, capacidade de causar patologia humana e/ou animal, patogenicidade, transmissibilidade por via aérea, entre outros. Segundo esta classificação o protozoário *Trypanosoma cruzi* é classificado como agente tipo 2 (moderado risco individual e limitado risco para a comunidade). É importante salientar que esta classificação considera apenas os riscos para indivíduos saudáveis, desconsiderando indivíduos imune comprometidos, gestantes/lactantes, portadores de patologias prévias e não inclui a manipulação de cepas do parasito consideradas naturalmente resistentes aos medicamentos disponíveis, entre outros aspectos. As atividades desenvolvidas com este agente de risco, exigem nível de contenção 2 sendo necessário que se atenda certos requisitos de trabalho, que incluem: aplicação das boas condutas laboratoriais; uso de Equipamentos de proteção individuais (jaleco de mangas longas, luvas, óculos/protetor facial, sapatos fechados, entre outros) e coletivos (cabine de segurança biológica, etc); realização de treinamento específico dos funcionários e estudantes; controle de acesso ao laboratório; possuir procedimentos padrões (técnicos e administrativos); manter instalações separadas de demais dependências da edificação; possuir pia específica para lavagem das mãos; possuir autoclave disponível para descontaminação de resíduos; trabalho em cabine de Segurança Biológica Classe II, além de centrifuga com caçapa protegida, entre outros requerimentos. Logicamente, estes são os requisitos mínimos para manipulação de *T. cruzi* e é importante salientar que, dependendo do procedimento ou protocolo de pesquisa, pode ser utilizado maior grau de contenção, como no caso de procedimentos envolvendo um alto potencial para a produção de salpicos ou aerossóis, devendo portanto tais procedimentos e protocolos serem meticulosamente avaliados pelo pesquisador responsável, de forma a garantir a biossegurança da equipe envolvida, da comunidade e meio ambiente, além de contribuir para reprodutibilidade e confiabilidade dos dados gerados no ambiente de trabalho.

## Resumo 131

### Tema – Patologia

#### Autoanticorpos anti-receptores adrenérgicos e muscarínicos na doença de Chagas em modelo canino e sua modulação por Benznidazol

Anissa Daliry<sup>a</sup>, Ivo Santana Caldas<sup>b</sup>, Livia de Figueiredo Diniz<sup>b</sup>, Rosália Moraes Torres<sup>b</sup>, André Talvani<sup>b</sup>, Maria Terezinha Bahia<sup>b</sup> e Antônio Carlos Campos de Carvalho<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil;

<sup>b</sup>Universidade Federal de Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil; <sup>c</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

A doença de Chagas crônica (DCC), causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi*, é um importante problema de saúde pública, porém sua fisiopatologia ainda não é bem entendida. A fase crônica da doença é caracterizada por danos irreversíveis ao coração. A contribuição da autoimunidade aos danos cardíacos observados na DCC tem sido hipotetizada por diferentes autores. Estes estudos demonstram a presença de anticorpos (Ac) no soro de pacientes com DCC, capazes de interagir com diversos receptores cardíacos, incluindo beta-1 adrenérgicos (anti- $\beta$ 1-AR) e muscarínicos M<sub>2</sub> colinérgicos (anti-M<sub>2</sub>-CR) que podem levar a disfunções contráteis, arritmias ventriculares e insuficiência cardíaca. No presente trabalho nós avaliamos a presença e níveis de anticorpos (Ac) anti- $\beta$ 1-AR e anti-M<sub>2</sub>-CR através de ELISA no soro de cães infectados com três diferentes cepas de *T. cruzi* (VL10, AAS e Y) tratados ou não com Benznidazol (Bz) (7 mg/Kg/dia, 60 dias) e correlacionamos com alterações cardíacas avaliadas por eletrocardiograma (ECG). Os níveis de anti- $\beta$ 1-AR apresentaram um padrão similar ao longo do curso da infecção com as três cepas estudadas: surgiram com 30 dpi, diminuíram com 90 dpi e na fase crônica tardia (270 dpi) retornaram aos níveis atingidos durante a fase aguda. Ac anti-M<sub>2</sub>-CR foram detectados na fase aguda de infecção, porém os níveis variaram de acordo com a cepa utilizada: (i) VL10, uma vez aumentados foram mantidos em níveis elevados até a fase crônica, (ii) AAS, apresentou um pico na fase aguda, diminuindo na fase crônica e (iii) Y, foram detectados na fase aguda porém em níveis menores, o que foi mantido na fase crônica inicial (90 dpi) e posteriormente elevado com 270 dpi. O tratamento com Bz dos cães infectados com a cepa VL10 não foi capaz de modular os níveis de Ac anti- $\beta$ 1-AR e anti-M<sub>2</sub>-CR em todos os tempos avaliados, ao passo que também não levou à melhora nos parâmetros eletrocardiográficos. Por outro lado, cães infectados com a cepa AAS tratados com Bz apresentaram uma redução de 48% nos níveis de Ac anti-M<sub>2</sub>-CR com 30 dpi e em paralelo apresentaram uma redução em 80% de alterações eletrocardiográficas. O tratamento com Bz em animais infectados com a cepa Y não induziu nenhuma modulação nos níveis de Ac anti-M<sub>2</sub>-CR, porém reduziu os níveis de Ac anti- $\beta$ 1-AR em 35 e 30%, com 30 e 270 dpi, respectivamente, além de reduzir em 100% as alterações eletrocardiográficas. Concluímos que a modulação dos níveis dos Ac anti- $\beta$ 1-AR e anti-M<sub>2</sub>-CR pelo tratamento com Bz é dependente da cepa de *T. cruzi* e está associada com as alterações eletrocardiográficas.

## Resumo 022

### Tema – Quimioterapia

Atividade do *m-Terphenyl bis-Arylimidamide* sobre diferentes cepas e formas do *Trypanosoma cruzi*

Guedes da Silva, FH,<sup>1</sup>; Da Silva CF<sup>1</sup>; Batista, DGJ<sup>1</sup>; Meuser, MM<sup>1</sup>, Da Silva, PB<sup>1</sup>,  
Oliveira, GM<sup>1</sup>, Patrick, DA<sup>2</sup>; Jones, SK<sup>2</sup>, Tidwell, R<sup>2</sup> e Soeiro MNC<sup>1</sup>.

Lab. Biologia Celular<sup>1</sup>, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil.  
Departamento de Patologia e Laboratório de Medicina da Universidade da Carolina do  
Norte<sup>2</sup> - Chapel Hill, Carolina do Norte, EUA.

A doença de Chagas causada pelo *Trypanosoma cruzi*, é um relevante problema de saúde pública na América Latina, onde cerca de 10 milhões de pessoas estão infectadas. A terapia atual realizada por Benznidazol ( Bz ) e Nifurtimox apresenta limitações, como alta toxicidade e baixo efeito na fase crônica tardia da doença. As amidinas aromáticas, tais como pentamidina, tem sido utilizada na medicina humana e veterinária. As suas principais desvantagens são, a pobre biodisponibilidade e efeitos colaterais adversos. Para superar estas limitações, novos análogos foram sintetizados. As diamidinas e análogos como arylimidamides ( AIAS ) apresentam considerável atividade contra uma grande diversidade de patógenos , o nosso estudo se concentrou na análise do *m-terfenil bis-arylimidamide* ( 35DAP073 ) contra tripomastigotas sanguíneo e formas intracelulares de *T. cruzi* avaliando diferentes cepas em estudos *in vitro* e *in vivo* . O composto 35DAP073 foi muito ativo contra as formas tripomastigotas, conduzindo a valores de IC50 de  $0,5 \pm 0,3$  uM e  $4 \pm 2,8$  uM para as cepas Y e Colombiana, respectivamente, após 24 h de incubação a 37 ° C, sendo mais eficaz em relação ao Bz (  $13 \pm 2$  uM ) . A análise sobre as formas intracelulares ( cepa Tulahuen ), confirmaram a alta atividade, mostrando, após 48 h de tratamento, valores de IC50 de  $0,04 \pm 0,005$  mM, sendo cerca de 100 vezes mais ativo do que Bz (IC50 =  $4,4 \pm 0,8$  mM). Os estudos *in vivo* foram realizados com camundongos Swiss machos infectados com  $10^4$  formas tripomastigotas sanguíneas da cepa Y e tratados ou não com diferentes doses (20 - 5mg/kg por dia), no 5<sup>o</sup> e 8<sup>o</sup> dia pós- infecção ( dpi ) . 35DAP073 apresentou uma resposta dependente da dose, conduzindo a 96, 87 e 46 % de redução da parasitemia de 20, 10 e 5mpk , respectivamente , enquanto que os animais tratados com 100mg/kg/dia de Bz mostrou 99,8 % de supressão da parasitemia . Ambos as doses, 5 e 10 mpk, apresentou 100% de sobrevivência dos animais, resultado similar ao tratamento com Bz. Os nossos resultados sustentam as investigações desta classe de compostos para o desenho e a identificação de novas alternativas para a quimioterapia da doença de Chagas.

