

INTRODUÇÃO

Trichomonas vaginalis é um protozoário flagelado que coloniza o trato urogenital humano causando a tricomonose, a doença sexualmente transmissível (DST) não viral mais comum no mundo¹. Em mulheres, *T. vaginalis* produz vaginite, acompanhada de corrimento bolhoso, amarelado ou esverdeado, desconforto na micção e prurido. Em homens, geralmente a tricomonose é assintomática².

O ferro é utilizado por todos os organismos vivos, desde o mais simples até o mais complexo, para realizar inúmeras funções biológicas. O *T. vaginalis* possui múltiplos sistemas de aquisição de ferro, como receptores para hemoglobina, hemina, e adesinas dos eritrócitos e células epiteliais³. O ferro tem papel fundamental no aumento da citoaderência do parasito a células epiteliais vaginais e na modulação de mecanismos de evasão da resposta imune do hospedeiro. Estudos têm demonstrado o envolvimento das enzimas NTPDase e ecto-5'-nucleotidase na patogênese de diversas infecções⁴.

OBJETIVOS

Investigar o efeito do ferro na cinética de crescimento e nas atividades das enzimas NTPDase e ecto-5'-nucleotidase de isolados de *T. vaginalis*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Nesse estudo foram utilizados os isolados: 30236 (American Type Culture Collection), TV-LACM1 (isolado clínico de paciente do sexo feminino) e TV-LACH1 (isolado clínico de paciente do sexo masculino). Os isolados de *T. vaginalis* foram cultivados no meio *trypticase*-extrato de levedo-maltose (TYM)⁵. Para avaliar o efeito do ferro na cinética de crescimento dos parasitos e na atividade das enzimas NTPDase e ecto-5'-nucleotidase, os parasitos foram submetidos às condições: quelante (bipiridil 50 μ M), sulfato ferroso (200 μ M), hemoglobina (25 μ M) e hemina (25 μ M). Na cinética de crescimento, o número de trofozoítos viáveis foi obtido através de sucessivas contagens em 12, 24, 48 e 72hs. Para avaliar o efeito do ferro na atividade das enzimas, as culturas tratadas com ferro foram centrifugadas e lavadas com solução salina glicosada. Para determinar a atividade enzimática, os seguintes sistemas reacionais foram utilizados: tampão TRIS (pH 7,2) e $CaCl_2$ para ATP e ADP e tampão TRIS (pH 7,5) e $MgCl_2$ para AMP. Cada isolado foi incubado por tempo e concentração protéica previamente determinado para cada nucleotídeo. A reação foi iniciada pela adição do substrato ATP, ADP (1mM) ou AMP (3mM) e interrompida pela adição de TCA 10%. Controles sem a adição de trofozoítos foram utilizados para descontar a hidrólise não enzimática. O fosfato inorgânico liberado foi quantificado por método colorimétrico⁶.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

