

O parasitismo — a associação metabólica entre seres de espécies diferentes — parece existir desde a origem da vida na Terra. O estudo dos parasitos que afetam o organismo humano e de sua relação com inúmeras doenças já tem alguns séculos, mas foi ampliado, há pouco mais de 70 anos, pela busca de vestígios de parasitismo em antigos restos humanos (tecidos mumificados, ossos e fezes fossilizadas). Esse novo campo de pesquisa, a paleoparasitologia, está usando agora as mais recentes técnicas da biologia molecular para detectar resíduos de DNA de parasitos em materiais arqueológicos e paleontológicos, gerando informações que podem ajudar a compreender muitos aspectos da evolução biológica e social do ser humano.

Adauto Araújo

e **Luiz Fernando Ferreira**

Escola Nacional de Saúde Pública,
Fundação Oswaldo Cruz

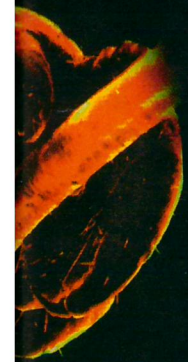
Karl Reinhard

Universidade de Nebraska
(Estados Unidos)

Dos caçadores à paleopar



de micróbios parasitologia molecular

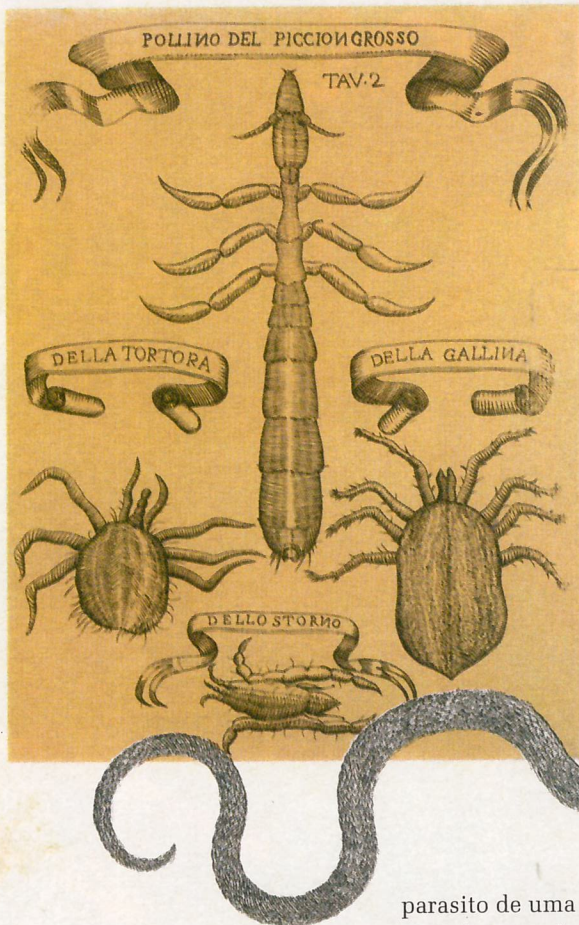


Inúmeros seres vivos, de variados tipos e tamanhos, desenvolveram durante sua evolução um 'meio de vida' bastante curioso: pode-se dizer que vivem às custas de organismos de outra espécie. Essa associação ecológica entre indivíduos de espécies diferentes é chamada de parasitismo. O parasito obtém do organismo em que vive, chamado de hospedeiro, os nutrientes de que precisa, além das condições fisiológicas indispensáveis à sua vida.

A relação de dependência metabólica entre parasito e hospedeiro depende das espécies envolvidas e pode ser temporária (durante uma ou mais fases do ciclo vital) ou permanente. Pode ainda ser obrigatória (para um, para outro ou para ambos) ou facultativa, e variar de um nível mínimo de dependência até uma dependência total.

O conceito amplo de parasitismo como uma relação ecológica permite a inclusão na categoria de

Figura 1. Alguns parasitos de aves, em ilustração do século 17, publicada em livro do poeta e naturalista italiano Francesco Redi (1626-1698)



parasito de uma variada gama de organismos: de bactérias, fungos, protozoários, vermes e vegetais até animais invertebrados (figura 1) e vertebrados. Os vírus também fazem parte dessa lista, embora não estejam classificados entre os seres vivos. Esse conceito facilita a compreensão das relações entre os organismos e permite que sejam estudadas sob pontos de vista não apenas biológicos.

