

UMA ENTREVISTA COM A PROFESSORA E BIOMÉDICA NORMANDA SOUZA MELO: CARACTERIZAÇÃO DE PROTEÍNA DO *Trypanosoma cruzi*, E A DOENÇA DE CHAGAS, UM ALERTA PARA TODOS

Marilene Gloria da Silva¹

Fotografia Normanda Souza Melo



Fonte: Imagem Própria

A doença de Chagas afeta cerca de 7 milhões da população mundial, adultos e crianças. É causada pelo *Trypanosoma cruzi*, que apresenta ciclo heteroxênico, onde uma parte ocorre no hospedeiro invertebrado, o triatomíneo, conhecido popularmente como “barbeiro” ea outra parte nos hospedeiros mamíferos, como por exemplo o ser humano e marsupiais entre outros. Essa doença afeta principalmente o órgão do sistema circulatório e gastrointestinal. A doença de Chagas é contraída principalmente pelo contato das fezes contaminadas do barbeiro e/ou por alimentos e bebidas contaminados. Além de poder ser transmitida por transfusão sanguínea e transplante de órgãos de pacientes contaminados. Em alguns lugares, é conhecida como doença dos “MEGAS”, mega coração, megaesôfago, provocando muito cansaço. O diagnóstico é difícil, pois pode ser facilmente confundida com uma gripe. Os sintomas são variáveis como febre, fadiga e dores musculares, entre outros. Em geral a doença é diagnosticada no estágio crônico e as medicações existentes tem pouca ou nenhuma eficácia. Dessa forma, é necessário que os pesquisadores realizem a caracterização de proteínas para melhor compreensão do *T. cruzi*, viabilizando a produção de vacinas, testes diagnósticos, e desenvolvimentos de medicamentos que possam ser utilizados no tratamento da doença. A enfermidade ainda é uma questão de saúde pública, pois falta investimento e conscientização da população sobre a doença. A pesquisa realizada pela professora Normanda Souza Melo realiza a

¹ Marilene Gloria da Silva – acadêmica de Licenciatura em Ciências Biológicas da UFRJ/CEDERJ.

identificação da proteína por meio de edição gênica onde para caracterização das proteínas é utilizado um sistema chamado CRISPR/Cas9 que torna possível fazer edição de gênica usando marcadores de fluorescência para observar a localização da proteína no parasita, como a proteína verde fluorescente (GFP), extraída da água-viva. Sendo também possível retirar a proteína no parasita para observar a importância dela para o protozoário durante o seu ciclo de vida. Assim, os achados da pesquisa podem fornecer informações para outros estudos mais específicos, buscando opções de drogas que hajam na proteína, e que possam agir na forma infectiva do parasita, desenvolvimento de vacinas e criação de kits diagnósticos. Este trabalho tem como título Mecanismo de Montagem da zona de adesão flagelar do *Trypanosoma cruzi*.

Essa entrevista com a pesquisadora, professora, biomédica da UFRJ Normanda Souza Melo, realizada pela acadêmica de licenciatura em Ciências Biológicas do consórcio CEDERJ/UFRJ Marilene Gloria da Silva, foi realizada para um trabalho de extensão no projeto do Museu da Geodiversidade da UFRJ no campus Fundão do prédio CCMN (Centro de Ciências Matemática e da Natureza).

Marilene: Poderia me falar um pouco do seu perfil?

Normanda: Meu nome é Normanda Souza Melo, sou original de Minas Gerais (MG). Sou da cidade São Francisco, uma cidade bem na divisa com a Bahia, que se chama São Francisco porque na cidade passa o Rio São Francisco. Moro bem na beirinha do Rio São Francisco. Possuo graduação em Biomedicina - Faculdades Integradas Pitágoras de Montes Claros, mestrado e doutorado em Ciências Bioquímica e Biologia molecular pela Universidade Federal do Paraná (UFPR) e pós-doutorado pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Atuo no programa de Microbiologia e Imunologia no Departamento de Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e no Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho/UFRJ. Tenho experiência na área de Parasitologia, com ênfase em Biologia molecular e celular de parasitos, atuando principalmente na compreensão dos fatores de virulência do *Trypanosoma cruzi*. Possuo domínio em técnicas de edição gênica e demais técnicas de biologia molecular além de apresentar competência na área de ultraestrutura celular. Sou também tutora a distância pelo CEDERJ.

