

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA

BÁRBARA DE MEDEIROS LIMA

PATOGÊNESE DA DOENÇA DE CHAGAS

BRASÍLIA
2018

BÁRBARA DE MEDEIROS LIMA

PATOGÊNESE DA DOENÇA DE CHAGAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para a obtenção do grau de farmacêutico na Universidade de Brasília.

Orientadora: Profa. Dra. Nadjar Nitz Silva Lociks de Araújo

BRASÍLIA

2018

Bárbara de Medeiros Lima

PATOGÊNESE DA DOENÇA DE CHAGAS

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade de Brasília como requisito final para a obtenção do título de farmacêutico bacharel pela Banca Examinadora composta pelos membros:

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Nadjar Nitz Silva Lociks de Araújo – Orientadora
Universidade de Brasília (UnB) – Faculdade de Medicina

Profa. Dra. Mariana Machado Hecht – Avaliadora
Universidade de Brasília (UnB) – Faculdade de Medicina

Aprovado em: ____/____/____

A todos os meus amigos que
constantemente me lembravam que tudo
iria dar certo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus; autor da minha vida e fonte de inspiração e perseverança em todos os meus projetos.

Por toda a minha família, que, desde o início deste curso, me incentiva e anseia pela formatura da primeira farmacêutica da família.

Aos meus pais os mais profundos agradecimentos por incentivarem meus projetos e sonhos e serem verdadeiros exemplos de humildade, alegria e trabalho.

De forma especial a todos os meus amigos que tive a honra de conhecer neste curso incrível. Sei que nenhum de vocês entrou na minha vida por simples acaso.

Por todos os professores que renovaram as minhas esperanças e me lembravam a cada semestre da importância e do impacto que meu futuro trabalho teria na vida das pessoas.

Aos alunos, professoras e técnicas do LabIBC, que moldaram a minha experiência enquanto cientista durante 3 anos de minha graduação. Vocês não fazem ideia do quanto me inspiram. Eu posso dizer que fiz parte de um belo time.

Por fim, agradeço a minha incrível orientadora Nadjar Nitz Muito obrigada por toda paciência, dedicação e cuidado que teve por mim desde os nossos primeiros trabalhos juntas, obrigada por não desistir de mim mesmo em meio a tanto contratemplos.

“Não vai demorar que passemos
adiante uma grande e bela ciência, que faz
arte em defesa da vida”.

Carlos Chagas

RESUMO

Após 110 anos de pesquisa científica em torno da doença de Chagas e de seus aspectos imunopatológicos, até o presente momento não há um consenso em relação aos mecanismos de patogênese da doença, envolvidos no surgimento das lesões teciduais presentes na fase crônica. Dentre as hipóteses que justificam a evolução da doença, destacamos a teoria da persistência do parasita e da autoimunidade, além do envolvimento de alterações metabólicas. Nesta revisão, foram agrupados estudos que dão embasamento prático para as teorias que tangem a patogênese da doença de Chagas. Acreditamos que novas abordagens poderão surgir ao longo da construção do conhecimento e do dinamismo que permeia a relação parasita-hospedeiro. Esses novos conhecimentos são fundamentais para nortear a escolha e avaliação do tratamento, no interesse de garantir uma melhor assistência ao paciente.

Palavras-chave: Doença de chagas; patogênese; fase crônica

ABSTRACT

After 110 years of scientific research regarding Chagas' disease and its immunopathological aspects, there is no consensus concerning the pathogenesis mechanisms involved in the development of tissue lesions present in chronic phase. Among the hypotheses that justify the evolution of the disease, we highlight the theory of parasite persistence and autoimmunity, besides the involvement of metabolic alterations. In this review, we have grouped studies that provide a practical basis for theories that affect the pathogenesis of Chagas' disease. We believe that new approaches may arise along the construction of knowledge and dynamism that permeates the parasite-host relationship. These new knowledges are important to guiding the choice and evaluation of treatment, in the interest of ensuring better patient care.