O fenômeno parasitismo começa com a necessidade básica dos organismos de absorver alimento e gerar energia para seu crescimento e reprodução. Acredita-se que esse tipo de associação tenha surgido logo após a origem da própria vida na Terra, há 4 bilhões de anos.

A antigüidade dessa relação pode ser deduzida a partir do DNA, a molécula que contém o código genético. Inúmeros seres vivos têm, misturadas com os seus genes, seqüências móveis de DNA ('transposons') de outros organismos. Os transposons usam o sistema de replicação

do DNA do hospedeiro para fazer cópias de si mesmos, inseridas em outro local do genoma que invadiram. Acredita-se que essas seqüências 'invasoras' seriam resquícios de parasitos dos ancestrais dos atuais seres vivos. Tais parasitos só se reproduziriam através do compartilhamento de seu DNA com o do hospedeiro, como ocorre atualmente com os vírus.

O surgimento da célula eucariota, na qual o DNA passou a ser contido em um núcleo isolado por uma membrana, trouxe novas possibilidades aos parasitos. Certas estruturas com DNA (ou RNA) próprio, presentes no citoplasma das células (como as mitocôndrias), seriam exemplos de uma relação parasitária ancestral que, de tão estreita e dependente, tornou-se imprescindível a ambos, exercendo papel essencial na história evolutiva dos organismos compostos por esse tipo de célula (figura 2).

O parasitismo surgiu de modo independente, várias vezes, na história biológica, em diferentes linhagens de organismos. O fenômeno ocorre em toda a natureza, envolve todos os seres vivos (como hospedeiros ou parasitos) e pode se tornar parte do sucesso evolutivo das espécies associadas. Esse tipo de relação metabólica é tão bem-sucedido que inúmeros seres evoluíram dessa mesma forma, separadamente, nos cinco reinos naturais: Monera (bactérias), Protista (protozoários e algas), Fungi (fungos), Plantae (vegetais) e Animalia (animais).

Na crença popular, os parasitos costumam ser associados a moléstias, mas sua simples presença (infecção parasitária, ou parasitismo) em um hospedeiro não leva necessariamente a uma doença parasitária (parasitose). A doença só ocorre quando o parasito altera as funções normais do organismo que o hospeda e o prejudica. Tal alteração produz um conjunto de sinais e

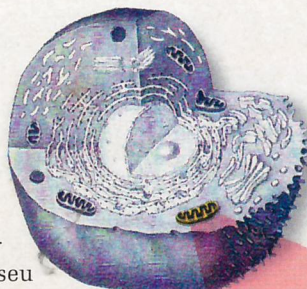


Figura 2. As mitocôndrias, estruturas com DNA próprio existentes dentro das células eucariotas, podem ter sido parasitas ancestrais que se tornaram indispensáveis

sintomas que orientam um diagnóstico, confirmado pela verificação da presença do parasito.

Parasitas, filogenia e ecologia

Alguns parasitos são muito específicos para certas espécies de hospedeiros. Tal especificidade é importante para entender as relações filogenéticas entre hospedeiros – a filogenia estuda a evolução histórica dos organismos. Como os parasitos têm sua origem em ancestrais (que infectavam ancestrais dos hospedeiros), a presença de um mesmo tipo de parasito (ou formas semelhantes) em diferentes hospedeiros permite determinar o grau de relacionamento entre tais espécies.

Muitos parasitos, porém, foram adquiridos pelos hospedeiros ao longo de sua evolução. Há, portanto, duas grandes vias de origem de parasitos nas espécies atuais de hospedeiros: a linha filogenética, em que o parasito foi herdado de ancestrais, e a linha ecológica, em que o parasito foi adquirido do ambiente ou de outros hospedeiros sem uma relação filogenética próxima com os atuais.