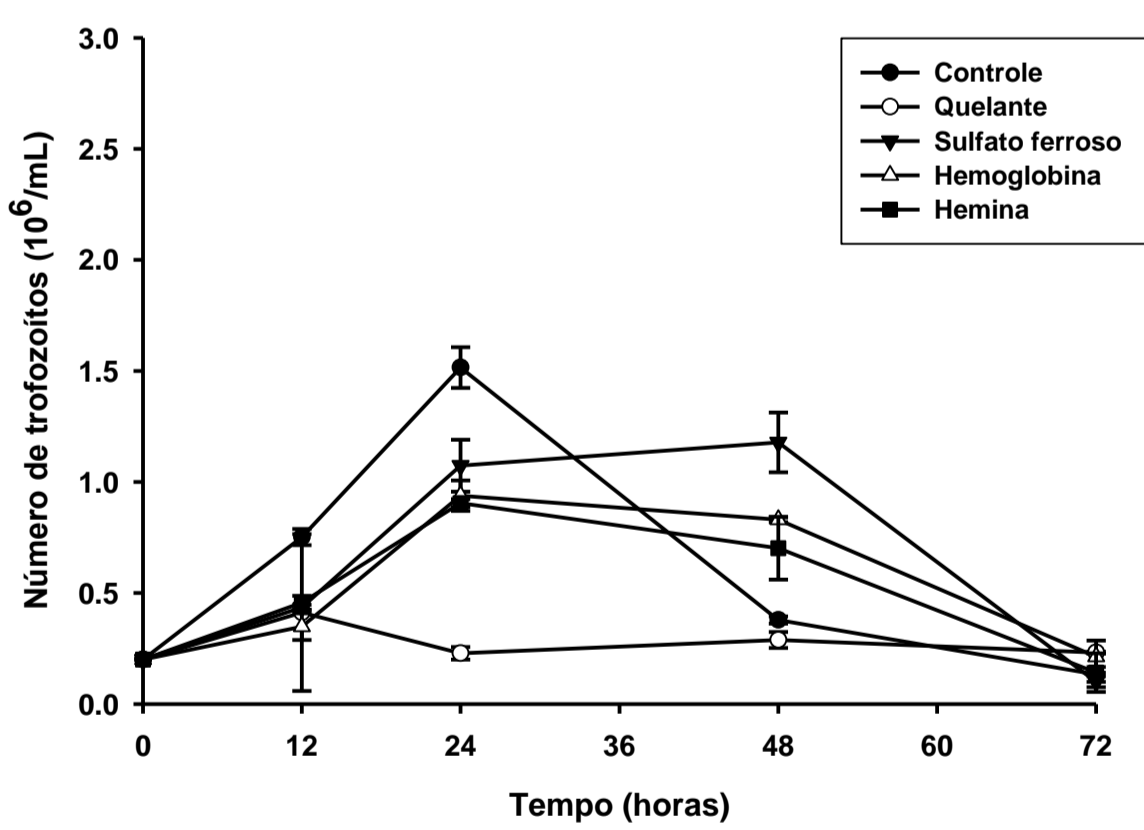


Figura 1. Efeito das diferentes fontes de ferro na cinética de crescimento em trofozoítos do isolado 30236. O quelante inibiu o crescimento dos trofozoítos. Sulfato ferroso, hemoglobina e hemina, mantiveram o crescimento dos trofozoítos por tempo mais prolongado em comparação ao controle.