Keywords: Chagas disease; pathogenesis; chronic phase.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
1.1 Histórico da Doença de Chagas.....	10
1.2 O <i>Trypanosoma cruzi</i>	10
1.3 Epidemiologia.....	12
1.4 Transmissão.....	14
1.5 Sintomatologia e diagnóstico.....	15
1.6 Tratamento e perspectivas futuras.....	19
1.7 Justificativa e objetivo.....	20
2. METODOLOGIA.....	20
3. RESULTADOS.....	21
3.1 Teoria da persistência do parasito.....	21
3.1.1 O papel do tecido adiposo.....	23
3.2 Teoria da autoimunidade.....	25
3.3 Aspectos que enquadram as duas teorias.....	27

3.3.1 Células e mediadores da imunidade inata e adaptativa.....	27
3.3.2 A atuação de espécies reativas de oxigênio.....	29
4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	30
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

1.1 Histórico da Doença de Chagas

A doença de Chagas (DC) foi descrita pelo grande cientista brasileiro, Dr. Carlos Chagas, responsável por caracterizar o agente etiológico da doença, ao qual denominou *Trypanosoma cruzi*, em homenagem ao cientista e amigo Dr. Oswaldo Cruz. Dr. Carlos Chagas também identificou o vetor e descreveu o ciclo de vida e as manifestações clínicas das diferentes fases da doença (Coura e cols, 1999; Kropf & Sá, 2009).

O Dr. Carlos Chagas encontrou os primeiros vestígios da espécie de *Trypanosoma* em um sagui (*Callithrix penicillata*) em 1908, época em que o cientista trabalhava na Fundação Oswaldo Cruz e estava à frente do programa de combate à Malária em Lassance, Minas Gerais (Chagas, 1908). Tendo tido contato prévio com uma das formas do parasito, posteriormente analisou insetos hematófagos, conhecidos popularmente como barbeiros, e encontrou espécimes de epimastigotas nestes insetos, tendo publicado esses achados em 1909 (Chagas, 1909).

Desde suas primeiras descobertas, Dr. Chagas passou a trabalhar incessantemente na identificação e observação das características deste novo parasito por meio de crescimento em cultura e da infecção em diversos tipos de modelos animais (Coura e cols, 2009). Em 1909, ele documentou mais dois casos da infecção: em um felino e em uma criança, Berenice, de 2 anos. Berenice apresentou sintomas como hepatoesplenomegalia, febre e edema em gânglios linfáticos. A parasitemia só foi encontrada quatro dias após a visualização clínica destes sintomas (Chagas, 1909). Desde 1922, alarmava a população a respeito da importância dos estudos de patologia das doenças tropicais e das consequências da nova descoberta em relação ao ser humano e sua capacidade de realizar seu trabalho cotidiano (Kropf & Sá, 2009).

1.2 O *Trypanosoma cruzi*

O *Trypanosoma cruzi* é o agente etiológico da tripanossomíase americana, mais popularmente conhecida como doença de Chagas (DC). Pertencente à classe Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, o *T. cruzi* é um protozoário flagelado que possui mitocôndria única, composta de material genético estruturado por meio de redes de minicículos atreladas à maxicículos, denominada cinetoplasto (Chen e cols, 1995; Amodeo; Jakob; Ochsenreiter, 2018).

O *T. cruzi* apresenta grande variabilidade genética, tanto em relação ao seu DNA nuclear (nDNA), quanto ao DNA do cinetoplasto (kDNA). Assim, as cepas do parasito foram classificadas de acordo com suas diferenças genéticas e geográficas em *discrete typing units* (DTUs) de seis tipos: TcI - TcVI. Atualmente, foi proposto um sétimo tipo, a TcBat. Há uma certa divergência em relação a origem destas unidades, e autores afirmam que algumas destas cepas foram originadas por meio da hibridização de outras unidades, e que as duas primeiras (Tc I e Tc II) são as mais antigas, partindo de um ancestral em comum. Além disso, experimentos *in vitro* demonstraram alterações na expressão genética mitocondrial, tornando-se evidente as diferenças quanto à capacidade de respiração e outros processos da cadeia bioquímica, indicando a diversidade genética em cepas de um mesmo DTU, com grande impacto na vida e a evolução do parasito ao longo de seu ciclo de vida (Kalem e cols, 2018).

O ciclo de vida do parasito se inicia por meio do triatomíneo infectado. Ao realizar o repasto sanguíneo, o inseto hematófago deposita suas fezes sobre o hospedeiro, contaminadas com as formas tripomastigotas metacíclicas (**Fig.1**) do parasito previamente alojadas em seu intestino posterior. Ao adentrar ao organismo hospedeiro por meio da coceira no local ou por contato direto com a mucosa, os parasitos buscam células hospedeiras nucleadas como macrófagos, células epiteliais, cardiomiócitos, fibroblastos (Fernandes & Andrews, 2012); e assim iniciam a sua fase replicativa no hospedeiro vertebrado, ao se diferenciar para a sua forma amastigota. Após a replicação, ocorre novamente a diferenciação para tripomastigota, que causam a lise celular (Dvorak & Hyde, 1973). Com a ruptura da membrana plasmática os tripomastigotas são liberados e estão aptos para infectar novas células, dando prosseguimento ao ciclo infectante do hospedeiro. Quando o triatomíneo realiza um repasto sanguíneo em um mamífero infectado, os tripomastigotas sanguíneos atingem o aparelho digestivo do inseto, onde se diferenciam em formas epimastigotas, que se multiplicam na região distal do intestino e após a replicação sofrem o processo de metaciclogênese no intestino posterior, gerando formas tripomastigotas metacíclicas, capazes de infectar o hospedeiro vertebrado em um novo repasto sanguíneo (**Fig. 2**) (Fernandes & Andrews, 2012).