O estudo da filogenia e da coevolução de parasitos e seus hospedeiros ainda é uma linha de pesquisa importante. A chamada regra de Farenholz, segundo a qual os parasitos e seus hospedeiros evoluem em sincronia, orientou o trabalho de pioneiros no século passado, como Hermann von Ihering (1850-1930), no Brasil, pouco após a publicação da teoria de evolução natural do naturalista inglês Charles Darwin (1809-1882). Hoje, porém, essa metodologia é criticada por alguns especialistas, em função da existência de parasitos adquiridos do ambiente, e só seria confiável se o parasito em estudo tiver origem filogenética.

A parasitologia oferece aos pesquisadores amplo campo de investigações sobre a vida e o relacionamento entre organismos e ambiente. Antes de tudo, é um ramo da ecologia: tanto o parasito quanto o hospedeiro interagem com o ambiente em que se encontram e, além disso, interagem um com o outro, já que o próprio organismo do hospedeiro também funciona como ambiente para o parasito. A parasitologia, mesmo no aspecto estritamente biológico, inclui uma série de ramificações, como a biologia molecular, a imunologia e outras.

Clínicos, epidemiologistas e outros profissionais da saúde têm encontrado na parasitologia um campo fértil para o estudo de novos e velhos males. Hoje, com o interesse em torno das chamadas

doenças emergentes e reemergentes, tal campo volta à ordem do dia. As mudanças decorrentes dos modernos meios de transportes e de comunicações também afetaram de forma drástica o comportamento de infecções e doenças parasitárias que atingem a espécie humana. Tais aspectos têm sido estudados por cientistas políticos, economistas, geógrafos e epidemiologistas.

As doenças parasitárias na história

O conhecimento de parasitos remonta à pré-história humana. Segundo alguns estudiosos, é inconcebível que nossos ancestrais não tenham percebido as lombrigas (*Ascaris lumbricoides*) ou os segmentos corporais de solitárias (*Taenia saginata* ou *T. solium*) eliminados com as fezes, ou ainda os piolhos (*Pediculus humanus*) que há milênios nos infectam (figura 3). Mas não se pode saber se o homem pré-histórico conhecia o significado da presença dos parasitos, ou os entendia como organismos.

A tradução de antigos textos médicos revelou várias menções a parasitos, a doenças causadas por eles e a seu tratamento (figura 4). Médicos

assírios já tratavam a escabiose (sarna) com enxofre. Os antigos egípcios, entre 1250 e 1000 a.C., sofriam ▶



Figura 3. Limpar os cabelos para retirar piolhos é uma prática bastante antiga, como revela esta ilustração de um livro médico publicado há mais de 500 anos (1491)

Figura 4. A solitária, ou tênia, um parasito intestinal que pode medir metros, também é mostrada em antigas gravuras

de esquistossomose (causada por *Schistosoma haematobium*), como o médico e microbiologista inglês Marc Armand Ruffer (1859-1917) descobriu em 1910, estudando múmias da 20ª dinastia. Acredita-se também que o papiro de Ebers (de 1550 a.C.) refere-se à presença de sangue na urina, característica típica da doença.

Textos gregos e romanos, de Plutarco, Aristóteles, Plínio, Galeno, Hipócrates e outros contêm diversos exemplos de parasitos e parasitoses, e trazem as primeiras classificações e descrições dos diferentes helmintos encontrados nos intestinos de hospedeiros humanos e de outros animais. No Oriente, antigos textos das medicinas védica (na Índia), árabe e chinesa citam artrópodes e helmintos, além de distinguir parasitos humanos de parasitos de animais como o cavalo e o camelo. Fato interessante é que os textos assírios, gregos e védicos associam moscas e mosquitos a doenças, o que só foi comprovado cientificamente no século passado.

A *Bíblia* também menciona parasitos. O Antigo Testamento diz: “Terás fora do acampamento um lugar onde vás satisfazer as necessidades da natureza, levando no cinto um pau. Depois de teres satisfeito a tua necessidade cavarás ao redor e cobrirás os excrementos com terra” (Deuterônimo, XXIII, 12-13). Alguns autores interpretam as expressões “serpentes ardentes” que “devoram o corpo por dentro” (Números, XXI, 6) como uma referência à filária-de-medina (*Draunculus medinensis*) (figura 5).