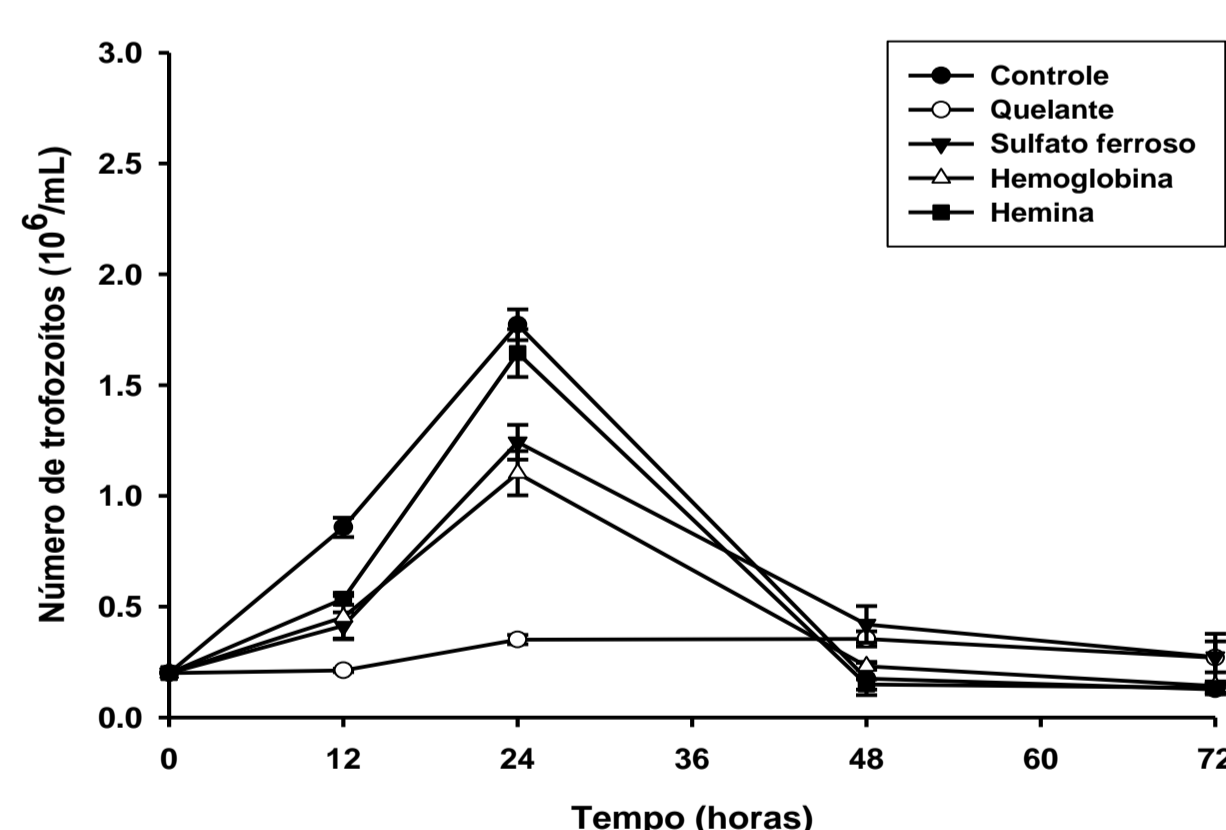


Figura 2. Efeito das diferentes fontes de ferro na cinética de crescimento em trofozoítos do isolado TV-LACH1. O quelante inibiu o crescimento dos trofozoítos.