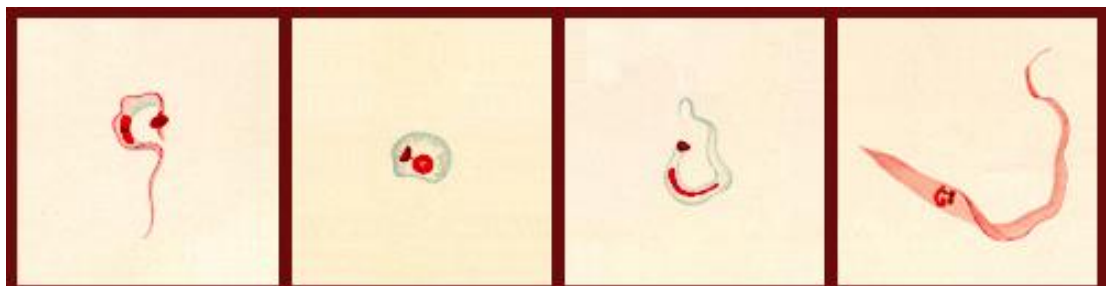


Figura 1. Estágios evolutivos do *Trypanosoma cruzi*. Da esquerda para a direita: tripomastigota, amastigota (FR), tripomastigota metacíclico e epimastigota (FR). FR: forma replicativa. (Fonte: Castro Silva, Fio Cruz)