Apoiado: CAPES, CNPq, FAPERJ, University of North Carolina, CPDD and FIOCRUZ

## Resumo 043

### Tema – Quimioterapia

#### Eficácia de novas amidinas aromáticas sobre formas tripomastigotas sanguíneas de *Trypanosoma cruzi in vitro*

Simões-Silva, MR<sup>1</sup>; da Silva, PB<sup>1</sup>, Meuser, MB<sup>1</sup>, Boykin, DW<sup>2</sup> e Soeiro, MNC<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Celular/IOC/RJ, Brasil; <sup>2</sup>Department of Chemistry, Georgia State University, Atlanta, Georgia, U.S.A

A doença de Chagas é uma zoonose causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* sendo endêmica em vários países da América Latina. Após 105 anos de sua descoberta por Dr. Carlos Chagas, esta grave patologia ainda apresenta importantes desafios a serem enfrentados, entre eles, a identificação de fármacos mais seletivos e efetivos. De fato, a terapia atual conta com apenas dois medicamentos da classe dos nitroderivados, o Nifurtimox e o Benzonidazol que induzem a ocorrência de frequentes efeitos colaterais, não sendo ativos sobre várias cepas do parasito (resistência natural) além de baixa eficácia sobre a fase tardia da doença (fase crônica). Porém, apesar desta patologia ser um grave problema de saúde pública nos países acometidos, desperta pouca atenção das indústrias farmacêuticas, sendo considerada uma doença de portadores negligenciados. Desta forma, no âmbito de busca por novos agentes tripanocidas, nosso objetivo foi avaliar *in vitro* a atividade biológica de dez amidinas aromáticas recém-sintetizadas. Os ensaios foram realizados sobre formas tripomastigotas sanguíneas de *T. cruzi* da cepa Y, conduzidos a 37°C em meio RPMI por 2h e 24h. Os dados preliminares revelaram a ação anti-*T. cruzi* da DB2267, sendo tempo-dependente, na faixa micromolar ( $EC_{50} = 5,37 \pm 2,97 \mu\text{M}$  e  $EC_{50} = 0,36 \pm 0,24 \mu\text{M}$ ) após 2 e 24h, respectivamente. Outra amidina testada, a DB2236 não apresentou atividade após 2h de incubação, resultando em valores de  $EC_{50} > 32 \mu\text{M}$  embora tenha apresentado ação tripanocida ( $EC_{50} = 4,14 \pm 2,16 \mu\text{M}$ ) superior ao Bz ( $EC_{50} = 8,8 \pm 4,5 \mu\text{M}$ ) após 24 h de exposição. Outro composto que se revelou ativo foi a DB2268, alcançando ação antiparasitária com valor de  $EC_{50} = 2,58 \pm 1,30 \mu\text{M}$  após 24h de exposição ao composto. Considerando as limitações dos medicamentos disponíveis aos pacientes portadores da doença de Chagas, observa-se a necessidade de continuar os estudos *in vitro* de novos agentes tripanocidas visando o desenvolvimento de um novo fármaco alternativo e que possa ser utilizado no tratamento desta doença que é a principal causa de cardiopatia de origem infecciosa.

Suporte financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ e FIOCRUZ.

## Resumo 052

### Tema – Quimioterapia

#### **The biological activity of novel arylimidamides against *Trypanosoma cruzi*: *in vitro* and *in vivo* studies**

De Araújo<sup>1</sup>, J.S.; Da Silva<sup>1</sup>, C.F.; Batista<sup>1</sup>, D.G.J.; Da Silva<sup>1</sup>, P.B.; Meuser<sup>1</sup>, M.; Aiub<sup>2</sup>, C.A.F.; da Silva<sup>2</sup>, M.F.V.; Araújo-Lima<sup>3</sup>, C.F., Banerjee<sup>4</sup>, M., Farahat<sup>4,5</sup>, A. A., Stephens<sup>6</sup>, C. E., Kumar<sup>4</sup>, A., Boykin<sup>4</sup>, D.W., and Soeiro<sup>1</sup>, M.N.C.

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil; <sup>2</sup>Departamento de Genética e Biologia Molecular, <sup>3</sup>Departamento de Biofísica e Biometria, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil and <sup>4</sup>Department of Chemistry, Georgia State University, Atlanta, Georgia, 30302 USA. <sup>5</sup>Department of Pharmaceutical Organic Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mansoura University, Mansoura 35516, Egypt <sup>6</sup>Department of Chemistry and Physics, Georgia Regents University, 2500 Walton Way, Augusta, GA 30904 USA

Chagas disease, caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, represents an important public health problem in Latin America and its current clinical treatment, based on Nifurtimox and Benznidazole (BZ), is unsatisfactory. These facts validate the search for new alternative therapies. In this context the biological activity of fifteen novel arylimidamides (AIAs) (dications: DB1966, DB1967, DB1968, DB1979, DB1989, DB1995 and monocations: DB1980, DB1996, DB1997, DB2001, DB2002, DB2003, DB2004, DB2006 and DB2007) were assayed against *T. cruzi in vitro* and DB1967 and DB1989 were evaluated *in vivo*. The results show that dicationic bis-AIAs are significantly more active on bloodstream and intracellular forms of the parasite than the monocationic compounds. All bis-AIAs were more active than BZ, and the most effective ones (DB1967 and DB1989) showed reasonable selectivity indexes encouraging further study using animal experimental models for the acute *T. cruzi* infection. *In vivo* studies showed that although both bis-AIAs reduced parasitemia levels, protection against animal mortality was not achieved as compared to BZ. Our data reveal excellent *in vitro* trypanocidal activity of arylimidamides and the requirement of two cationic terminal units for the maintenance of efficacy against *T. cruzi*. Thus, the synthesis of new AIAs which maintain activity and show reduced toxicity is needed to achieve the goal of identifying new alternatives for treatment of Chagas disease.

## Resumo 068

### Tema – Quimioterapia

#### **Estudos *in vitro* e *in vivo* de Lactonas Sesquiterpênicas sobre *Trypanosoma cruzi***

Cristiane França da Silva<sup>1</sup>, Denise da Gama Jaen Batista<sup>1</sup>, Julianna Araujo Siciliano<sup>1</sup>, Marcos Meuser Batista<sup>1</sup>, Jessica Lionel<sup>1</sup>, Elen Mello de Souza<sup>1</sup>, Erica Ripoll Hammer<sup>1</sup>, Patricia Bernardino da Silva<sup>1</sup>, Maria De Mieri<sup>2</sup>, Michael Adams<sup>2</sup>, Stefanie Zimmermann<sup>2,3</sup>, Matthias Hamburger<sup>2</sup>, Reto Brun<sup>3</sup>, Wolfgang Schühly<sup>4</sup>, and Maria de Nazaré Correia Soeiro<sup>1#</sup>

1Laboratório de Biologia Celular, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil; 2 Department of Pharmaceutical Sciences, Pharmaceutical Biology, University of Basel, Switzerland; 3 Department of Medical Parasitology and Infection Biology, Swiss Tropical and Public Health Institute, Basel, Switzerland; 4 Institute of Zoology, University of Graz, Graz, Austria

