



QUAIS AS CONSEQUÊNCIAS DA ESTIMULAÇÃO MITOGÊNICA PARA O *Trypanosoma cruzi*, AGENTE ETIOLÓGICO DA DOENÇA DE CHAGAS?

Fernanda Merchiori Gerolamo

Bryan Etindi Abuchery, Thaise Lara Teixeira

Prof. Marcelo Santos da Silva

Instituto de Química/Universidade de São Paulo

fernanda.merchiori@usp.br

Objetivos

Trypanosoma cruzi é o agente etiológico da Doença de Chagas (DC), uma doença que afeta, sobretudo, pessoas de baixa renda nas Américas (1). Nesse continente, a DC é endêmica em 21 países, com cerca de 6 milhões de pessoas infectadas, e 12 mil mortes por ano (2). O tratamento da DC (realizado predominantemente pelo fármaco benznidazol) ainda é um desafio, principalmente devido a baixa chance de cura na fase crônica da doença e aos efeitos colaterais ligados à toxicidade do benznidazol (3). Além disso, *T. cruzi* pode resistir ao tratamento (4), podendo permanecer no hospedeiro por anos em um estado quiescente (dormência) (5). Dessa forma, é evidente a necessidade de refletir sobre novas abordagens terapêuticas.

Com base em achados aparentemente paradoxais em células cancerígenas (6;7), hipotetizamos que células com maiores taxas de replicação sofrem mais danos no DNA. Assim, a estimulação mitogênica poderia ser uma estratégia para ativar formas dormentes do parasita, tornando-as suscetíveis a tratamentos combinados que inibem o reparo do DNA, potencialmente levando à sua eliminação. Nesse sentido, o objetivo central deste projeto é investigar os efeitos genéticos e fenotípicos decorrentes dessa estimulação, bem como

avaliar a infectividade e a virulência do parasita em resposta ao tratamento mitogênico.

Métodos e Procedimentos

Para acessar as consequências da estimulação mitogênica em *T. cruzi*, selecionamos dois agentes: o LB-100 — um inibidor competitivo da proteína fosfatase 2A que vem sendo explorado no tratamento de cânceres — e o Fator de Crescimento Transformador alfa (TGF- α) — um polipeptídeo evidenciado agente mitogênico para *T. cruzi*. Para avaliar a melhor concentração do mitógeno, duração do tratamento e realizar uma caracterização fenotípica, realizamos ensaios cinéticos. Estes ensaios basearam-se em curvas de crescimento, ensaios de viabilidade celular pelo método do MTT, análises de conteúdo de DNA utilizando citometria de fluxo, análise de dano de DNA por imunofluorescência indireta utilizando α - γ H2A, verificação de taxa de replicação intracelular a partir da infecção de cardiomiócitos humanos (AC16) e análise por microscopia de fluorescência.

Resultados

O LB-100 não é capaz de estimular a multiplicação de formas epimastigotas de *T. cruzi* em concentrações menores que 5 μ M.