A América pré-colombiana não deixou documentos escritos, apenas pinturas rupestres, ainda não estudadas quanto à representação de doenças. Mas as figuras esculpidas em alguns pe-

quenos vasos de barro (*huacos*) pré-colombianos mostram lesões sugestivas de parasitoses, como leishmaniose, e foram encontrados vermes intestinais, como *Enterobius vermicularis*, em coprólitos (fezes fossilizadas) humanos de 10 mil anos, e piolhos (*P. humanus*) em cabelos com a mesma idade. Tanto *E. vermicularis* quanto ovos e adultos de *P. humanus* são perceptíveis a olho nu.

Surgem os caçadores de micróbios

A Renascença (séculos 15 e 16) trouxe enorme progresso na ciência ocidental e, em particular, na medicina, graças ao trabalho de inúmeros cientistas, destacando-se os do anatomista belga Andreas Vesalius (1514-1564), do cirurgião francês Ambroise Paré (1517-1590) e do médico italiano Girolamo Fracastoro (1483-1553). Fracastoro estudou infecções humanas e foi o primeiro a falar em ‘sementes de doenças’.

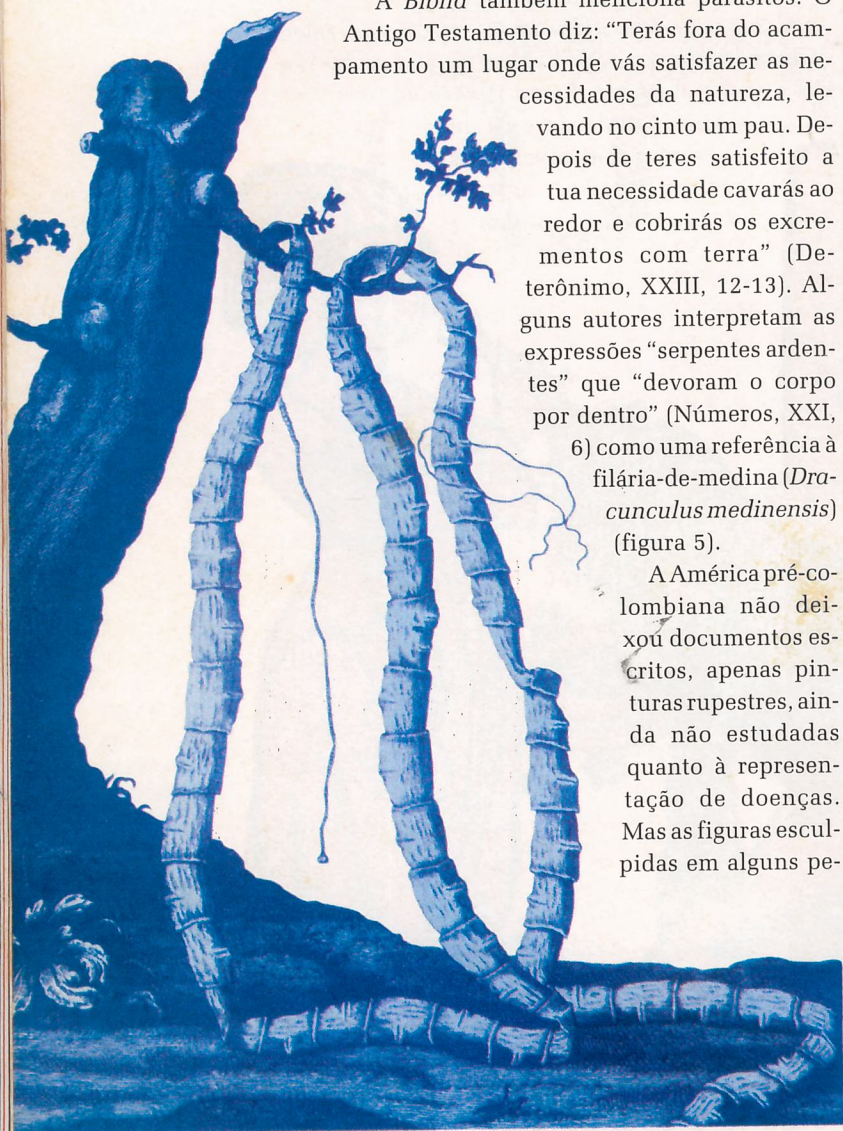
Só no século 17, porém, a invenção do microscópio – pelo holandês Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723) – permitiu a descoberta dos seres minúsculos, revelando um mundo até então desconhecido. Sob as lentes compostas, cientistas de vários países começaram a ver e descrever protozoários e pequenos vermes, além de estudar as minúcias anatômicas dos maiores (figura 6).