Tripanosomíase Americana, também conhecida como Doença de Chagas é uma enfermidade negligenciada causada pelo *Trypanosoma cruzi*. Devido a sua quimioterapia insatisfatória, principalmente na fase crônica, há uma intensa procura por novos compostos. Moléculas bioativas, incluindo aquelas extraídas e purificadas a partir de fontes botânica, como as lactonas sesquiterpênicas (SLs), representam uma excelente fonte de promissores novos agentes antitumorais, anti-inflamatórios e antiparasitários. Neste sentido, a atividade de duas novas SLs, a psilostaquina A e cinaropicrina foram avaliados *in vitro* e *in vivo*. Os ensaios *in vitro* demonstraram que cinaropicrina foi mais eficaz que psilostaquina A sobre formas tripomastigotas sanguíneas. As alterações ultraestruturais induzidas por cinaropicrina incluíram o desprendimento de grandes porções da membrana plasmática, vacuolização e indução de grandes vacúolos ricos em estruturas membranosas, sugestivo de morte por autofagia. Estudos de toxicidade aguda mostrou morte (1 de 2 animais) com a maior dose testada (400 mpk via intraperitoneal (ip) de cinaropicrina. Embora não houvesse alterações significativas nos níveis plasmáticos de ALT, CK e ureia, a histopatologia revelou que o fígado foi o órgão mais reativo dos animais tratados com cinaropicrina, com efeito dose-dependente. Embora cinaropicrina tenha sido igualmente ativo sobre formas sanguíneas em relação ao benznidazole (Bz) *in vitro*, tratamento administrado por 5 dias consecutivos (uma vez ao dia) com doses não tóxicas de cinaropicrina ( $\leq 50$ mpk) não foi capaz de suprimir a parasitemia ou proteger contra a mortalidade induzida pela infecção pela cepa Y. Frente as características farmacológicas do composto, seguimos tratamento de camundongos infectados com a cepa colombiana e tratados na dose de 25mpk administradas duas vezes ao dia (bid). Entretanto, devido a alterações no perfil neurológico, os animais foram eutanaziados após o terceiro dia de administração de cinaropicrina, revelando a toxicidade deste composto. Com relação a psilostaquina A (0,5-50 mpk / dia - uma vez por dia - administrada no 5 e 8dpi) observou-se reduções na parasitemia de 40 a 70% enquanto o Bz (50mpk) reduziu cerca de 75%. Não houve em todas as doses testadas proteção com relação a sobrevivência dos animais tratados com esta SL. Nossos dados demonstram que embora muito promissora contra tripanossomas africanos ou sobre outros modelos de infecção murina (cepa RA), ambos SLs não mostraram eficácia em modelos agudos de infecção por *T. cruzi* (Swiss macho e cepa Y e colombiana) em comparação com benznidazole, revelando ainda, em esquemas de terapia bid, efeitos colaterais nos animais tratados. Apoio: PDTIS/Fiocruz, CNPq, FAPERJ, CAPES and Fiocruz

## Resumo 069

### Tema – Quimioterapia

#### Megazol e seu bioisómero 4H-1,2,4-triazol: comparação da atividade tripanocida, citotóxica e genotóxica

Kelly Salomão<sup>1</sup>, Alcione Silva de Carvalho<sup>2</sup>, Taline Ramos Conde<sup>3</sup>, Helena Pereira da Silva Zamith<sup>3</sup>, Ernesto Raúl Caffarena<sup>4</sup>, Belinda Suzette Hall<sup>5</sup>, Shane Robert Wilkinson<sup>5</sup>, Núbia Boechat<sup>2</sup>, Solange Lisboa de Castro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, RJ, Brasil; <sup>2</sup>Departamento de Síntese de Fármacos, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, RJ, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Farmacologia e Toxicologia, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, RJ, Brasil; <sup>4</sup>Programa de Computação Científica, Fundação Oswaldo Cruz, RJ, Brasil; <sup>5</sup>School of Biological and Chemical Sciences, Queen Mary University of London, London, E1 4NS, UK.

A doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, afeta aproximadamente oito milhões de pessoas na América Latina e em áreas não-endêmicas emergentes. A terapia disponível, mesmo depois de 105 anos de descoberta, está restrita a dois nitroheterocíclicos que estão longe do ideal devido a sérios efeitos colaterais, eficácia limitada sobre diferentes isolados de parasitos, necessidade de longos tempos de tratamento e baixa atividade na fase crônica tardia da doença. A doença do sono, causada pelo *Trypanosoma brucei* afeta 31 países da África Subsaariana, podendo levar a morte na ausência de tratamento. Este está restrito a quatro compostos (pentamidina, suramina, melarsoprol e eflornitina-nifurtimox), sendo limitados devido à toxicidade nos tecidos, regimes de tratamentos complexos, principalmente para o estágio avançado da doença. Estas desvantagens justificam a necessidade urgente na identificação de novos e melhores compostos para o tratamento dos doentes negligenciados. Megazol (Mg) é um 5-nitroimidazol ativo sobre o *T. cruzi* e *T. brucei*, inclusive para cepas resistentes a droga, porém não é utilizado na clínica devido a efeitos mutagênicos e genotóxicos. Neste trabalho comparamos a atividade de MgI com o bioisómero 4H-1,2,4-triazol (triazol) sobre formas sanguíneas do *T. cruzi* e do *T. brucei*, além de avaliarmos a possível ativação dos compostos pela enzima nitroredutase tipo I de *T. brucei* (*tbNTR*). Também foram analisados os efeitos citotóxicos e genotóxicos destes compostos no sangue total humano. Apesar da única diferença entre os compostos ser a substituição do enxofre (no Mg) pelo nitrogênio (no triazol), os resultados indicaram uma menor atividade tripanocida do triazol que também não apresenta efeito genotóxico. Apesar do triazol ser metabolizado mais rapidamente do que o Mg, ele se liga a *TbNTR* com menor afinidade, resultando em valores equivalentes de  $k_{cat}/K_M$ . Os ensaios de ancoragem dos compostos realizados dentro do local ativo de um modelo de homologia da nitroredutase de *T. brucei* indicaram que o triazol tem maior afinidade do que o Mg. As diferenças na atividade tripanocida dos compostos pode indicar diferentes formas de captação pelo parasito ou sugerir mecanismos de ação distintos, uma vez o composto dentro do patógeno.

## Resumo 070

### Tema – Quimioterapia

#### The potential use of electrotherapy as blood bank prophylaxis at high spot endemic areas of Chagas disease

Ortiz Zamora L<sup>1</sup>; Meuser, MM<sup>2</sup>, Silva, PB<sup>2</sup>, Batista, DGJ<sup>2</sup>, da Silva, CF<sup>2</sup>, Bergues, LE<sup>1</sup>, Soeiro, MNC<sup>2</sup>.

LBC/Fiocruz – Farmácia –CNEA/ University of Oriente

Chagas disease (CD) is a neglected illness caused by the obligatory intracellular protozoan *Trypanosoma cruzi*. Despite the high number of in vitro and in vivo studies aiming to identify novel options for treating the CD carriers, up to now, only two drugs are clinically available (nifurtimox and benznidazole – Bz) but with limited efficacy and considerable toxicity. Very few molecules moved to clinical trials for CD, including some azoles like itraconazole, fluconazole, ketoconazole, posaconazole and a prodrug of ravuconazole (E1224), but all exhibited therapeutic failure. Another current challenge is the identification of novel compounds for blood bank prophylaxis in highly endemic areas of Latin America since the only option is the use of gentian violet, a stain that also present undesirable properties. In this context, our aim was determine *in vitro* the biological efficacy and selectivity of electrotherapy (Et) upon bloodstream trypomastigotes ( $5 \times 10^6/\text{mL}$  - BT) of *T. cruzi* (Y strain). In these assays, different times of Et exposure (up to 10 minutes) were used with variable current intensity (0.5-5 mA), distinct electrode configuration and metallic composition (platinum and stainless steel). Additionally, similar protocols (5 mA up to 10 min) were performed using mouse erythrocytes ( $10^7/\text{mL}$ ) to explore cytotoxicity and selectivity issues, evaluating different parameters including cell lysis and morphology by light microscopy. Our data demonstrated trypanocidal effect of Et on BT, under different electrode configurations and compositions. When platinum electrodes with planar configuration were used, about 2-6% and 3-13% of parasite death was noticed after 1 and 24 h of 0.5 mA Et exposure. When similar electrodes were compared at 0.5mA for 5min of Et stimulation, preliminary data demonstrated an improved effect, reaching 38 and 98% of parasite death after 1 and 24 h of treatment. Further stimulation (10 min) using the same parameter also resulted in about 99% of trypomastigote lysis after 24 h. When needle electrodes (platinum) were used for 10 min at 0.5mA, about 56 and 98% of parasite death was detected after 1 and 24h after Et exposure. Our preliminary data suggest that platinum electrodes with needle configuration under 2 mA for 1 min of electric stimuli resulted in low cytotoxicity towards erythrocytes (0% lysis) but considerable trypanocidal effect (70%) resulting in promising therapeutic selectivity. Et effect on *T.cruzi* at conditions that result in low toxicity against erythrocytes encourage further studies that are under way in order to contribute for novel prophylactic approached for blood bank purposes.