Marilene: Como foi sua formação?

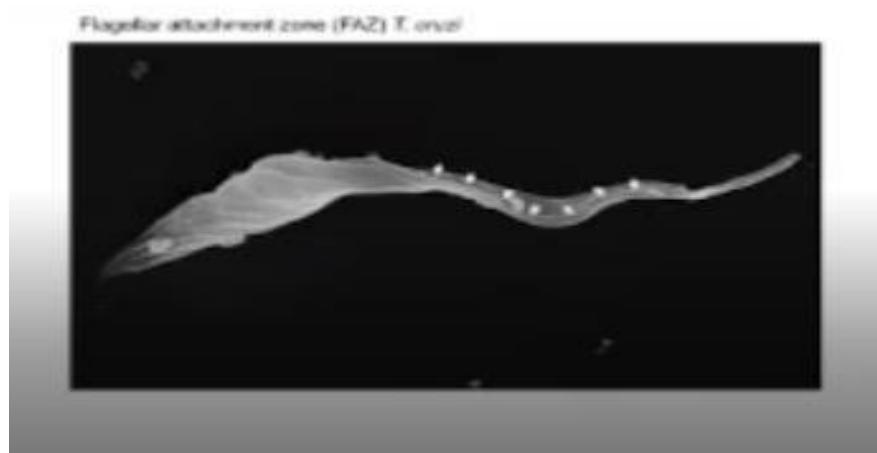
Normanda: Saí de São Francisco e fui para a cidade de Montes Claros -MG onde fiz

faculdade de Biomedicina. Sou biomédica, minha primeira formação. Depois que me formei, fui fazer mestrado e doutorado em Curitiba, e lá eu comecei a trabalhar com a doença de Chagas.

Marilene: Por favor, poderia contar de seu trabalho?

Normanda Souza: Trabalho há mais de 10 anos com a doença de Chagas. Eu já trabalhei com outros microrganismos como *Leishmania* que causa o calazar e também com o *Trypanosoma brucei* que causa a doença do sono. A doença de Chagas é causada por um bichinho chamado de *Trypanosoma cruzi*. Antigamente a doença de Chagas era conhecida como a doença que deixa o coração grande, a doença dos megas. Os principais achados da doença são megaesôfago, um mega coração, e isso atrapalha muito a vida da pessoa. Ao desenvolver a fase crônica da doença, há pessoas que podem apresentar problemas cardíacos e gastrointestinais que podem culminar no óbito. A doença de Chagas na minha região é uma doença endêmica, essa região é quente e bem propícia para o crescimento do barbeiro. Meu avô por parte de mãe morreu de doença de Chagas.