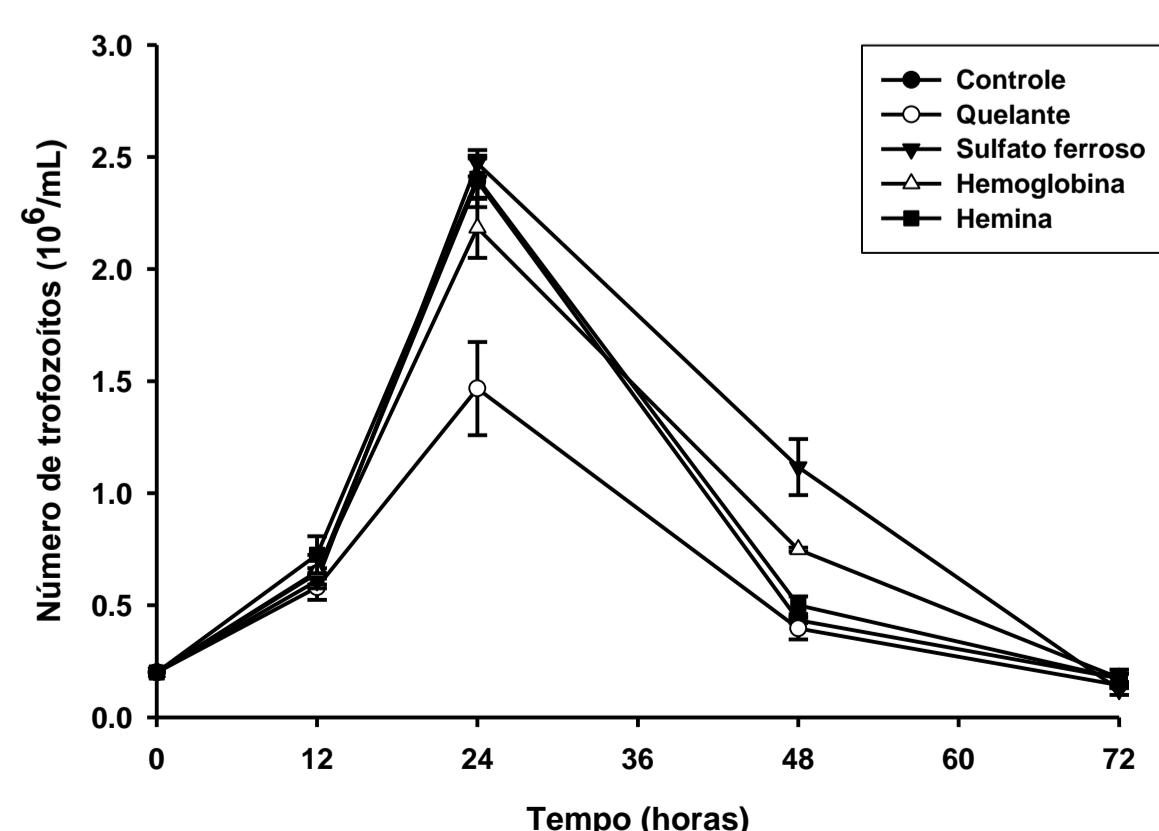


Figura 3. Efeito das diferentes fontes de ferro na cinética de crescimento em trofozoítos do isolado TV-LACM1. O quelante inibiu o crescimento dos trofozoítos.

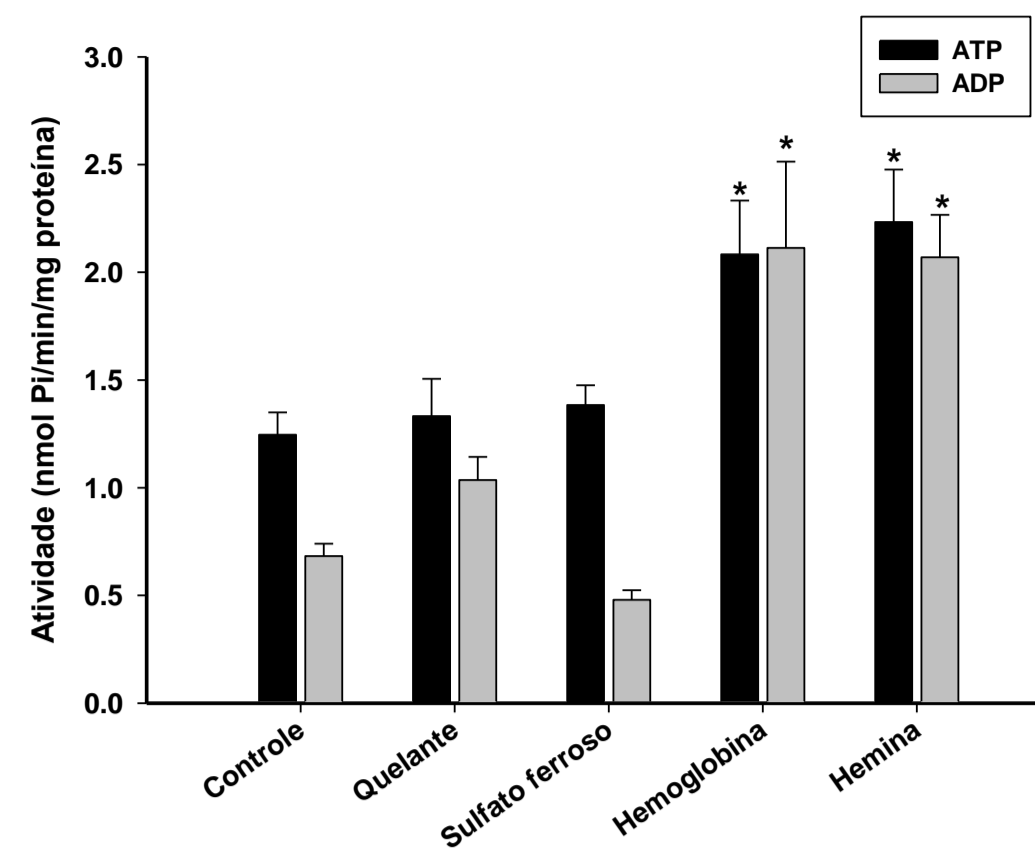


Figura 4. Efeito das diferentes fontes de ferro na hidrólise de ATP e ADP em trofozoítos do isolado 30236. Hemoglobina e hemina provocaram um aumento estatisticamente significativo na atividade de hidrólise de ATP e ADP. * $P > 0,05$.