Supported by MES CUBA/CAPES, FIOCRUZ, PDTIS, CNPq, FAPERJ, CNEA

## Resumo 101

### Tema – Quimioterapia

#### Avaliação da atividade biológica de novas arilimidamidas contra formas sanguíneas e multiplicativas do *Trypanosoma cruzi* *in vitro*

Batista, D. G.J.<sup>1</sup>, Boykin, D. W.<sup>2</sup>, Soeiro, M. N. C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Celular/IOC/RJ; <sup>2</sup>Department of Chemistry, Georgia State University, Atlanta, Geogia, USA

[denisegama@ioc.fiocruz.br](mailto:denisegama@ioc.fiocruz.br)

A doença de Chagas (DC), causada pelo *Trypanosoma cruzi*, é uma doença tropical negligenciada que ainda representa um sério problema de saúde pública nas áreas endêmicas. O tratamento apresenta efeitos colaterais devido à alta toxicidade dos medicamentos além de limitada eficácia. Amidinas aromáticas e seus análogos apresentam um amplo espectro de ação sobre protozoários e embora o exato mecanismo de ação ainda não seja conhecido, tem sido proposto que a ligação destas moléculas catiônicas na fenda menor do DNA, em regiões ricas em AT, contribui para seu efeito sobre tripanosomatídeos. Assim, nosso objetivo foi analisar *in vitro* a atividade biológica de 11 novas arilimidamidas (AIAs) recém sintetizadas, DB2016, DB2017, DB2018, DB2020, DB2036, DB2043, DB2044, DB2045, DB2048 e DB2051 sobre diferentes formas evolutivas do *T. cruzi* (cepa Y). Os resultados obtidos sobre formas de sangue incubadas a 37°C em meio RPMI por 2h demonstraram que oito compostos apresentaram valores de IC<sub>50</sub> menores (1,70 a 25,36µM) que o do benzonidazol (Bz) (IC<sub>50</sub>>50µM). Quando incubados por 24h, foi possível observar um efeito tempo-dependente de todos os compostos testados que apresentaram valores de IC<sub>50</sub> entre 0,94 a 29,5µM, sendo a atividade tripanocida de 10 das AIAs superior em relação ao efeito do Bz (IC<sub>50</sub>=13µM). Para a avaliação da possível utilização desses compostos na terapia em bancos de sangue, formas tripomastigotas foram incubadas com os compostos na presença de 96% de sangue de camundongo a 4°C. A incubação de todas as AIAs por 2h resultou em atividade superior a >32 µM. Após 24h de incubação apenas 2 compostos (DB2043 e DB2045) apresentaram atividade superior a violeta de genciana (30µM), exibindo valores de IC<sub>50</sub> de 10,98 e 17,035µM, respectivamente. Dando sequência ao estudo, nós avaliamos a eficácia sobre duas diferentes formas multiplicativas do parasito: amastigota e epimastigota. Os testes com formas epimastigotas demonstraram que DB2017, DB2018 e DB2044 apresentaram valores de IC<sub>50</sub> semelhante ao Bz. No entanto, a avaliação sobre a forma amastigota utilizando concentrações atóxicas sobre células de mamíferos (testes de MTT revelaram LC<sub>50</sub> = 1,17 µM) demonstrou que todas as 11 AIAs apresentaram atividade superior a 0,39 µM, enquanto o Bz apresentou valor de IC<sub>50</sub> = 3,6 µM. Frente as atuais limitações dos medicamentos disponíveis aos portadores da DC, se faz necessário a continuidade de estudos *in vitro* e *in vivo* de novos agentes tripanocidas visando futuro desenvolvimento de um novo composto que seja utilizado no tratamento desta doença negligenciada.

Suporte financeiro: Capes, Faperj, CPDD, PDTIS, Fiocruz e CNPq

## Resumo 128 (Apresentação Oral)

### Tema – Quimioterapia

Identificação e caracterização das enzimas uracil fosforibosiltransferase e gliconato cinase de *Trypanosoma cruzi*

Sinatti, V.V.C., Dantas, C.C.L., Mazotto, A.M., Degrave, W.M., Guimarães, A.C.R. e Alves-Ferreira, M.

Laboratório de Genômica Funcional e Bioinformática, IOC-FIOCRUZ.

A doença de Chagas é um problema de saúde pública na América Latina. Segundo estimativas da Organização Panamericana de Saúde, em torno de 8 milhões de pessoas nas Américas estão infectados pelo *Trypanosoma cruzi*, com uma taxa de mortalidade de 12.000 indivíduos por ano. Como os medicamentos utilizados no tratamento desta doença são ativos somente na fase aguda, apresentando baixa eficácia e uma série de efeitos colaterais, a busca por novos alvos terapêuticos torna-se fundamental. O estudo do metabolismo energético do *T. cruzi* apresenta-se como alternativa no desenvolvimento de novos fármacos. Neste contexto, utilizou-se o AnEnPi, uma ferramenta computacional capaz de identificar e classificar proteínas análogas, utilizando dados genômicos previamente publicados, permitindo a reconstrução de diferentes vias metabólicas. Foram identificadas em *T. cruzi* duas proteínas que potencialmente apresentam as seguintes atividades enzimáticas: uracil fosforibosiltransferase (UPRT) e gliconato cinase (GK). A UPRT é uma enzima da via de salvação de pirimidinas que converte uracil e D-5-fosforibosil-1-fosfato a monofosfato de uridina e pirofosfato. A GK é uma enzima da via das pentoses-fosfato que catalisa a fosforilação de gliconato a 6-fosfogliconato. Análises por bioinformática das sequências genômicas codificantes para essas proteínas em *T. cruzi* permitiram a identificação de dois genes para cada uma dessas enzimas e confirmaram essas atividades pela identificação de seus motivos estruturais. Posteriormente, foi realizada a caracterização molecular das enzimas GK e UPRT de *T. cruzi*, através da clonagem dos respectivos genes, utilizando os vetores pBAD-TOPO TA e pET28a, e da expressão heteróloga em *Escherichia coli*, cepa BL21(DE3). As proteínas recombinantes GK e UPRT expressas apresentaram pesos moleculares aproximados de 23 kDa e 28 kDa, respectivamente. Essas proteínas recombinantes foram purificadas através de cromatografia de afinidade. Os soros policlonais produzidos contra essas proteínas purificadas foram eficazes no reconhecimento das proteínas recombinantes e de suas formas nativas presentes na forma epimastigota de *T. cruzi*. O ensaio de imunofluorescência revelou que as enzimas GK e UPRT estão localizadas possivelmente no citoplasma e no interior de vesículas citoplasmáticas ao longo do parasita. Além disto, a estrutura de ambas as enzimas foi deduzida através de modelagem por homologia. Este trabalho visa contribuir para o melhor entendimento do metabolismo deste parasita, de forma a auxiliar na busca de novos alvos terapêuticos contra a doença de Chagas.