Figura 2: microscopia eletrônica do *Trypanosoma cruzi*

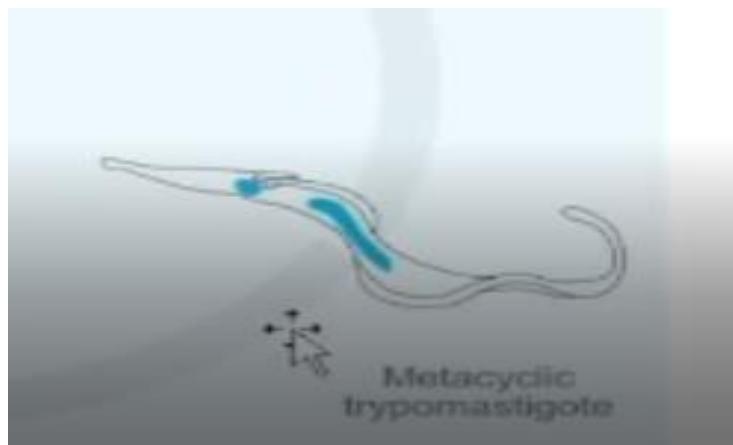


Fonte: Acervo Próprio

Na figura 2, acima, temos uma microscopia eletrônica de varredura do *Trypanosoma cruzi*. Por meio dela, conseguimos ver a superfície dos microorganismos. E não estamos vendo o meio intracelular. Está é a forma do parasita que é encontrada no inseto. O ser humano pode adquirir essa doença de algumas formas, como pode se contaminar por via

oral, comendo, por exemplo, açaí ou caldo de cana, onde na hora do processamento sem querer a pessoa processou junto o barbeiro que estava contaminado. Importante esclarecer que não são todos barbeiros que estão contaminados. Ele só se contamina quanto se alimenta do sangue de algum mamífero que esteja contaminado. Não obrigatoriamente o mamífero vai ser o humano. Pode ser o gambá, o tatu. Esses bichinhos chamamos de reservatório naturais porque convivem com o *Trypanosoma cruzi* dentro deles naturalmente, mas quem sofre é o ser humano. As pessoas não são adaptadas. Nós só convivemos com algumas bactérias, alguns fungos de maneira não agressiva para nós, em simbiose, mas, com o *Trypanosoma cruzi* não. Dizemos que ele é uma parásita mesmo, porque ele usa tudo da célula. Ele se prolifera dentro da célula, “estoura” ela e assim vai infectar outros órgãos, outras células. O *Trypanosoma cruzi* vai ter formas de crescimento, que se replicam, fazendo outra igualzinha a ele. Chamamos isso forma de replicação. No inseto esta forma é a epimastigota e no mamífero amastigota. E vai ter as formas infectivas chamadas de tripomastigotas. Que no inseto é chamado de tripomastigota metacíclica e no mamífero tripomastigota sanguínea. Na forma clássica de transmissão da doença, a fêmea do barbeiro realiza o ato de hematofagia (alimentação por sangue na picada) e defeca no local da picada liberando as formas infectivas tripomastigotas metacíclicas (figura 3).

Figura 3: Forma Trypamastigota metacíclica (2020)

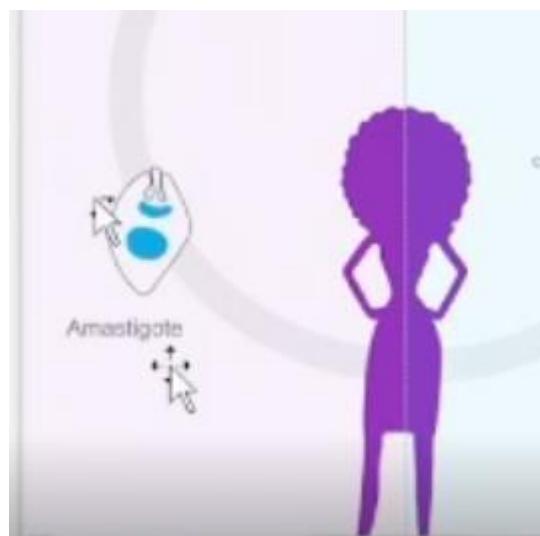


Fonte: Acervo Próprio

Ao coçar o local da picada, micro lesões são feitas na pele e as formas infectivas entram dentro da célula e se transformam na forma replicativa chamada amastigota (figura 4).

Assim, essa forma amastigota se replica várias vezes e se diferencia nas formas tripomastigotas sanguíneas. Que se movimentam dentro da corrente sanguínea para infectar novos tecidos. Com isso o *T. cruzi* pode infectar novas células e novos tecidos e/ou pode ser ingerido por um outro barbeiro que está no ato de hematofagia.