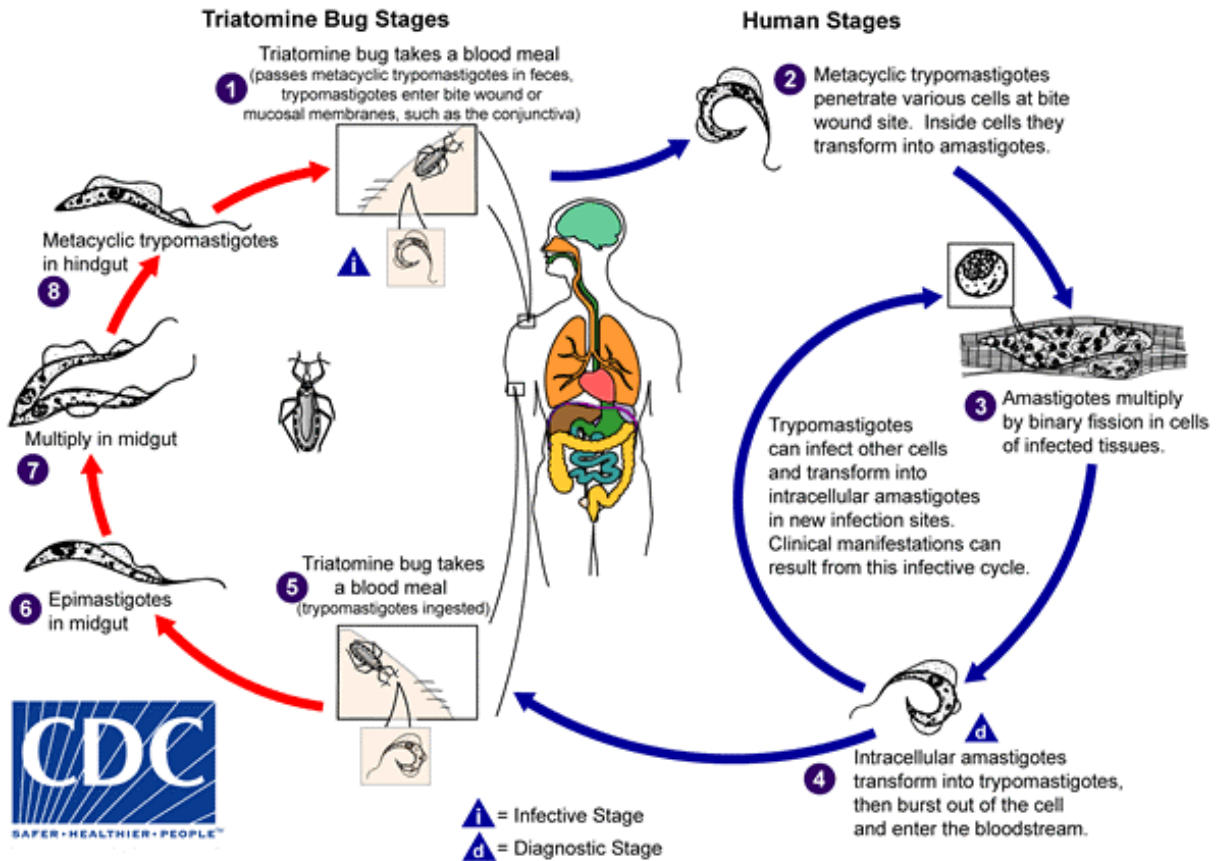


Figura 2. Ciclo de vida do parasito *T. cruzi* (Fonte CDC)

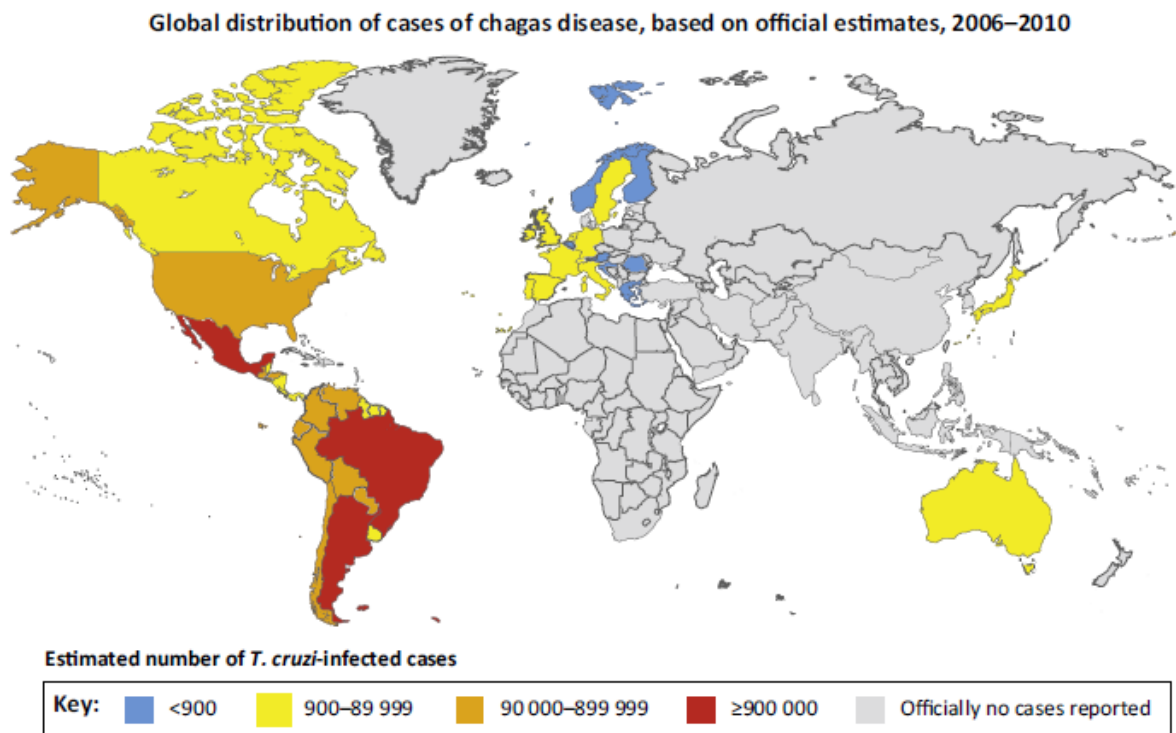
A relação parasito-hospedeiro é complexa e depende de interações entre receptores presentes nas membranas dos dois organismos. A internalização do parasito na célula se dá por meio de um processo de fagocitose induzida, com a formação de um vacúolo parasitóforo (Barrias e cols, 2013; de Souza e cols, 2010). Esse processo é mediado pela interação de proteínas de superfície do parasito com proteínas GTPases presentes na membrana da célula hospedeira. Uma interrupção neste nível, impediria a formação do vacúolo parasitóforo, que dá início ao ciclo intracelular do parasito (de Souza & Attias, 2018).