Suporte: CNPq, FAPERJ e PAPES-FIOCRUZ

## Resumo 137

### Tema – Quimioterapia

#### SÍNTESE E AVALIAÇÃO TRIPANOMICIDA E MUTAGÊNICA DE NOVOS NITROIMIDAZÓIS SUBSTITUÍDOS COM DIFERENTES ANÉIS AZÓLICOS

Boechat, N.\*<sup>1</sup>, Carvalho, A.S<sup>1</sup>; Quaresma, B.M.C.S.<sup>1,2</sup>, Salomão, K<sup>3</sup>, Castro, S.L.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Tecnologia em Fármacos, Departamento de Síntese de Fármacos, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, <sup>2</sup> Instituto de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-Graduação Farmacologia e Química Medicinal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, <sup>3</sup> Instituto Oswaldo Cruz, Departamento de Ultra-Estrutura e Biologia Celular, Fundação Oswaldo Cruz

O nosso grupo de pesquisa tem desenvolvido diversas estratégias para a busca por novos compostos com atividade anti-chagásica. Inicialmente usou-se o megalzol como molécula protótipo e hoje, já dispomos de vários protótipos desenvolvidos por nós. Dando continuidade aos nossos desenvolvimentos de novos padrões moleculares para a doença de Chagas, o objetivo deste trabalho é a síntese e a avaliação das atividades antiparasitária e toxicológica de novos análogos 4-nitroimidazólicos. Estes análogos foram planejados mantendo os requisitos estruturais responsáveis pela boa atividade biológica. O grupo nitro foi mantido na posição 4, o que sabemos previne o efeito carcinomutagênico, e a ligação direta dos heterocíclicos azólicos: 1,2,3-triazóis, 1,3,4-triazol, imidazol, 1,3,4-tiadiazóis e 1,2,4-triazóis, na posição 5 do anel imidazólico sugerindo uma boa atividade tripanomicida. Neste sentido esperamos que este trabalho contribua, pelo menos com a obtenção de bons protótipos, se não, a obtenção de substâncias promissoras. A rota sintética para obtenção dos novos 4-nitroimidazólicos foi iniciada e até o momento já temos 3 novos derivados obtidos em bons rendimentos. A avaliação da atividade biológica destes novos análogos foi feita contra formas tripomastigotas sanguíneas da cepa y do *Trypanosoma cruzi*. E um dos compostos testados apresentou uma maior atividade tripanomicida comparado ao seu composto de referência, megalzol sem o efeito citotóxico. O teste de mutagenicidade e a síntese dos outros derivados azólicos estão em andamento.

## Resumo 017A

### Tema – Terapia

#### **Imunoterapia na infecção crônica experimental pelo *Trypanosoma cruzi*: ação benéfica da pentoxifilina no sistema imunológico e na cardiomiopatia**

Pereira, I. R., Vilar-Pereira, G., Sarmiento, E.D.M., Lannes-Vieira, J.

*Laboratório de Biologia das Interações, IOC–Fiocruz, RJ, Brasil;*

Na cardiomiopatia chagásica crônica (CCC), inflamação e destruição progressiva do tecido cardíaco levam à fibrose e a alterações da condução dos impulsos elétricos e arritmias em cerca de 30% dos pacientes infectados pelo *Trypanosoma cruzi*, 10-30 anos após a infecção. No tecido cardíaco afetado, a produção de mediadores inflamatórios, principalmente citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, pode dirigir a migração dos leucócitos ativados que contribuiriam para a formação da CCC. Então, a persistência do parasito associada a mecanismos homeostáticos mal-adaptados, como os processos oxidantes/anti-oxidantes e o balanço entre as citocinas pró-inflamatórias/anti-inflamatórias/quimioatraentes são propostos estar criticamente envolvidos na progressão da cardiomiopatia chagásica. Neste sentido, avaliamos os efeitos da pentoxifilina (PTX), um inibidor da fosfodiesterase que atua como regulador da produção de citocinas, na infecção pelo *T. cruzi*. Para tal, usamos camundongos C57BL/6 infectados pela cepa Colombiana do *T. cruzi* e tratados na fase crônica da infecção com PTX. Comparados aos seus controles injetados com salina, os animais tratados com PTX apresentam no baço diminuição da frequência de células T CD8+ ativadas, restauração do perfil de células naïves (CD44<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>) e, ainda, menor frequência de células CD8<sup>+</sup>CCR5<sup>+</sup>LFA-1<sup>+</sup>. Também, o tratamento com PTX resultou em menor expressão de ICAM-1 no tecido cardíaco. A terapia com PTX preservou o número de células IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> e diminuiu o número de células perforina<sup>+</sup> no coração. Mais do que isso, PTX aumentou a resposta específica de células T CD8+ ao peptídeo do *T. cruzi* com produção de IFN- $\gamma$ , proposto ser cardioprotetor. Além de PTX agir sob o perfil de ativação, migração e efetor das células T CD8+, os animais tratados apresentaram melhora da função elétrica, redução do nível de atividade da enzima CK-MB no soro e menor perda de conexina 43 (Cx43) e deposição de fibronectina (FN) no tecido cardíaco. Assim, PTX se mostrou uma alternativa viável na terapêutica da forma crônica cardíaca da doença de Chagas, uma vez que melhorou importantes aspectos da doença, podendo ser usada sozinha ou como adjuvante em terapias combinadas e vacinas, direcionando a resposta imunológica para um perfil protetor.

## Resumo 031

### Tema – Terapia

#### Depressão na infecção crônica pelo *Trypanosoma cruzi*

Autores: Glaucia Vilar-Pereira<sup>1</sup>, Maralice Gilla Pimentel da Silva<sup>1</sup>, Andrea Alice da Silva<sup>1,2</sup>, Isabela Resende Pereira<sup>1</sup>, Joseli Lannes-Vieira<sup>1,†</sup>

1 Laboratório de Biologia das Interações, Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz, Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro 21045-900, Brasil.

2 Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal Fluminense, Rua Marquês do Paraná, 303, Centro, Niterói, 24033-900, RJ, Brasil.

[vilar@ioc.fiocruz.br](mailto:vilar@ioc.fiocruz.br)

A existência da forma nervosa da doença de Chagas (DC) é matéria de discussão desde a descrição de alterações neurológicas, de aprendizado e comportamentais por Carlos Chagas. Na maioria dos pacientes, as manifestações clínicas de fase aguda, incluindo alterações neurológicas, desaparecem de forma espontânea, sem sequelas aparentes na fase crônica da infecção. Contudo, portadores da DC crônica apresentam alterações comportamentais como psicomotricidade, atenção, distúrbios do sono, memória e depressão. Pouco se conhece sobre a fisiopatogenia das alterações comportamentais na DC, sendo proposto que estas resultem de lesões devido à presença do parasito no sistema nervoso central ou sejam sequelas das alterações cardíacas e/ou lesões inflamatórias teciduais. Estas alterações impactam de forma negativa podendo contribuir para o pior prognóstico dos portadores da DC. Visando ao entendimento da fisiopatogenia das alterações comportamentais da DC, reproduzimos em modelo de infecção experimental em camundongos C57BL/6 aspectos importantes da DC. Anteriormente, mostramos que camundongos C57BL/6, resistentes à meningoencefalite aguda, apresentam perfil depressivo na fase crônica da infecção, indicando que esta alteração comportamental independe da existência prévia da meningoencefalite aguda, não sendo, portanto, uma sequela desta. No presente estudo, mostramos que os animais infectados pela cepa Colombiana do *T. cruzi* apresentam alterações comportamentais característicos de depressão na fase crônica tardia (120 e 150 dias pós-infecção, dpi), como aumento da imobilidade ao teste de suspensão de cauda (TS), mas dissociado de alterações locomotoras, de temperatura e da perda de peso. Visando entender a fisiopatogenia das alterações comportamentais na DC crônica, inicialmente abordamos o processo de recaptção de serotonina, usando fluoxetina (Fx), e a participação do parasito, usando a droga tripanossomicida benznidazol (Bz), tratando animais quando as alterações comportamentais já estão instaladas (120 dpi), por 30 dias consecutivos. Terapia com Fx melhorou o perfil depressivo, sugerindo contribuição de um componente neurológico. O tratamento com Bz na fase aguda da infecção preveniu a depressão na fase crônica. Também, a terapia com Bz na fase crônica foi benéfica, reduzindo o tempo de imobilidade dos animais no TS. Estes resultados indicam que além de componente neurológico, o parasito, ou outra via de ação da droga tripanossomicida Bz, seja(m) participante(s) importante(s) da patogênese das alterações comportamentais da DC crônica experimental. Desta forma, trazemos suporte experimental que o comportamento depressivo em portadores da DC não dependeria somente de fatores psicológicos, mas pode residir em uma complexa rede de interações deflagradas pelo próprio parasito *Trypanosoma cruzi*.

Palavras-chave: doença de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, depressão, fluoxetina, benznidazol.

Suporte financeiro: INCTV, CNPq e FAPERJ.