Figura 4: Forma amastigota que fica dentro dos mamíferos



Fonte: Acervo Próprio

Marilene: Poderia falar mais sobre sua pesquisa?

Normanda: O que eu faço na minha pesquisa desde o mestrado até o pós-doc aqui no Rio de Janeiro, em geral, é tentar identificar proteínas desse parasita. Por exemplo: a SARS-CoV-2 que causa a COVID-19 tem 3 tipos de proteínas principais. Já o *Trypanosoma cruzi* tem mais de 10000 (dez mil) proteínas. E dessas proteínas nem todas sabemos o que faz e para que serve no parasita. É importante caracterizarmos cada proteína dessas, para conhecer melhor o microrganismo. De maneira geral, conhecendo melhor cada proteína é possível desenvolver ou testar drogas mais eficazes. Essas proteínas podem servir com isso de alvo quimioterápico. O meu papel é caracterizar proteínas, que mais na frente possam servir como alvo para algum medicamento e assim nós podemos conseguir ter um tratamento eficaz para a doença de Chagas. Hoje temos um tratamento que é muito ineficaz nas fases crônicas e que em geral é muito difícil de identificar. Se você está com doença de Chagas. Nas fases iniciais, em que os sintomas são variáveis, pode não identificar que está com Chagas. A doença é silenciosa e quando você vai descobrir que

tem a doença, já é muito lá na frente. Você já está na fase crônica e, com isso, o paciente tem problema cardíaco. Então ele pode ter um infarto do miocárdio, por exemplo. Meu avô morreu de infarto do miocárdio justamente porque o coração dele começou a falhar. Ele morreu muito novo. Naquela época tinha muita transmissão e não tinha o controle do vetor, o barbeiro. Mas hoje nós temos outra realidade. Na via clássica adquirimos a Doença de Chagas pela picada do barbeiro e ocorre a contaminação na corrente sanguínea. Para você desenvolver a fase crônica da doença de chagas pode levar de 10 a 20 anos. Quando você faz a ingestão oral, por exemplo, com o açaí contaminado e/ou caldo-de-cana, a doença é muito mais rápida e muito mais agressiva. Em alguns lugares como a Argentina tem um número muito grande de barbeiro. Com isso, tem muita criança contaminada com a doença de chagas. As crianças contaminadas são piores ainda pois são muito novinhas e quando ela tiver 20 anos elas vão sofrer com as formas crônicas. No Brasil, nos hemocentros, nós fazemos a sorologia para ver se não tem a presença do *T. cruzi*. Com a globalização, pessoas infectadas aqui que não sabem que estão infectadas podem viajar para outros países e fazer doação de sangue ou transplante. Se nesse lugar não tiver o teste sorológico de triagem antes da pessoa receber o órgão e/ou o sangue, ela pode ficar contaminada, sem obrigatoriamente ter tido contato com o barbeiro picando. Justamente por essa globalização e aumento do número de infecção, os microrganismos de uma maneira geral são expostos a diferentes organismos e condições ambientais podendo sofrer mutações, gerando outros subtipos que vão se adaptando cada vez mais as condições que são submetidos. O *Trypanosoma cruzi* é extremamente adaptado aos ambientes que parasita. Por exemplo: o vírus SARS-CoV-2 que causa a Covid-19 apresenta alguns subtipos como: Delta, Gama, Omicrom e outras variantes. O *Trypanosoma cruzi* tem mais de 100 subtipos e assim explica porque temos a pergunta “se já temos a cura para a covid por que essa doença está a tanto tempo aí?”. É justamente porque temos um número de proteínas muito grande e vários subtipos. Para que possamos conseguir fazer uma vacina, temos que conseguir pegar um modelo que seja comum a todos. Na pesquisa para o desenvolvimento de vacinas e fármacos mais eficientes para o tratamento da Doença de Chagas, isso é um desafio. Porque o melhor alvo é o que abrange o maior número de subtipos. No Brasil os grupos de pesquisa trabalham incansavelmente para conhecer melhor a biologia do parasita, caracterizar proteínas, desenvolver vacinas e kits diagnósticos para combater e identificar a Doença de Chagas. Os medicamentos que temos são muito tóxicos e a pessoa sofre muito durante o processo de tratamento, então hoje os esforços são para tentar encontrar um bom medicamento que seja acessível,

