

## Resumo

A Doença de Chagas, uma doença de que aflige milhões de pessoas no mundo, em especial na América Latina, é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. *T. cruzi* possui diversas cepas, as quais podem ser divididas em dois grupos principais: I e II. O grupo I está relacionado ao ciclo silvestre e o grupo II ao ciclo doméstico do parasita (envolvendo o homem). Cepas do grupo I apresentam maior resistência a dano oxidativo por substâncias como o peróxido de hidrogênio do que aquelas do grupo II. As imidas naftálicas são pequenas moléculas também capazes de gerar espécies reativas de oxigênio (ROS) porém somente quando estimuladas por uma radiação de comprimento de onda específico (340 nm). Assim, foi nosso objetivo testar o efeito de duas imidas naftálicas em algumas cepas de *T. cruzi*, representativas dos seus grupos I e II, de modo a avaliar o uso dessas substâncias como ferramentas alternativas para o estudo de lesões oxidativas nesse protozoário. Verificamos que as imidas testadas foram capazes de reduzir mais a sobrevivência das cepas sensíveis a dano oxidativo (grupo II) do que a das cepas resistentes (grupo I), de acordo com dados anteriores para o peróxido de hidrogênio. Verificamos ainda que mesmo em condições onde não houvesse radiação adequada à ativação das imidas elas causavam uma redução da sobrevivência das cepas testadas. Sabendo que *T. cruzi* possui bioluminescência, medimos essa emissão e constatamos que ela ocorre acima de 300 nm, podendo assim ser responsável pela ativação das imidas em altas concentrações. Em baixas concentrações elas só podem ser ativadas por lâmpadas de potência adequada (de 300 a 400 W). Utilizamos também uma seqüência peptídica vetora de sete resíduos de arginina sabidamente capaz de carrear moléculas a elas ligadas covalentemente para dentro de diversos tipos celulares. Infelizmente, os resultados foram inconclusivos. Como o produto do gene *MSH2* está relacionado ao reparo de dano oxidativo no DNA em vários organismos, incluindo *T. cruzi*, testamos uma cepa nocauteada para aquele gene frente às imidas. Sua sobrevivência foi menor em relação à cepa selvagem, indicando a lesão do DNA do parasita. Como ROS podem modificar o nucleotídeo guanina em 8-oxo-7,8-dihidroguanina (8oxoG), testamos as imidas em uma cepa mutante superexpressando a DNA polimerase kappa, sabidamente capaz de passar por cima de tais modificações. Sua sobrevivência foi maior do que a cepa selvagem, indicando que as imidas estavam modificando guanina em 8oxoG. Concluindo, acreditamos que em baixas concentrações (40 µM) as imidas podem ser usadas como ferramentas no estudo de dano oxidativo no DNA de *Trypanosoma cruzi*.

## Abstract

Chagas' Disease, caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, afflicts millions world-wide, especially in Latin America. *T. cruzi* has many strains, which can be divided in two main groups: I and II. Group I is related to the sylvan cycle and group II to the domestic cycle of the parasite (which involves humans). Group I strains present higher resistance to oxidative damage caused by substances like hydrogen peroxide than those from group II. Naphthalic imides are small molecules also capable of generating reactive oxygen species (ROS) but only when stimulated by a specific wavelength radiation (340 nm). Thus, it was our objective to test the effect of two naphthalic imides in a few *T. cruzi* group I and II representative strains, in order to evaluate the use of such substances as alternative tools to the study of oxidative lesions in that protozoan. We observed that the tested imides were capable of reducing the survival of the oxidative damage sensitive strains (group II) more than the resistant ones (group I), in agreement with previous data for hydrogen peroxide. We also observed that even under conditions where the adequate radiation for activation of the imides wasn't present they would still reduce the survival of the tested strains. Knowing *T. cruzi* has bioluminescence, we measured that emission and verified it to occur above 300 nm, thus being able to activate the imides at high concentrations. In low concentrations the naphthalic imides can only be activated by lamps of an adequate power (300 to 400 W). We also used a vector peptide sequence consisting of seven arginine residues that, according to the literature, are capable of carrying covalently bonded molecules inside many types of cells. Unfortunately the results were inconclusive. As the product of the *MSH2* gene is related to the repair of damaged DNA in many organisms, including *T. cruzi*, we tested the imides against a knock-out strain for that gene. Its survival was lower when compared to the wild type, indicating lesion in the parasite's DNA. As ROS can modify the guanine nucleotide in 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8oxoG), we tested the imides in a mutant strain overexpressing the DNA polymerase kappa, which is known to synthesize beyond such modifications. Its survival was higher when compared to the wild type, indicating the imides were modifying guanine into 8oxoG. Concluding, we believe that at low concentrations (40  $\mu\text{M}$ ) the imides can be used as tools to study oxidative DNA lesions in *Trypanosoma cruzi*.