## Resumo 066

### Tema – Terapia

#### **EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE SANGUE AUTÓLOGO NO CURSO DA INFECÇÃO PELO *Trypanosoma cruzi* *in vitro***

BEATRIZ PHILOT PAVÃO, KELLY CRISTINA DEMARQUE, MARCOS MEUSER  
BATISTA, GABRIEL MELO DE OLIVEIRA, CRISTIANE FRANÇA DA SILVA, MARIA  
DE NAZARÉ CORREIA SOEIRO

Laboratório de Biologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio  
de Janeiro, RJ – Brasil

A doença de Chagas (CD), causada pelo *Trypanosoma cruzi*, é endêmica em países da América Latina incluindo o Brasil, afetando mais de 10 milhões de pessoas. Até o momento, sua terapia é baseada em dois fármacos (nifurtimox (Nf) e benznidazol (Bz)) descobertos há mais de quatro décadas, efetivos somente nas infecções agudas e crônicas recentes, sendo ainda consideravelmente tóxicos, o que justifica a busca por novas alternativas terapêuticas. Neste contexto, o uso de sangue autólogo, que consiste na retirada de sangue venoso para imediata aplicação intramuscular, tem sido descrito como procedimento médico e veterinário para terapia de diferentes agravos de origem infecciosa, auto-imune, inflamações crônicas e degenerativas ou de origem neoplásica. Uma vez que esta técnica vem sendo utilizada de modo informal no Brasil devido à falta de embasamento científico que justifique seu uso, este estudo visa investigar, através de ensaios pré-clínicos, as possíveis alterações induzidas na ativação de macrófagos peritoneais no curso da infecção *in vitro* pelo *T. cruzi* em modelo murino. Os animais foram tratados com 10 e 20 µL de sangue autólogo ou NaCl 0.85% por três vezes a cada 5 dias e eutanasiados após 48 horas e uma semana da última administração para coleta de células peritoneais. Houve ainda o grupo controle sem administração, mas com coleta de sangue via cauda (grupo não tratado). Os dados obtidos até o momento sugerem uma diminuição parcial do índice de infecção *in vitro* de macrófagos recolhidos do peritônio de animais tratados com 20 µL de sangue em comparação com o grupo não tratado sendo 54-44% e 48-40% após 24 e 48h de interação, respectivamente nos animais eutanasiados pós 48h e uma semana pós- tratamento, respectivamente. Porém, houve também uma diminuição nos níveis de infecção *in vitro* quando utilizamos salina (20 µL), alcançando 45-50% e 8-55% após 24 e 48h de interação, respectivamente nos animais eutanasiados pós 48h e uma semana pós- tratamento, respectivamente. É possível que alterações teciduais localizadas na área de inoculação intramuscular seja por si um dano físico capaz de resultar em ativação não específica de fagócitos profissionais. Desta forma, nossos dados estimulam a continuidade de pesquisas com a administração de sangue autólogo e de salina (grupo controle) visando avaliar seu efeito sobre a infecção por *T.cruzi* e contribuir futuramente para identificação de novas alternativas para tratamento de portadores chagásicos.

## Resumo 100

### Tema – Terapia

## PEPTÍDEOS TERAPÊUTICOS & BIOFÁRMACOS: CIÊNCIA, MERCADO E

### DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO

SALVATORE GIOVANNI DE SIMONE

FIOCRUZ/CDTS-IOC

Os peptídeos possuem uma grande diversidade funcional e os sintéticos empregados para fins terapêuticos movimentam mais de 13 bilhões de dólares em um mercado que cresce 10% ao ano. A produção e triagem de bibliotecas e arranjos de compostos estão bem estabelecidas como um método de alto rendimento de detecção e análise de interações tanto em sistemas biológicos quanto químicos. As bibliotecas/arranjos podem ser compostas de diferentes tipos de moléculas como peptídeos, proteínas e DNA. As aplicações das bibliotecas para a detecção e caracterização de interações biológicas são amplas e diversificadas, incluindo, por exemplo, o mapeamento de epítomos, identificação de domínios/sítios específicos, interação enzima-substrato e interações proteína-proteína em geral. Nesta revisão iremos nos concentrar na história, uso e aplicação biotecnológica de bibliotecas e/ou microarranjos de peptídeos sintéticos para estudar as interações proteína-proteína em geral. A caracterização das interações proteína-proteína é crucial para a compreensão da funcionalidade das células. Usando peptídeos, é possível mapear os locais de ligação precisos em tais células. As bibliotecas/arranjos peptídicos complexos geralmente são compostas de sequências peptídicas de uma proteína que se sobrepõem parcialmente. Os peptídeos são normalmente ligados a um suporte sólido utilizando várias técnicas, como SPOT-síntese, Spin-Spot e fotolitografia. Em seguida, a matriz/suporte é incubada com a solução da proteína ligante, formando-se então o complexo de interesse. Finalmente, a detecção do complexo é realizada geralmente através de um ensaio de imunodetecção. A existência de diversos softwares capazes de interpretar e fornecer resultados perfeitamente confiáveis completa esta necessidade. Além disso, estes e outros estudos fundamentais podem abrir-nos oportunidades de compreender melhor diversos processos celulares, com a caracterização de padrões de interação proteína-proteína, que pode até se transformar em algoritmos de previsão de sítios/domínios de aminoácidos essenciais destes processos. Os peptídeos de ligação podem então servir de base para o desenho de fármacos que inibem ou ativam as interações proteína-proteína alvo. Apresentaremos um breve relato da fascinante história da síntese de peptídeos e os avanços recentes sobre a importância de bibliotecas/arranjos peptídicos realizado em nosso e em outros laboratórios. Discutiremos também as aplicações, vantagens e desvantagens do uso destas bibliotecas/arranjos de peptídeos como uma ferramenta para estudar as interações proteína-proteína em geral, necessidade da metodologia ser quantitativa ou não e exemplos de aplicações biotecnológicas, industriais e clínicas de vários peptídeos sintéticos.

## Resumo 017B (Apresentação Oral)

### Tema – Vacina

#### **Vacina terapêutica com adenovírus recombinante redireciona a resposta de células T CD8+ e reverte a cardiomiopatia crônica induzida pelo *Trypanosoma cruzi***

Isabela R Pereira<sup>1</sup>, Glaucia Vilar-Pereira<sup>1</sup>, Virgínia Marques<sup>1</sup>, Andrea Alice da Silva<sup>1</sup>, Bráulia C Caetano<sup>2,3</sup>, Otacilio C Moreira<sup>4</sup>, Alexandre V Machado<sup>3</sup>, Oscar Bruna-Romero<sup>5</sup>, Maurício M Rodrigues M<sup>6</sup>, Ricardo T Gazzinelli<sup>2,3,7</sup>, Joseli Lannes-Vieira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Biologia das Interações, Instituto Oswaldo Cruz (IOC)/Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

<sup>2</sup>Centro de Pesquisas René Rachou, FIOCRUZ, Belo Horizonte, MG, Brazil 30;

<sup>3</sup>Departamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil; <sup>4</sup>Laboratório de Biologia Molecular e Doenças Endêmicas, Instituto Oswaldo Cruz (IOC)/Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil; <sup>5</sup>Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil; <sup>6</sup>Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal de São Paulo-Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP, Brazil; <sup>7</sup>Division of Infectious Disease and Immunology, Department of Medicine, University of Massachusetts Medical School, Massachusetts, USA

A infecção pelo *Trypanosoma cruzi* leva a uma grave doença que aflige milhões de latino-americanos. Um terço dos pacientes infectados desenvolve cardiopatia chagásica crônica (CCC) caracterizada por persistência do parasito e desbalanço da resposta imune do hospedeiro. Assim, a imunoterapia surge como uma alternativa para estimular a imunidade protetora e, hipoteticamente, interromper a progressão e, até mesmo, reverter a CCC. Aqui, esta ideia foi desafiada usando a estratégia do protocolo homólogo prime-boost com adenovírus recombinante (rAd) transportando as sequências codificadoras da proteína de superfície de amastigota-2 (ASP2) e trans-sialidase (TS), previamente demonstrado ser eficaz em protocolos profiláticos. Camundongos C57BL/6 cronicamente infectados com a cepa Colombiana do *T. cruzi* foram tratados com rAdASP2 + rAdTS em um protocolo homólogo prime-boost iniciado em 120 dias após a infecção (dpi), quando alterações imunológicas e cardíacas já estão estabelecidas. A imunoterapia com rAdASP2 + rAdTS reduziu a resposta ao estímulo policlonal, mas preservou a imunidade específica mediada por interferon gama (IFN- $\gamma$ ), diminuiu a frequência de células T CD8+ potencialmente citotóxicas (IFN- $\gamma$ + CD107a + e CD107a+), enquanto aumentou os níveis sistêmicos de IFN- $\gamma$ . De modo importante, a vacina imunoterápica reverteu significativamente as alterações elétricas após o prime (análise em 160 dpi) e o boost (análise em 230 dpi) e aumentou a sobrevivência dos animais. Além disso, quando comparado com o pré-tratamento (120 dpi), na pós-terapia (230 dpi) os camundongos apresentaram menor perda de conexina 43 e deposição de fibronectina no coração e redução da atividade de CK-MB e dos níveis de óxido nítrico no soro, marcadores de lesão de cardíaca. Assim, a imunoterapia com adenovírus recombinante surge como uma alternativa racional para interromper a progressão e reverter a lesão cardíaca na doença de Chagas crônica.