barato que tenha em todos os locais. Porque não adianta produzir um medicamento caro que só uma parcela da população tenha acesso. No mundo, temos mais de 7 milhões de pessoas com doenças de chagas e essas pessoas sofrem. Elas vão ter que fazer um tratamento para problema cardíaco, não vão produzir financeiramente, vão viver cansadas, vão ter muitos problemas de saúde. Hoje, para conter a doença, é feito o controle vetorial, uma triagem em banco de sangue, transplante e conscientização da população. O *Trypanosoma cruzi* que causa a doença de Chagas é parente do *Trypanosoma brucei* que causa da Doença do Sono na África, da Leishmania que causa o a Leishmaniose cutânea, tegumentar e visceral (conhecida como calazar). O foco da minha pesquisa atual é fazer a caracterização de proteína do *Trypanosoma cruzi* da Zona de Adesão Flagelar (FAZ) que forma um “Ziper” de adesão entre o flagelo e o corpo do parasita. O *Trypanosoma cruzi* é uma célula eucariota, unicelular. Dependendo da fase do ciclo celular que o parasita está, as suas estruturas internas são rearranjadas. E a FAZ tem um papel importante durante o processo de diferenciação. Em nossa pesquisa trabalhamos com edição gênica, onde alteramos o DNA do parasita para estudar o papel das proteínas. Nós utilizamos uma estratégia na qual marcamos a proteína com um marcador verde fluorescente para observar sua localização no interior do parasita. E também retiramos a proteína para observar o que a falta dela causa no ciclo celular do parasita. Atualmente estudo a glicoproteína 72 de *T. cruzi* que realiza um papel no “zíper” ligando o flagelo a membrana da célula. Com essas abordagens podemos levantar os seguintes questionamentos: Será que sem essa proteína o parasita tem como ainda infectar? Será que o parasita consegue crescer sem essa proteína? Dessa forma conseguiremos provar que essa proteína é importante ou não no ciclo biológico do parasita.

Marilene: Quais as suas expectativas para o aluno que diz que quer seguir a sua área?
Tem alguma dica?

Normanda: Fazer iniciação científica é o primeiro passo. Ajuda muito na formação do pensamento crítico. E escolher uma área de pesquisa que goste. Porque a formação científica não é fácil e precisa querer e se dedicar muito.

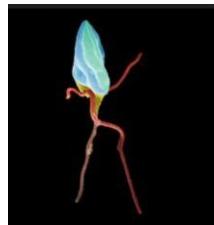
Marilene: Qual experiência em ensino e pesquisa que mais te impactou profissionalmente?

Normanda: Foram as trocas dentro do laboratório. Trocas de conhecimento e saberes entre profissionais e estudantes.

Marilene: Se você não estivesse trabalhando com a sua pesquisa nesse momento, no que estaria trabalhando?

Normanda: Estaria trabalhando com artes, ou cantando. Fui premiada com o prêmio Fotografia e Arte do CNPq. Adquiri uma imagem de um dos meus parasitas mutantes, e na qual tive a interpretação de um parasita dançante (figura 5). Fazer ciência é arte.

Figura 5: Parasita mutado com alteração na divisão celular, na microscopia de varredura



Fonte: Acervo Próprio

Marilene: Deixe uma mensagem.

Normanda: “Continue a nadar; continue a nadar; continue a nadar”. “Nunca ter medo de conhecer o novo.”