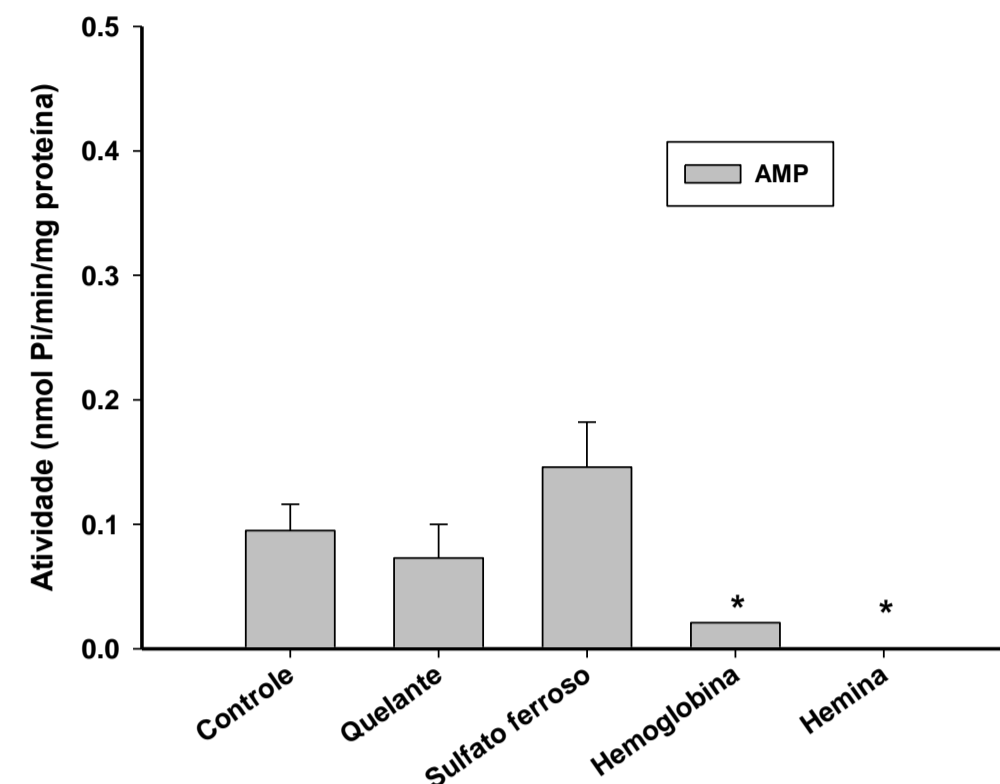


Figura 5. Efeito das diferentes fontes de ferro na hidrólise de AMP em trofozoítos do isolado 30236. Hemoglobina e hemina provocaram uma diminuição estatisticamente significativa na atividade de hidrólise de AMP. * $P > 0,05$.

