

Composição clonal de cepas do *Trypanosoma cruzi*: importância de um “clone principal”

Sonia G. Andrade¹

A multiclonalidade das cepas do *Trypanosoma cruzi* tem permitido diferentes estudos destas populações, mantidas em laboratório, isoladas a partir do vetor silvestres, de reservatórios vertebrados, de vetores domiciliados ou de humanos naturalmente infectados. Estas cepas ou isolados, mantidas em geral durante períodos prolongados, podem vir a demonstrar, após passagens sucessivas em culturas ou em animais, variações em suas características fenotípicas, tais como a virulência e a patogenicidade, o que pode ser atribuído seja à predominância de determinados clones por processo de seleção, ou a mutações em suas características genéticas. Além disto, a presença de clones diferentes em uma mesma cepa poderia ser responsável pela persistência de infecção residual em animais submetidos à quimioterapia experimental, infectados por cepas consideradas suscetíveis, indicando, talvez, a presença de clones resistentes.

Diversos estudos sobre a composição clonal do *T. cruzi* têm sido desenvolvidos, baseados em diferentes parâmetros, demonstrando ou uma homogeneidade ou heterogeneidade clonal. Vale acentuar que nem sempre as cepas referidas na literatura, apresentam uma homogeneidade clonal.

A estrutura clonal do *T. cruzi*, proposta por Tibayrenc et al (1986) sugere que as cepas do *T. cruzi* são clones naturais e que a seleção natural favorecendo certos padrões genéticos, pode determinar um número limitado de padrões baseados na análise de múltiplos *loci* enzimáticos (MLEE). Clones bem adaptados podem predominar e serem selecionados pelas condições ambientais, e circularem em diferentes áreas (Tibayrenc & Ayala, 1988) e se constituem nos “major clones” (Tibayrenc & Brenière, 1988). Esta teoria está de acordo com a classificação biológica das cepas, partindo do princípio de que o perfil fenotípico das mesmas está correlacionado aos seus caracteres genéticos.

As cepas do *Trypanosoma cruzi* podem ser grupadas em um número restrito de tipos ou Biodemas, diferindo na sua patogenicidade e virulência, bem como no histotropismo e na resposta aos quimioterápicos. Estes grupos são também caracterizados pelos zimodemas, esquizodemas ou pela análise do DNA ribossomal ou dos genes de mini-exon. Todas estas classificações estão atualmente englobadas na nova nomenclatura (Satellite Meeting, 1999), nos grupos *T. cruzi I* e *T. cruzi II*.

O estudo de clones isolados de cepas estáveis, protótipos dos Biodemas do *T. cruzi*, permite analisar a estrutura clonal das mesmas, estabelecer a homogeneidade ou heterogeneidade clonal destas cepas e identificar, através da caracterização biológica, histopatológica, isoenzimática e molecular, a presença de um “clone principal” (Andrade, 1999). Dentro deste contexto, isto é, considerando-se o resultado da clonagem das cepas protótipos dos diferentes Biodemas, que apresentam uma homogeneidade clonal, o “clone principal” representa o clone predominante, reproduzindo os caracteres da cepa parental do ponto de vista biológico, fenotípico e genotípico.

O estudo de clones e subclones isolados da cepa 21 SF de São Felipe, BA, protótipo do Biodema Tipo II, veio demonstrar a homogeneidade clonal desta cepa padrão, indicando a predominância de um clone principal que circula nesta área (Campos & Andrade, 1996, Campos et al. 1999). Os estudos iniciais sobre cepas isoladas em São Felipe –BA, indicaram a predominância do mesmo Tipo de cepa no Recôncavo Bahiano (Andrade, 1974), sugerindo a circulação de uma mesma cepa ou clone principal em uma mesma área endêmica. Os clones da cepa 21SF, os quais apresentam os mesmos caracteres biológicos, embora com leves diferenças quanto aos níveis parasitemicos, mostraram ao estudo do seu esquizodema pela técnica do RFLP (*restriction fragment length polymorphism*), alta similaridade de seus clones, a um nível de 80 a 100% (Campos et al., 1999). Apesar da similaridade biológica, bioquímica e molecular, a investigação da suscetibilidade dos diversos clones à quimioterapia com Benzonidazol, demonstrou uma alta variabilidade entre os clones, com índices de cura variando entre 30 e 100%, enquanto a cepa parental mostrou índice de cura de 25% (Campos et al. 2005). Estes resultados sugerem que a variabilidade da resposta ao tratamento, das populações clonais da cepa do Biodema Tipo II (*T. cruzi II*) é responsável pela grande variação na resposta à quimioterapia das cepas deste biodema, como demonstrado em estudos anteriores (Andrade et al. 1985), embora o esquizodema destes clones tenha demonstrado um alto grau de similaridade, como referido. As diferenças genéticas podem ser investigadas com diferentes parâmetros moleculares, tendo sido demonstrado por Toledo et al. (2003) diferenças na suscetibilidade aos quimioterápicos em clones do *T. cruzi* com diferentes genótipos.