Os avanços conquistados a partir daí levaram o químico e biólogo francês Louis Pasteur (1822-1895) e o médico alemão Robert Koch (1843-1910) a lançarem, no século 19, a teoria de que inúmeras doenças seriam causadas por microrganismos (figura 7). Foi aberta a temporada de caça aos micróbios, que continua até os dias atuais. Os fatos e cientistas mais marcantes da história da medicina, destacando-se os grandes descobridores de agentes causadores de doenças e seu tratamento, estão registrados em livros como *Caçadores de micróbios*, do médico e historiador Paul de Kruif.

A genética abre novas portas

O impacto provocado pela descoberta dos seres minúsculos repetiu-se, já neste século, quando o norte-americano James D. Watson (1928-) e o inglês Francis H. Crick (1916-) desvendaram a estrutura do DNA. Ao decifrarem o código genético, entendendo a seqüência das bases que formam a molécula do DNA, os cientistas passaram a ter meios para investigar processos evolutivos através desse código, que pode ser fragmentado para o estudo de seqüências específicas.

Descobrir a função de cada gene, mapear genomas (identificar toda a seqüência genética) de muitas espécies e clonar organismos foram os passos seguintes. No campo da parasitologia, tais avanços





técnicos possibilitaram diagnósticos de doenças mais refinados e precisos e aprofundaram estudos filogenéticos.

Em meados dos anos 80 foi criada a técnica da reação em cadeia da polimerase (conhecida pela sigla PCR), que permite multiplicar com rapidez um segmento de DNA situado entre duas regiões de seqüência conhecida. Isso facilita identificar esse segmento (através de outras técnicas) e torna possível detectar resíduos de DNA de parasitos no organismo de hospedeiros. É bastante difícil, por exemplo, encontrar o *Trypanosoma cruzi*, protozoário causador da doença de Chagas, no sangue de uma pessoa infectada há vários anos. O diagnóstico por técnicas sorológicas pode sofrer reações cruzadas e nem sempre é positivo na primeira tentativa. Mas fragmentos de DNA de *T. cruzi* circulando no organismo do hospedeiro podem ser amplificados por sondas específicas para essa espécie de parasito, resultado obtido por alguns cientistas já nestes anos 90.

Os estudos filogenéticos também são interessantes. Populações diferentes da mesma espécie de parasito (obtidas em hospedeiros ou em re-

giões diferentes) estão sendo estudadas para a compreensão do seu processo evolutivo e da antigüidade das relações parasito-hospedeiro. Isso permite entender a dinâmica do processo de saúde e doença nos aspectos individual e coletivo.

Paleoparasitologia e biologia molecular

O primeiro a descrever lesões e patologias em ossos antigos, humanos ou de animais, foi o patologista alemão Rudolph Virchow (1821-1902), no século passado. Mas coube a Marc A. Ruffer fundar uma nova ciência: a paleopatologia, que definiu como o "estudo de doenças em povos antigos". A serviço do governo inglês no Egito, no início deste século, ele estudava as múmias do Museu do Cairo nas horas vagas. A dificuldade de examinar em detalhes os tecidos mumificados o levou a desenvolver uma técnica de reidratação que permite cortes histológicos e uso de corantes para observação ao microscópio. Com essa técnica, Ruffer descreveu lesões e parasitos nos corpos preservados (alguns com mais de 5 mil anos).

Hoje, a paleopatologia conta com uma associação internacional, fundada em 1973 pelo médico escocês (radicado nos Estados Unidos) Aidan Cockburn. Essa entidade edita uma revista, com os trabalhos produzidos no mundo inteiro por seus associados e comentários sobre trabalhos correlatos em outras revistas científicas. A paleoparasitologia, porém, demorou um pouco mais para se estruturar.