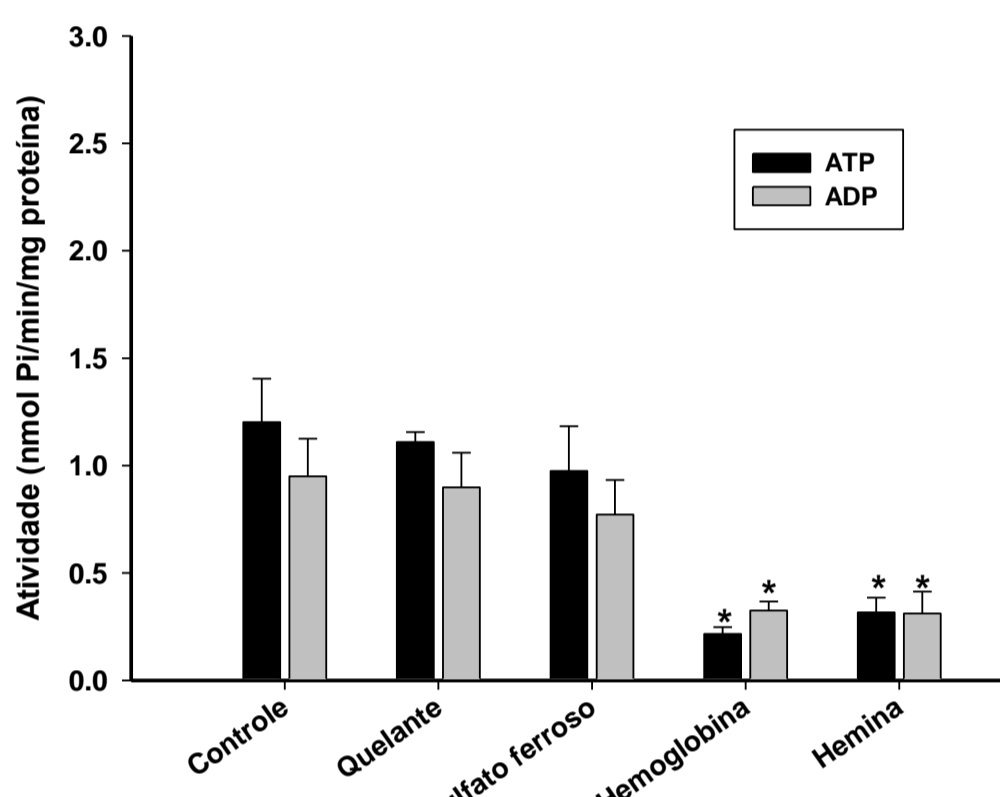


Figura 6. Efeito das diferentes fontes de ferro na hidrólise de ATP e ADP em trofozoítos do isolado TV-LACH1. Hemoglobina e hemina provocaram uma diminuição estatisticamente significativa na atividade de hidrólise de ATP e ADP. * $P > 0,05$.

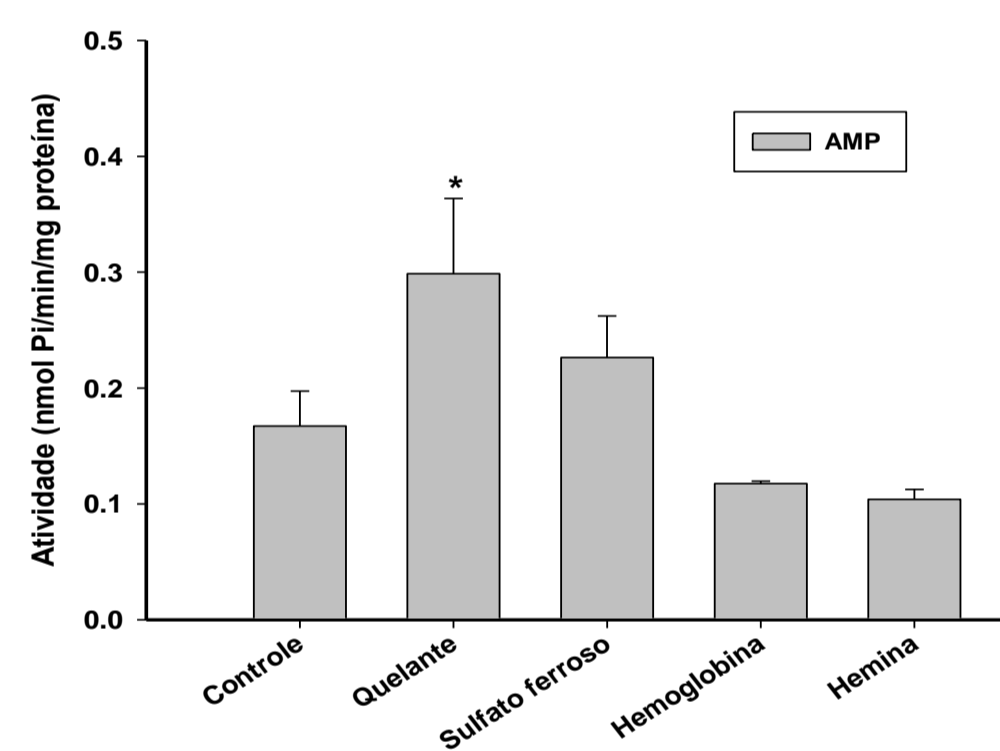


Figura 7. Efeito das diferentes fontes de ferro na hidrólise de AMP em trofozoítos do isolado TV-LACH1. Quelante provocou um aumento estatisticamente significativo na atividade de hidrólise de AMP. * $P > 0,05$.