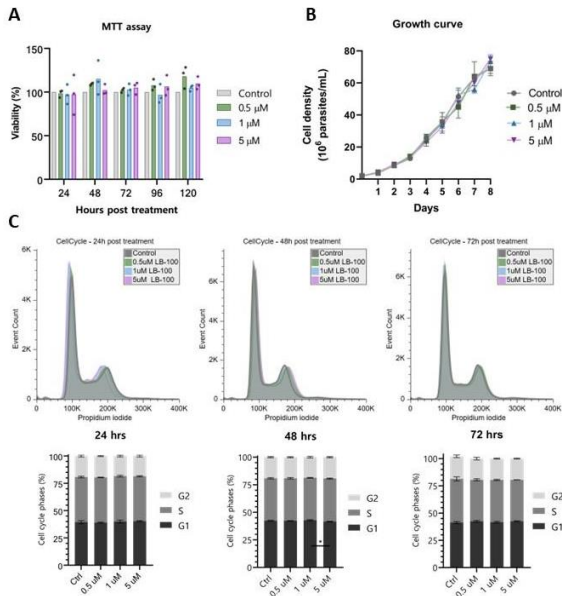


Figura 1. Influência do LB-100 em formas epimastigotas de *T. cruzi*. **A.** Efeito de diferentes concentrações de LB-100 na viabilidade de epimastigotas de *T. cruzi*, evidenciando que o agente não é tóxico em concentrações até 5 μM . **B.** Curva de crescimento de epimastigotas durante 8 dias consecutivos. O LB-100 foi adicionado nas diferentes concentrações no dia 3. **C.** Análise do conteúdo de DNA dos epimastigotas 24, 48 e 72 h após tratamento. Aparentemente, o tratamento não causa efeito na progressão do ciclo celular de epimastigotas de *T. cruzi*.

O LB-100 é tóxico para cardiomiócitos em concentrações acima de 5 μM . Em concentrações inferiores, não causa diferença no número de amastigotas intracelulares.

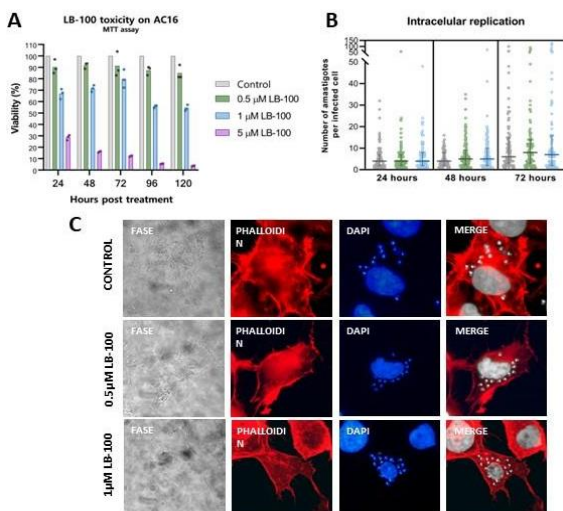


Figura 2. Influência do LB-100 em formas intracelulares de *T. cruzi*. **A.** Efeito de diferentes concentrações de LB-100 na viabilidade de cardiomiócitos humanos (AC16). **B.** Cardiomiócitos foram infectados por tripomastigotas de cultura de tecidos (TCTs) com MOI 1:10 e lavados após 4 h de infecção. O LB-100 foi adicionado 24 h após infecção. Quantificamos o número de amastigotas em 100 células infectadas até 72 h após o tratamento. **C.** Imagens representativas do ensaio de infecção obtidas após 72 h de tratamento, evidenciando o citoesqueleto de actina dos cardiomiócitos e seu núcleo, bem como as organelas contendo DNA das formas amastigotas de *T. cruzi* (núcleo e kinetoplasto).

Conclusões

A análise dos resultados preliminares mostra que as diferentes concentrações de LB-100 testadas não são capazes de induzir diferenças significativas no fenótipo de epimastigotas e amastigotas de *T. cruzi* durante o tempo avaliado. Hipóteses estão sendo levantadas para explicar o fenômeno observado, bem como análises da expressão da PP2A nas diferentes formas do parasita serão feitas. Os próximos passos envolvem a utilização do TGF- α . Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

- NEVES, et al. Parasitologia humana. 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2016.
- WHO. American Trypanosomiasis. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)). Acesso em: 5 maio 2024.
- CASTRO, et al., Toxic side effects of drugs used to treat Chagas' disease. Hum. Exp. Toxicol., v. 25, n. 8, p. 471-479, 2006.
- SÁNCHEZ-VALDÉZ, F. J. et al. Spontaneous dormancy protects *T. cruzi* during extended drug exposure. eLife, v. 7, e34039, 2018.
- JAYAWARDHANA, S. et al. Benznidazole treatment leads to DNA damage in *T. cruzi* and persistence of non-replicative amastigotes. PLoS Pathog., v. 19, n. 11, e1011627, 2023.
- DIAS, M. H., et al. Playing cancer at its own game: activating mitogenic signaling as a paradoxical intervention. Mol. Oncol., v. 15, n. 8, 1975-1985, 2021.
- DIAS, M. H., et al. Paradoxical activation of oncogenic signaling as a cancer treatment strategy. Cancer Discovery, 14(7), 1276-1301. 2024.