## Resumo 058

### Tema – Vetor e Ciclo de Transmissão

#### Descrição de ninfas de primeiro estágio de *Triatoma pintodiasi* Jurberg, Cunha e Rocha, 2013 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae)

<sup>1</sup>Isabelle da R. S. Cordeiro, <sup>1</sup>Felipe F. F. Moreira, <sup>1</sup>Jose Jurberg, <sup>1</sup>Juliana M. S. Rodrigues

<sup>1</sup> Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz.

A subfamília Triatominae Jeannel, 1919 é composta de cinco tribos, 18 gêneros e 147 espécies. Apresenta ampla distribuição na região Neotropical, e seus representantes são potenciais vetores da doença de Chagas (DC). Recentemente, a espécie críptica *Triatoma pintodiasi*, do subcomplexo *T. rubrovaria*, foi descrita com base em análises morfológicas, morfométricas e bioquímicas. No entanto, sua biologia, ecologia e comportamento não são conhecidos. Com o propósito de ampliar os estudos taxonômicos acerca dos vetores da DC, este trabalho apresenta a descrição morfológica do primeiro estágio ninfal de *T. pintodiasi*. O estudo incluiu 10 ninfas de 1º estágio provenientes do insetário do Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos (LNIRTT), as quais foram medidas e observadas com o auxílio de um estereomicroscópio. Dentre suas principais características morfológicas estão: comprimento total do corpo, 2,35-2,55 mm; coloração castanha, exceto anelacão mediana no antenômero IV, espaços interdiais, rosto e pernas castanho-amarelados; pro-, meso-, metanoto e pigídio castanho-escuros; esternitos castanho-avermelhados; cabeça e tórax com linhas transversais rugosas; corpo com cerdas decumbentes inseridas em tubérculos; porção posterior do anteclypeo e ápice da búcula com 1+1 tubérculos setíferos; tubérculos anteníferos com 1+1 tubérculos setíferos laterais; antenômero I com aproximadamente seis cerdas; II com 30 cerdas decumbentes e uma tricobótria mediana fina e perpendicular; III com 35 cerdas decumbentes; IV com 13 cerdas e seis tricobótrias, sendo: três fileiras de três cerdas decumbentes, duas fileiras de tricobótrias muito esparsas, e três cerdas curtas apicais; tórax com 12+12 tubérculos setíferos laterais, sendo cinco no pronoto, quatro no mesonoto e três no metanoto; úmeros arredondados; pronoto trapezoidal; mesonoto com 1+1 placas retangulares; metanoto com 1+1 placas elípticas; mesosterno ou final do prosterno com carena ventral se estendendo até a base do 1º segmento abdominal; e proepisterno com sulco triangular e rugosidades transversais internas.

## Resumo 060

### Tema – Vetor e Ciclo de Transmissão

#### **Padrões morfológicos das *sensilla* antenais e das asas da espécie amazônica *Rhodnius brethesi* (Matta 1919) e a especificidade com a palmeira *Leopoldinia piassaba* (Wallace, 1853).**

Souza, A C<sup>1</sup>; Catalá, S<sup>2</sup>; Junqueira, ACV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Doenças Parasitárias - Instituto Oswaldo Cruz / Fiocruz.

<sup>2</sup> Laboratório de Referência para Padrões Sensoriais, CRILAR – Argentina.

A maioria das espécies do gênero *Rhodnius* está associada às palmeiras, e de acordo com seu padrão de associação de habitat são classificadas como especialistas ou generalistas. *Rhodnius brethesi* é aparentemente especialista, infestando apenas palmeiras da espécie *Leopoldinia piassaba*. Devido a esta possível especificidade de ecótopo mantém o ciclo de transmissão silvestre em regiões de extrativismo da piaçava, localizada na Microrregião do rio Negro, Amazonas. Entretanto, está descrito em outras regiões fora da área de ocorrência da espécie de palmeira, como estado do Maranhão e Pará. Os triatomíneos percebem os ambientes através das antenas que são cobertas por estruturas sensoriais conhecidas como *sensilla*. O fenótipo antenal e o perfil morfométrico vêm sendo utilizados para diferenciar gênero, espécie e populações de triatomíneos, possibilitando analisar modificações advindas de adaptações ao ambiente ou de alterações genéticas. Desta forma, através do perfil das *sensilla* presentes nas antenas, e da análise do tamanho e conformação das asas espera-se obter informações sobre estruturas capazes de detectar variações e especificidade de ecótopo das populações de *R. brethesi*. O objetivo do estudo foi comparar os padrões morfológicos, das antenas e das asas, entre espécimes de *R. brethesi* criados no laboratório e silvestres e outras espécies do gênero *Rhodnius*, e sua possível especificidade em relação ao ecótopo palmeira. Com o intuito de analisar o conhecimento, sobre a espécie *R. brethesi* e a palmeira *L. piassaba*, pela população humana, residente em áreas, onde há descrição, na literatura, da espécie *R. brethesi*, foram distribuídos Kits informativos na Microrregião do Rio Negro, AM e em três municípios do Maranhão. Paralelamente se investigou no Setor de Entomologia dos Lacens do Pará e do Maranhão, e em Coleções Entomológicas de Museus o recebimento de espécimes de *R. brethesi*. Confirmamos que a distribuição da palmeira *L. piassaba*, no Brasil, está restrita a Microrregião do Rio Negro, AM, e a espécie vetora *R. brethesi* só foi encontrada colonizando essas palmeiras, tanto na margem esquerda como direita do Rio Negro, sendo por isso considerado um vetor ecótopo específico. Tanto o padrão de *sensilla* antenais quanto o tamanho e a conformação da asa dos espécimes de *R. brethesi* foi possível a separação dos espécimes por sexo e ecótopo, e esta espécie possui características particulares em relação as *sensilla* antenais que lhe permite ser distinta das demais espécies de *Rhodnius*.

## Resumo 074

### Tema – Vetor e Ciclo de Transmissão

#### A persistência de um cenário de vulnerabilidade à transmissão da doença de Chagas em localidades rurais no município de Russas no Estado do Ceará/Brasil

Taís Ferreira Gomes<sup>1</sup>, Antonia de Castro Ribeiro<sup>1</sup>, Layla Caroline Nunes<sup>1</sup>, Beatriz Coronato Nunes<sup>2</sup>, Deiviane Aparecida Calegar<sup>3</sup>, Marcio Neves Boia<sup>3</sup>, Filipe Aníbal Carvalho-Costa<sup>2</sup>, Marli Maria Lima<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Ecoepidemiologia da doença de Chagas, <sup>2</sup>laboratório de epidemiologia e sistemática molecular, Laboratório de biologia e parasitologia de mamíferos silvestres reservatórios<sup>3</sup> – Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ - Rio de Janeiro/Brasil.