O estudo da composição clonal da cepa Colombiana, protótipo do Biodema III (*T. cruzi I*) foi realizado em duas diferentes fases da infecção aguda: clones isolados no

1. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fiocruz . Rua Valdemar Falcão 121-Brotas Cep 41945-001, Salvador-BA

10º dia pós-infecção, que representa uma fase aguda precoce e clones isolados no 30º dia pós-infecção, que representa a fase aguda tardia. Foi detectada uma homogeneidade clonal dos 15 clones isolados em diferentes fases, indicando que esta cepa, mantida em laboratório e apresentando uma estabilidade em seus caracteres gerais representa um clone principal, responsável pelo comportamento biológico comum aos diversos clones, variando entretanto na sua virulência (Camandaroba et al. 2006). Também a nível molecular pela análise do kDNA foi detectada a homogeneidade clonal desta cepa. Estes clones, do mesmo modo que a cepa parental apresentam alta resistência ao Benzonidazol (Camandaroba et al. 2003). O histotropismo dos clones é semelhante ao da cepa parental; o parasitismo de células de diferentes tecidos pôde ser comprovado na infecção por um mesmo clone, indicando que a distribuição de cada clone é ubíqua e não restritiva, e reproduz o tropismo peculiar ao Biodema (Camandaroba et al. 2006).

A presença de um clone principal é importante, para explicar a predominância de determinadas características da doença de Chagas em uma mesma área geográfica. Além disto, o conhecimento da composição clonal pode esclarecer sobre a presença de clones altamente resistentes, impossibilitando a cura pelos quimioterápicos hoje em uso.

REFERÊNCIAS

- Andrade SG. Caracterização de cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas no Recôncavo Baiano. *Rev. Pat. Trop* 3: 165-121, 1974.
- Andrade SG. *Trypanosoma cruzi*: Clonal Structure of Parasite Strains and the Importance of Principal Clones. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 94: 185-187, 1999.
- Camandaroba ELP, Reis EAG, Gonçalves MS, Reis MG, Andrade SG. *Trypanosoma cruzi*: Susceptibility to chemotherapy with benznidazole of clones isolated from the high resistant Colombian strain. *Rev.Soc. Bras. Méd. Trop* 36: 1-9, 2003.
- Camandaroba E, Thé TS, Pessina DH, Andrade SG. *Trypanosoma cruzi*: clones isolated from the Colombian strain, reproduce the parental strain characteristics, with ubiquitous histotropism. *Int. J. Exper. Patbol.* 87:209-217, 2006.
- Campos FC, Gonçalves MS, Reis EAG, Reis MG, Andrade SG. Comparative analysis by Polymerase Chain Reaction amplified minicircles of kinetoplast DNA of a stable strain of *Trypanosoma cruzi* from São Felipe, Bahia, its clones and subclones: possibility of predominance of a principal clone in this area. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 94: 23-29, 1999.
- Campos RM, Andrade SG. Characterization of subpopulations (clones and subclones) of the 21 SF strain of *Trypanosoma cruzi* after long lasting maintenance in the laboratory. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 91: 795-800, 1996.
- Campos FM, Guerreiro MLS, Sobral KSC, Lima, RCPC, Andrade SG. Response to chemotherapy with benznidazole of clones isolated from the 21SF strain of *Trypanosoma cruzi* (biotype Type II, *T. cruzi* II). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 38: 142-146, 2005.
- Momem H. Taxonomy of *Trypanosoma cruzi*: a Commentary on Characterization and Nomenclature. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 94 (Suppl 1):181-184, 1999.
- Tibayrenc M, Ayala FJ. Isozyme variability in *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas; disease:genetical, taxonomical, and epidemiological significance. *Evol* 42 (2):277-292, 1988.
- Tibayrenc M, Breniere SF. *Trypanosoma cruzi*: major clones rather than principal zymodemes. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 83: 249-255, 1988.
- Tibayrenc M, Ward P, Moya A, Ayala FJ. Natural populations of *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas disease, have a complex multiclonal structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:115-119, 1986.
- Toledo MJO, Bahia MT, Carneiro CM, Martins-Filho OA, Tibayrenc M, Barnabé C, Tafuri WL, Lana M. Chemotherapy with Benznidazole and Itraconazole for mice Infected with different *Trypanosoma cruzi* clonal genotypes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47(1):223-230, 2003.