

## A DIVERSIDADE DO PARASITA E HOSPEDEIRO NA DOENÇA DE CHAGAS

### 1. ESTRUTURA CLONAL DAS CEPAS DO *TRYPANOSOMA CRUZI*: IMPORTÂNCIA DE CLONES PRINCIPAIS. S.G. Andrade, R.F.M. Campos. Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz/FIOCRUZ, Salvador, BA, Brasil.

As cepas do *Trypanosoma cruzi* são populações complexas, multiclonais, que diferem em seus caracteres biológicos e genéticos e no seu comportamento no hospedeiro vertebrado. De acordo com Thompson e Lymbery<sup>7</sup>, quando se considera a extensa heterogeneidade genética dentro de espécies de parasitos protozoários ou metazoários, uma "cepa" não só é geneticamente diferenciada de outra população, como também deve diferir em uma ou mais características de significado epidemiológico. O conceito de "cepa" do *T. cruzi* se adapta bem a esta visão geral. Embora os estudos genéticos sejam importantes no sentido de esclarecer a heterogeneidade intra-específica dos parasitos, somente a investigação do seu comportamento biológico e as relações hospedeiro/parasito podem esclarecer a importância de diferentes cepas na determinação de manifestações clínico-patológicas da doença de Chagas. As cepas do *T. cruzi* representam verdadeiras subespécies, tendo como base características intrínsecas como a composição antigênica, caracteres biológicos, perfis isoenzimáticos, suscetibilidade aos quimioterápicos e perfis genômicos do kDNA. O estudo das relações parasito/hospedeiro vertebrado permite também observar diferenças no determinismo de lesões tissulares, dependentes do tropismo, da virulência e da patogenicidade das cepas. Destas observações, surgiu a classificação das cepas em Tipos<sup>1</sup> ou biotemas I, II e III os quais correspondem a zimodemas específicos. Os tipos biológicos se correlacionam com diferentes lesões histopatológicas, principalmente quando se consideram o envolvimento cardíaco e as lesões neuronais. Os diferentes biotemas têm um distribuição ubíqua como foi demonstrado em um estudo de 138 cepas de diferentes áreas geográficas do Brasil e de outros países da América do Sul e Central, sempre com uma tendência ao predomínio de um mesmo tipo de cepa em uma mesma área<sup>2</sup>.

A estrutura clonal de cepas do *T. cruzi* foi estabelecida por Tibayrenc et al<sup>5</sup> baseado na heterogeneidade dos perfis isoenzimáticos, admitindo estes autores que um número limitado de "clones principais" podem estar circulando em diferentes áreas geográficas.

Deste modo, seria importante se estabelecer a estrutura clonal de cepas que predominam em uma mesma área endêmica. A predominância de um mesmo tipo de cepa em uma mesma área geográfica foi primeiro estudada na área de São Felipe, Bahia, por Andrade<sup>1</sup> em 1974, tendo sido então estabelecida a predominância em casos humanos desta área, de cepas de Tipo II, zimodema 2. A estabilidade do comportamento da cepa 21 SF, isolada desta área há mais de 15 anos, conduziu à investigação da sua composição clonal. Inicialmente, foi feita a clonagem e subclonagem desta cepa, tendo sido obtidos 5 clones e 14 subclones<sup>3</sup>. Foi feita a caracterização morfo-biológica e o estudo isoenzimático. Os resultados deste estudo mostraram que os clones e subclones apresentavam um comportamento biológico semelhante ao da cepa parental, com apenas mínimas diferenças nos níveis parasitêmicos e nos padrões isoenzimáticos, confirmando assim a estabilidade desta cepa e sugerindo a homogeneidade das suas populações clonais.

Com o objetivo de verificar se havia uma correspondente homogeneidade a nível genético, da estrutura clonal da cepa 21 SF, foi estudado o seu padrão genético<sup>4</sup>, através da análise do kDNA. Para a caracterização molecular, o padrão do esquizodema das populações clonais em comparação com a cepa parental, foi estudado pela "polymerase chain reaction" (PCR) das regiões variáveis dos minicírculos do kDNA e pela análise dos fragmentos digeridos por endonucleases de restrição (Rsa I e Hinf I). Os resultados mostraram um alto percentual de similaridade entre a cepa parental, seus clones e subclones, a um nível de 80 a 100%. Esta homologia indica a predominância do mesmo "clone principal" na cepa 21 SF, e confirma a homogeneidade, previamente observada, à análise biológica e bioquímica. Estes resultados sugerem a possibilidade de que cepas do *T. cruzi* com semelhantes padrões, circulando nesta área endêmica, são representativas de um clone dominante. A evidência genética de uma homogeneidade clonal na cepa do *T. cruzi* representa um elemento para a compreensão de diferentes aspectos da doença em diferentes regiões, e contribui para a epidemiologia molecular da doença de Chagas. A presença de uma "clone principal" circulando em uma área endêmica, pode ser responsável pela predominância de uma mesmo padrão de cepas

isoladas de pacientes da área de São Felipe, Bahia, todos incluídos no biotipo Tipo II, zimodema 2. Estes clones principais podem ser responsáveis por um tropismo do parasito para determinados órgãos e tecidos, e isto, certamente, contribui para o padrão clínico-patológico da doença de Chagas em uma área endêmica.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andrade SG. Caracterização de cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas no Recôncavo Bahiano. Revista de Patologia Tropical 3:65-121, 1974.
2. Andrade SG, Magalhães JB. Bioidentes and zymodemes of *Trypanosoma cruzi* strains: correlations with clinical data and experimental pathology. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 30:27-35, 1977.
3. Campos RMF, Andrade SG. Characterization of subpopulations (clones and subclones) of the 21 SF strain of *Trypanosoma cruzi* after long lasting maintenance in the laboratory. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 91:795-800, 1996.
4. Campos RMF, Andrade SG. Comparative analysis by PCR 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. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (in press).
5. Tibayrenc M, Ayala FJ. Isozyme variability in *Trypanosoma cruzi* the agent of Chagas' disease: genetical, taxonomical and epidemiological significance. Evolution 45:277-292, 1988.
6. Tibayrenc M, Brenière F, Barnabe C, Lemestre JL, Echalar L, Desjeux P. Isozymic variability of *Trypanosoma cruzi*: biological and epidemiological significance. Annals of Societé Belge de Medecine Tropical 65(supl):59-61, 1985.
7. Thompson RCA, Limbery AJ. Intraspecific variation in parasites. What is a strain? Parasitology Today 6:345-348, 1990.