Arqueólogos e parasitologistas associaram-se desde o início, através do envio de fezes preservadas pela dessecação (coprólitos) para exame parasitológico. Até meados deste século, porém, poucos ovos e larvas de várias espécies de helmintos parasitos do homem e de animais haviam sido identificados em coprólitos. Nos anos 60, a reidratação passou a ser feita em solução de fosfato trissódico (Na_3PO_4), o que permitiu o uso de técnicas rotineiras de análise clínica e tornou mais freqüentes os achados. Hoje, é possível detectar infecções parasitárias, situando-as no espaço e no tempo, e seguir sua dispersão ao longo das rotas migratórias dos hospedeiros.

Iniciada com o simples achado de parasitos em materiais arqueológicos, a paleoparasitologia estruturou-se como ciência a partir do emprego desses dados em estudos sobre migrações pré-históricas e comportamento de grupos humanos e ainda em pesquisas sobre a origem e evolução das doenças. Dedicam-se a essa ciência, desenvolvida re-

Figura 5.
A filária-de-medina instala-se sob a pele e provoca feridas, através das quais os curandeiros da Antigüidade retiravam os vermes

Figura 6.
A invenção do microscópio — o modelo da imagem teria sido usado pelo naturalista italiano Lazzaro Spallanzani (1729-1799) — permitiu identificar seres diminutos, muitos deles causadores de doenças



Figura 7. O francês Louis Pasteur foi um dos autores, no século 19, da teoria de que inúmeras doenças seriam causadas por microrganismos

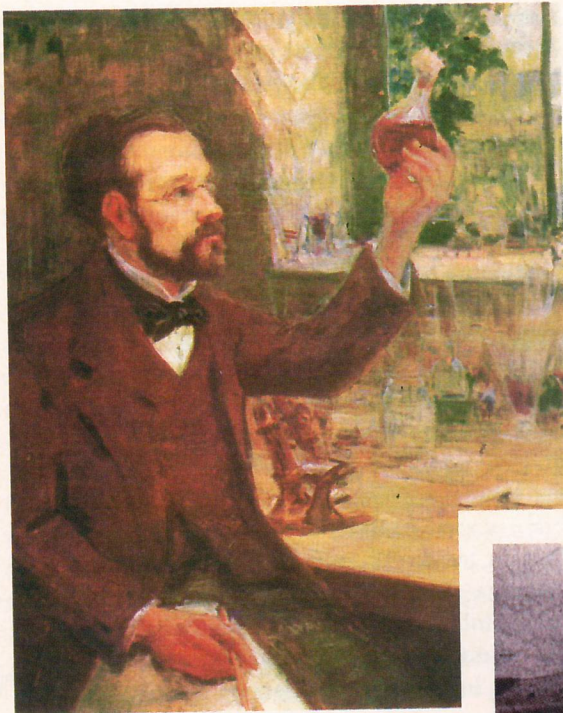
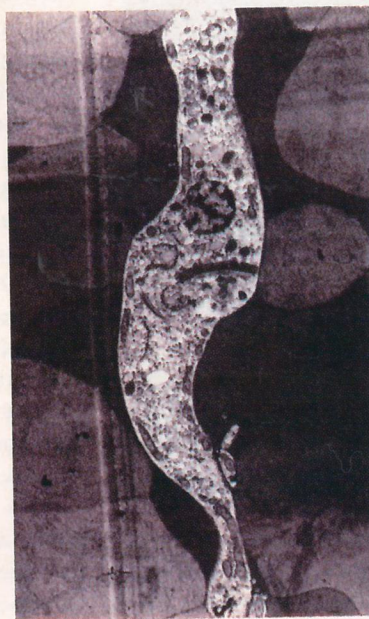


Figura 8. O *Trypanosoma cruzi*, causador da doença de Chagas, já existia na América do Sul há 2 mil anos, o que foi comprovado pela identificação de fragmentos do DNA desse protozoário em múmias encontradas no Chile



centemente, alguns grupos de pesquisa nos Estados Unidos, Canadá, França, Inglaterra e Brasil, entre outros.