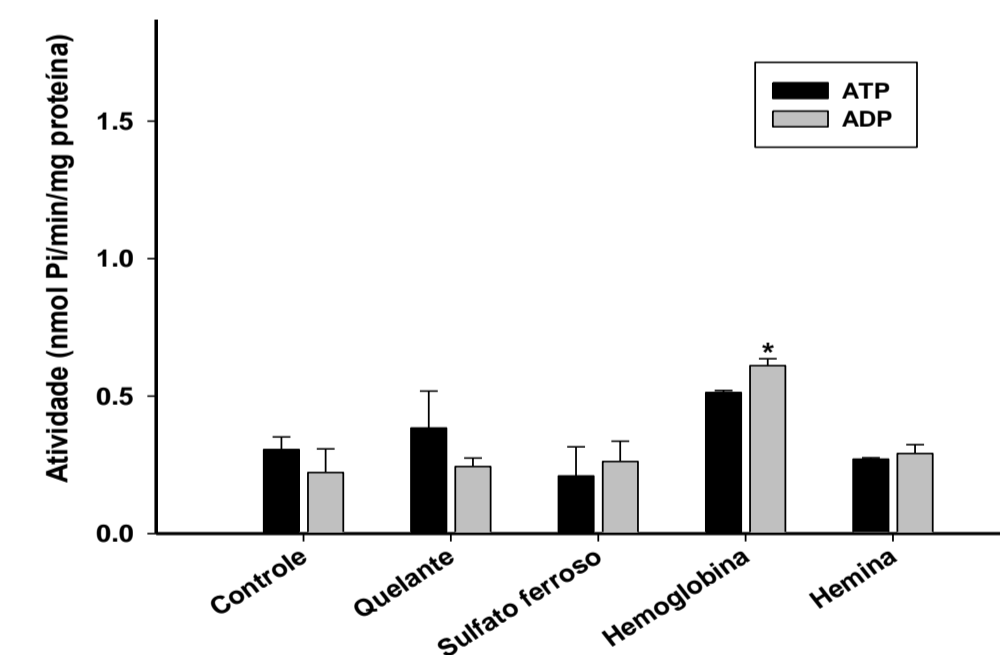


Figura 8. Efeito das diferentes fontes de ferro na hidrólise de ATP e ADP em trofozoítos do isolado TV-LACM1. Hemoglobina provocou um aumento estatisticamente significativo na atividade de hidrólise de ADP. * $P > 0,05$.

O isolado TV-LACM1 não apresentou atividade de hidrólise de AMP.

CONCLUSÕES

Os resultados da cinética de crescimento demonstram que todas as fontes sustentaram o crescimento dos trofozoítos de *T. vaginalis*. Quando o quelante é adicionado e conseqüentemente, o ferro é removido, o crescimento é prejudicado, indicando que o ferro é essencial para o crescimento do parasito.

A atividade de hidrólise de ATP e ADP, em isolados clínicos de pacientes do sexo feminino tratados com hemoglobina e hemina, apresentou um aumento significativo, enquanto uma redução foi observada na hidrólise desses nucleotídeos no isolado TV-LACH1 (isolado clínico de paciente do sexo masculino). Estes resultados indicam que o ferro proveniente da hemoglobina e hemina modula a atividade da enzima NTPDase.

O ferro exerce um papel fundamental na patogênese da tricomonose, corroborando com isso, os sintomas tornam-se exacerbados no período pós-menstrual. Ainda, o ferro modula a atividade da enzima NTPDase, diminuindo os níveis de ATP extracelular o qual é citotóxico para os parasitos e assim contribuindo para o estabelecimento da infecção e escape da resposta imune do hospedeiro.

REFERÊNCIAS

- World Health Organization and Estimates, Geneva, Switzerland, 2001.
- Neves, A.P. et al. *Protist*, v.154, n.3-4, p.313-329, 2003.
- Petrin, D. et al. *Clinical Microbiology Reviews*, v.11, n.2, p.300-317, 1998.
- Sansom, F.M. et al. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.* v.72, p.765-781, 2008.
- Diamond, L. S., *J. Parasitol.* n.137, p.171-178, 2005.
- Chan, K. et al. *Anal. Biochem.* n.157, p.375-380, 1986.

AGRADECIMENTOS: