

CARACTERIZAÇÃO DO GENE QUE CODIFICA A PROTEÍNA CICLOFILINA-A EM POPULAÇÕES DO *Trypanosoma cruzi* SENSÍVEIS E RESISTENTE AO BENZONIDAZOL.

Francirlene de Sousa Carvalho (bolsista), Humberto Medeiros Barreto (Co-orientador, UFPI); Silvane M. Fonseca Murta (Colaboradora, CPqRR/FIOCRUZ); Gandhi Radis Baptista (Colaborador, UFC), Juciane Vaz Rêgo (Orientador, UFPI)

INTRODUÇÃO

A doença de Chagas ou Trypanosomíase Americana é causada pelo protozoário parasita *Trypanosoma cruzi*. Estima-se que mais de 25 milhões de pessoas correm o risco de ter a doença na América Latina. (WHO 2011). A quimioterapia da doença de Chagas está restrita ao Nifurtimox (NFX) e ao Benzonidazol (BZ). Ambos compostos apresentam limitações como a existência de cepas naturalmente resistentes. Diante disso vários estudos de resistência a drogas tem identificado proteínas e RNAs diferencialmente expressos através da técnica de proteômica e microarranjo de DNA. Dentre estes selecionamos a proteína ciclofilina-A (CyPA). Esta proteína tem atividade peptidilprolil isomerase cis/trans (PPIase) que acelera o enovelamento de proteínas. E apresenta importantes funções biológicas, interação proteína-proteína, resposta a estresses e enovelamento proteico. Neste trabalho fez-se a caracterização da proteína ciclofilina-A (CyPA19), determinando o número de cópias e o nível de expressão do mRNA, nas populações do *T. cruzi* sensíveis e resistentes ao BZ.

METODOLOGIA

Para determinar o nível de mRNA e o transcrito do gene TcCyP19 nas populações, sensíveis e resistentes utilizou-se análises de northern blot hibridizado com uma sonda específica do gene. O número de cópias e a quantificação do nível de mRNA do gene nas populações do *T. cruzi* Sensíveis e Resistentes ao Benzonidazol foi determinado através de Real Time.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho selecionamos a proteína ciclofilina-a, encontrada superexpressa em populações do *T. cruzi* resistente ao benzonidazol. A Ciclofilina-a pertencem a Peptidilprolil isomerase cis/trans (PPIases) e está envolvida em muitos processos biológicos, incluindo o enovelamento de proteínas, imunossupressão, sinalização celular, apoptose, (JIN et al., 2000), divisão celular, regulação celular, regulação da transcrição, Splicing pré-mRNA, tolerância a stress, etc. (CHEN et al., 2007;).

Em nossas análises de Northern blot do gene TcCYP19 mostraram um transcrito de 1,4Kb para todas as 8 cepas do *T. cruzi* S ou R analisadas. E revelaram um aumento de aproximadamente duas vezes no nível de mRNA do gene TcCyP19 nas populações 17LER, comparada com a BZS. Entretanto nossos resultados mostraram que não existem diferenças no número de cópias do gene TcCyP19 entre as cepas sensíveis e resistentes ao benzonidazol através de ensaios de Real Time. Um dado similar foi encontrado por Guimond e colaboradores (2003) estudando parasitas resistentes ao metotrexato que encontraram a superexpressão dos genes γ -glutamilcisteína sintetase, P-glicoproteína A, pterina redutase 1 e dihidrofolato-redutase-timidilato-sintase mediada pela sua amplificação e por outros mecanismos. Os autores observaram também a presença de três novos

genes (glutathione sintase, S-adenosilhomocisteína hidrolase e S-adenosilmetionina sintase) que são superexpressos em parasitas resistentes à droga, no qual o gene não está amplificado no genoma do parasita.

Além disso, a ciclofilina-a envolve-se em infecções virais, doenças cardiovasculares e câncer, além de exibir uma expressão elevada em diversos tipos de câncer. Observa-se também que a ciclofilina-a pode promover a proliferação de células cancerígenas, anti-apoptose, migração celular / invasão e resistência à droga em vários tipos de células cancerosas (OBCHOEI et al. 2009). Sugerimos que a proteína TcCYP19 esteja envolvida direta ou indiretamente nos mecanismos de resistência do parasita, uma vez que a ação de estresse produzido pelo BZ possa provocar esse aumento de transcrição da ciclofilina-a.

CONCLUSÕES

- Não houve diferença no número de cópias do gene TcCYP19 entre as populações sensíveis e resistentes do *T. cruzi* ao Benzonidazol.
- Análise de Northern blot com a sonda do gene TcCYP19 mostrou a presença do transcrito de 1,4Kb
- O mRNA do gene TcCYP19 apresentou um aumento de expressão (2,0)x na população resistente do *T. cruzi* ao benzonidazol, sugerindo que o gene esteja envolvido direta ou indiretamente nos mecanismos de resistência do parasita a droga.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.CHEN, S; ZHANG M. MA H., SAIYIN, H. SHEN, S, XI, J; WAN B. YU L. Oligos-microarray analysis reveals the role of cyclophilin A in drug resistance. *Cancer Chemother Pharmacol.*2008.
- 2.GUIMOND, C.; TRUDEL, N.;BROCHU C.; MARQUIS N.;EL FADII A.; PEYTAVI R.; BRIAND G.; RICHARD D.; MESSIER N.;PAPDOPOULOU B.;CORBIEL J.; BERGERON MG.; LÉGORE D.; QUELLETE, M. Modulation of gene expression in leishmania drug resistant mutants as determined by targeted Dna microarrays. *Nucleic Acids res.* 15;31(20):5886-96.oct, 2003.
- 3.OBCHOEI S;WONGHAN S; WONGKHAM C; LI M; YAO Q; CHEN C. Cyclophilin A: potential functions and therapeutic target for human cancer. *Med Sci Monit.* Nov; 15(11): RA221-32,2009.
- 4 WHO. Chagas disease (American Trypanosomiasis). Media Centre. fact sheet n°340, june, 2011.
- JIN ZG; MELARAGNO MG; LIAO DF; YAN C; HAENDELER J; SUH YA; LAMBETH JD; BERK BC. Cyclophilin A is a secreted growth factor induced by oxidative stress. *Circ Res.* 87:789-796.2000.

Palavra Chave: *Trypanosoma cruzi*, Ciclofilina_A, Resistência a droga.