O dado novo é que o cientista encontra o parasito, o dado empírico; no material arqueológico ou paleontológico – resquício de populações há muito desaparecidas – com datação e localização geográfica conhecida. Ao contrário do que se pensava, os parasitos deixam fósseis, que permitem avaliar vários aspectos da vida de antigas populações humanas e animais. A caça aos micróbios volta-se para o passado. Os novos caçadores procuram encontrar vestígios de parasitos em restos de populações desaparecidas na intenção de estudar a origem e evolução das doenças parasitárias e as mudanças dos processos de saúde e doença ao longo da evolução – biológica e social – da espécie humana.

Embora as técnicas usadas sejam simples e pouco dispendiosas, o diagnóstico paleoparasitológico envolve certa complexidade. Coprólitos encontrados por equipes de arqueologia ou paleontologia durante escavações são enviados, cumprida toda a metodologia dessas ciências, para o laboratório de paleoparasitologia, onde são registrados, fotografados e medidos. Sua origem zoológica é identificada através do formato e da presença de restos alimentares e parasitos.

Para a análise paleoparasitológica, retira-se o mínimo de material possível, para não alterar a forma original do coprólito. Se este foi preservado por dessecação, é hidratado em solução aquosa

(5%) de fosfato trissódico. Se já está mineralizado, usa-se uma solução (5%-10%) de ácido clorídrico (HCl). Após a aplicação de técnicas que concentram as formas de parasitos, o material é observado ao microscópio óptico, e os ovos e larvas são medidos e fotografados. Nos últimos tempos tem sido utilizado o microscópio eletrônico de varredura, mais potente.

As técnicas da biologia molecular abriram novas perspectivas de diagnóstico, tanto na parasitologia de populações atuais quanto na paleoparasitologia. É possível hoje isolar e multiplicar fragmentos de DNA de parasitos preservados em materiais arqueológicos, o que permite identificar infecções e doenças parasitárias em tecidos, o que antes era impensável. Mesmo lesões em ossos ou em tecidos mumificados, que ainda geravam muita discussão, tiveram sua origem confirmada. Moléstias como tuberculose, hanseníase e outras doenças bacterianas já foram diagnosticadas por técnicas da biologia molecular em material ósseo ou mumificado.

A doença de Chagas, por exemplo, já existia na América do Sul há cerca de dois mil anos. O laboratório de paleoparasitologia da Escola Nacional de Saúde Pública, da Fundação Oswaldo Cruz, em conjunto com pesquisadores do Insti-

tuto Oswaldo Cruz, confirmou a presença do DNA do protozoário *T. cruzi* (figura 8) em múmias com até dois mil anos, encontradas no deserto de Atacama, no Chile. Em outro resultado, foi identificado DNA de *Leishmania amazonensis* (protozoário causador da leishmaniose) em roedores empalhados da coleção do Museu Nacional, obtidos durante a campanha de combate à peste bubônica no Brasil, no início deste século. Há um campo imenso a ser explorado. É fascinante a possibilidade de estudar o DNA de parasitos com mais de cinco mil anos e acompanhar suas possíveis modificações até a atualidade.

A possibilidade de realizar estudos filogenéticos de parasitos, usando para isso técnicas da biologia molecular aplicadas à paleoparasitologia, está próxima. Isso abre novos caminhos para estudantes e cientistas. Agora, os caçadores de genes de micróbios buscarão no DNA ancestral os caminhos evolutivos da constituição genética atual dos parasitos. ■

Sugestões para leitura

ARAÚJO, A. & FERREIRA, L.F. 'Homens e parasitos: a contribuição da paleoparasitologia para a questão da origem do homem na América', *Revista da Universidade de São Paulo*, v. 34, p. 58, 1997.

FERREIRA, L.F., ARAÚJO, A. & CONFALONIERI, U. *Paleoparasitologia no Brasil*, Rio de Janeiro, PEC/ENSP/Fiocruz, 1988.

FONSECA F^o, O. *Parasitismo e migrações humanas pré-históricas*, Rio de Janeiro, Editora Mauro Familiar, 1972.

HOEPLI, R. 'The knowledge of parasites and parasitic infections from ancient times to the 17th century', *Experimental Parasitology*, v. 5, p. 398, 1956.

OLIVEIRA DE ARAÚJO CALIOTI - MUSEU PASTEUR