**Introdução:** A doença de Chagas é endêmica nos Estados do Nordeste do Brasil. Nessas regiões, as populações susceptíveis a doença são geralmente formadas por pessoas que vivem em extrema pobreza, em áreas onde proliferam os vetores. Essa interação vetor-homem surgiu mediante a criação de condições viáveis para a presença de triatomíneos em habitações humanas, onde ainda é frequente o encontro de casas de taipa, que propiciam a colonização dos vetores da doença. **Objetivo:** Estudar a relação entre o ambiente construído e a transmissão da doença de Chagas, com vista à proposta de melhorias habitacionais. **Metodologia:** Foram investigadas cinco localidades rurais do município de Russas (Patos do Tito, Sítio Maxixe, Riacho do Barro, Timbaúba do Pitingão e Santo Antônio), Ceará/Brasil. Tendo como base questões sociodemográficas e aspectos físico-constructivos das residências, foram aplicados questionários a 163 famílias das respectivas localidades de abrangência do estudo. Foram realizadas também buscas de triatomíneos em todo domicílio e peridomicílio. **Resultados e Conclusões:** Foram capturados 365 espécimes de triatomíneos, com o predomínio de *Triatoma brasiliensis* (324 espécimes), 32 espécimes de *Triatoma pseudomaculata*, e 9 de *Rhodnius nasutus*. *Todas as capturas foram realizadas no peridomicílio, com exceção de uma residência de taipa abandonada utilizada como um galinheiro. Com relação ao tipo de construção encontrada nas localidades estudadas, foram observadas 163 residências, sendo 59,51% (97/163) de alvenaria com ou sem reboco, 34,97% (57/163) de taipa e 5,52% (9/163) mistas (tijolo e taipa).* A grande proporção de casas de taipa nas localidades, ainda hoje em construção, é decorrente não só de questões econômicas, mas também culturais. *Foi observado também que as casas de taipa são construídas de maneira inadequada, onde, além de não possuírem baldrame, os beirais são pequenos ou inexistentes, possibilitando a infiltração nas paredes e tornando-as mais vulneráveis às intempéries.* Quanto às casas de alvenaria, observou-se que geralmente as construções são realizadas sem elemento estrutural, favorecendo não somente a instabilidade e fragilidade das paredes das residências, bem como a percepção comumente revelada por moradores de que uma casa de pau-a-pique, ainda que não construída de maneira adequada, é mais segura em relação à estabilidade da construção. A falta de oferta de habitação alternativa de maior qualidade e estabilidade, e de orientação adequada para construções mais seguras são as maiores responsáveis pela presença de casas de taipa na localidade. O tipo de construção e a presença de triatomíneos indicam que a região necessita de constante vigilância entomológica.

## Resumo 112

### Tema – Vetor e Ciclo de Transmissão

#### ALTERAÇÕES AMBIENTAIS E RISCO DE RE-EMERGÊNCIA DA DOENÇA DE CHAGAS NA CIDADE DE SALVADOR, BA

Gilmar Ribeiro Jr (Ribeiro Jr, G.)<sup>(1)</sup>, Carlos Gustavo Silva dos Santos (Santos, C.G.S.)<sup>(2)</sup>, Alekhine Amorim (Amorim, A.)<sup>(2)</sup>, Sônia Gumes Andrade (Andrade, S.G.)<sup>(2)</sup>, Mitermayer G. dos Reis (Reis, M.G.)<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Laboratório de Patologia e Biologia Molecular, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fiocruz. Salvador, Bahia, Brasil.

<sup>(2)</sup> Laboratório de Chagas Experimental, autoimunidade e imunologia celular e Imuno-modulação, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fiocruz. Salvador, Bahia, Brasil.

A epidemiologia da doença de Chagas (DCH) tem se tornado mais dinâmica nos últimos anos com a alteração do perfil dos principais vetores sinantrópicos. A cerca de 20 anos, os principais responsáveis pela transmissão da doença eram vetores exóticos, predominantemente no intradomicílio, no entanto, a constante antropização dos remanescentes de mata nas grandes e pequenas cidades ou destruição progressiva dos ecótopos naturais tem forçado os vetores silvestres nativos a se adaptar ao ambiente antropizado, aumentando o risco de re-emergência da doença de Chagas nestas localidades. Entre os anos de 2007 e 2011, analisamos 930 exemplares de triatomíneos oriundos da zona metropolitana da cidade de Salvador, capturados no peri e intradomicílio, que apresentaram uma taxa média de infecção por *T. cruzi* de 62%. Testes moleculares em uma sub amostra, randomicamente selecionada, (212 de 448 passíveis de análise) demonstraram a existência de mais do que um tipo de *T. cruzi* circulante inclusive com co-infecção de cepas no mesmo triatomíneo (*T. cruzi* I=47%; *T. cruzi* II=39%, infecção múltipla=14%; N=212). Demonstramos que os padrões alimentares desta espécie de triatomíneo foram: sangue de aves (45%), marsupial (35%), ruminantes (5%) e roedores (5%). O risco relativo dos triatomíneos que estavam alimentados com sangue de marsupial e que se apresentaram infectados foi de RR=1.95 (IC=1.22-3.11). Para aqueles alimentados com sangue de aves foi observado um efeito protetor contra a infecção, RR=0.43 (IC=0.30-0.73). Apesar dos resultados apontarem para o status de espécie silvestre em processo de peridomiciliação, a constatação da ocorrência de triatomíneos infectados no domicílio humano demonstra o risco de transmissão da doença de Chagas.

## Resumo 142

### Tema – Vetor e Ciclo de Transmissão

Ciclo biológico de *Triatoma sherlocki* Papa, Jurberg, Carcavallo, Cerqueira & Barata, 2002 (Hemiptera: Heteroptera: Reduviidae: Triatominae) em condições de laboratório.

**Vanessa Lima-Neiva<sup>1</sup>, Teresa Cristina Monte Gonçalves<sup>2</sup>, Nathália Cordeiro Correia<sup>1</sup>, Cátia Cabral da Silva<sup>1</sup>, Carlos Eduardo Almeida<sup>1,3</sup>, Jane Costa<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratório de Biodiversidade Entomológica, <sup>2</sup>Laboratório de Transmissores de Leishmanioses – Setor de Entomologia Médica e Forense IOC/RJ, <sup>3</sup>Laboratório de Parasitologia UNESP/SP  
vanessaln@ioc.fiocruz.br

No Brasil, após a significativa redução das populações de *T. infestans*, em função das ações do controle vetorial, observou-se aumento considerável da presença de espécies nativas nos ecótopos artificiais, tais como: *Triatoma sordida*, *Triatoma brasiliensis brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Panstrongylus megistus* e *Triatoma rubrovaria*. *Triatoma sherlocki* foi encontrada no distrito de Santo Inácio, município de Gentio do Ouro, no estado da Bahia, Brasil. No ambiente natural habita complexos rochosos, apresentando infecção natural por *Trypanosoma cruzi*. Em Encantado, um assentamento de garimpo de pedras ornamentais, foi realizado o primeiro registro de ninfas e adultos no interior dos domicílios. Informações sobre seus aspectos biológicos são inexistentes, tornando-se necessários para estimar o seu potencial de colonização do domicílio. Para isso, foram efetuadas coletas no ambiente silvestre em Santo Inácio no ano de 2010 para o estabelecimento de colônias mantidas em condições controladas de temperatura ( $24,6 \pm 1,3$  °C) e umidade relativa ( $71,6\% \pm 6,3$ ) não controlada. Para este estudo, foram selecionados aleatoriamente 123 ovos a partir de trinta casais mantidos juntos. Assim, acompanhou-se o desenvolvimento de ovo-adulto, onde se registrou os seguintes parâmetros: i. duração das fases de desenvolvimento, ii. número de alimentações realizadas e iii. mortalidade. Os insetos foram alimentados semanalmente com camundongos *Mus musculus*. Os resultados demonstraram que o período de incubação dos ovos variou de 36,0 a 46,0 dias, com média de  $41,0 \pm 2,1$  dias. Verificou-se que o tempo requerido para o desenvolvimento de cada fase foi decrescente até o 2º estágio, voltando a crescer até o 5º estágio. O menor período médio de desenvolvimento registrado foi de  $29,2 \pm 3,3$  dias para N2 e o maior foi  $142,4 \pm 37,1$  dias para N5. A média de duração do ciclo biológico da oviposição a muda imaginal foi de  $325,0 \pm 40,0$  dias com um período mínimo de 255 e máximo de 410 dias, superior aos valores obtidos para outras espécies mantidas em condições similares, indicando que esta espécie apresenta 1 geração por ano. O número de repastos sanguíneos variou de 1 até 11 dependendo do estágio de desenvolvimento, essa característica aumenta o contato vetor-hopedeiro, aumentando a probabilidade de aquisição ou transmissão de *T. cruzi*. A taxa de mortalidade total foi baixa (6,5%) em relação a outras espécies de triatomíneos, mostrando que esta espécie adaptou-se bem as condições de laboratório. Portanto, os resultados sugerem que, nas condições de laboratório, esta espécie desenvolve uma geração anual, consequentemente favorecendo a baixa densidade populacional.

Apoio: FAPERJ, Capes, FIOCRUZ e CNPq