1.3 Epidemiologia

A DC é endêmica na América Latina, contudo, atualmente se encontra distribuída em diversos países em todos os continentes, devido ao aumento do fluxo de migração populacional

ocorrido nos últimos anos (WHO, 2015). Considerada uma doença negligenciada, esta enfermidade é de cunho sistêmico e crônico. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) e da Organização Pan-americana de Saúde (OPAS), a DC acomete 21 países da América do Sul e Central e a OMS estima que 8 milhões de pessoas estejam infectadas mundialmente pela doença, contabilizando 10.000 mortes por ano (WHO, 2016; WHO, 2018).

Nota-se que a doença superou as fronteiras de seus países endêmicos, e a migração populacional é o fator primordial na dispersão da doença em países não endêmicos (Gascon e cols, 2010), acometida principalmente por transfusão sanguínea e outros processos que envolvam a transfusão sanguínea (Angheben e cols, 2015) ou por transmissão vertical (Castillo-Riquelme, 2017). Jackson e cols (2014) descreveram as ações de intervenção da saúde pública em relação à DC em países como Nova Zelândia e Austrália. Outros autores relatam as dificuldades enfrentadas na notificação dos casos em decorrência da falta de informações dos pacientes e de diagnóstico nos Estados Unidos, levando a ausência de tratamento adequado para os imigrantes (Schmunis e cols, 2007; Amstutz-Szalay, 2016; Nolan e cols, 2018). Outros pesquisadores reforçam a necessidade de implementação de medidas de controle, visando combater a disseminação da DC por transfusão sanguínea em países como Canadá, Espanha, Reino Unido, França, Estados Unidos, Suíça e Suécia (Angheben e cols, 2015). A dispersão da doença ao longo dos continentes pode ser visualizada a seguir (**Fig. 3**).



TRENDS in Parasitology

Figura 3. Distribuição da doença de Chagas no mundo (Fonte: WHO, 2013)

A partir da série histórica realizada entre os anos de 2000 a 2013, foram obtidos dados alarmantes frente a situação nacional de combate à DC, posicionando a enfermidade dentre as quatro maiores causas de mortalidade por doenças infectocontagiosas no país (MS, 2015). Recentemente, a organização Médicos Sem Fronteiras (MSF, 2018) estimou que 1,9 a 4,6 milhões de pessoas estejam acometidas pela DC no Brasil, dado confirmado pelo Ministério da Saúde (MS, 2018). Aproximadamente 60% dessas pessoas residem em áreas urbanas e cerca de 6.000 mortes são registradas anualmente.

Segundo o Ministério da Saúde, a maior parte dos casos recentes de infecção registrados no Brasil ocorrem na região Norte, sendo 85% no estado do Pará, de acordo com dados coletados entre 2007-2016, e estão relacionados à transmissão pela via oral, principalmente devido ao consumo de açaí contaminado. A taxa de mortalidade pela DC no período de 2014 a 2015 não sofreu variação expressiva na região centro-oeste. O Distrito Federal possui a segunda maior taxa de mortalidade do centro-oeste, com 6.56 mortes por 100 mil habitantes, estando atrás do Goiás, com 11,21 mortes por 100 mil habitantes (MS, 2018).

1.4 Transmissão

A principal via de transmissão da DC é a vetorial. As espécies de triatomíneos sinantrópicas mais conhecidas são *Triatoma infestans*, *T. brasiliensis*, *Rhodnius prolixus* e *Pastronylus megistus*, que atuam como importantes vetores da infecção para os humanos e também para dezenas de espécies de mamíferos domésticos e silvestres, o que torna o combate ao vetor uma importante frente de prevenção e controle da doença. O hospedeiro intermediário do protozoário possuía cerca de 150 espécies com capacidade vetorial (Gurtler & Cardinal, 2015; Zingales e cols, 2012; Justi e cols, 2016). De interesse, aplicativos têm sido desenvolvidos para facilitar a identificação dos triatomíneos (Gurgel-Gonçalves e cols, 2017).

Além da via vetorial, outras formas de transmissão apresentam importância epidemiológica, como a via transfusional, vertical e oral (**Fig. 4**). Há relatos ainda da aquisição da infecção pela doação de órgãos, consumo de carne malcozida de animais infectados e acidentes laboratoriais (Coura e cols, 2007). Estudos mais recentes sugerem uma nova via de transmissão: a sexual. Os primeiros relatos ocorreram ainda em 1911, por Viana, e apenas mais recentemente, diferentes pesquisadores comprovaram a transmissão pela via sexual em modelo experimental murino (Martin e cols, 2015; Ribeiro e cols, 2016).

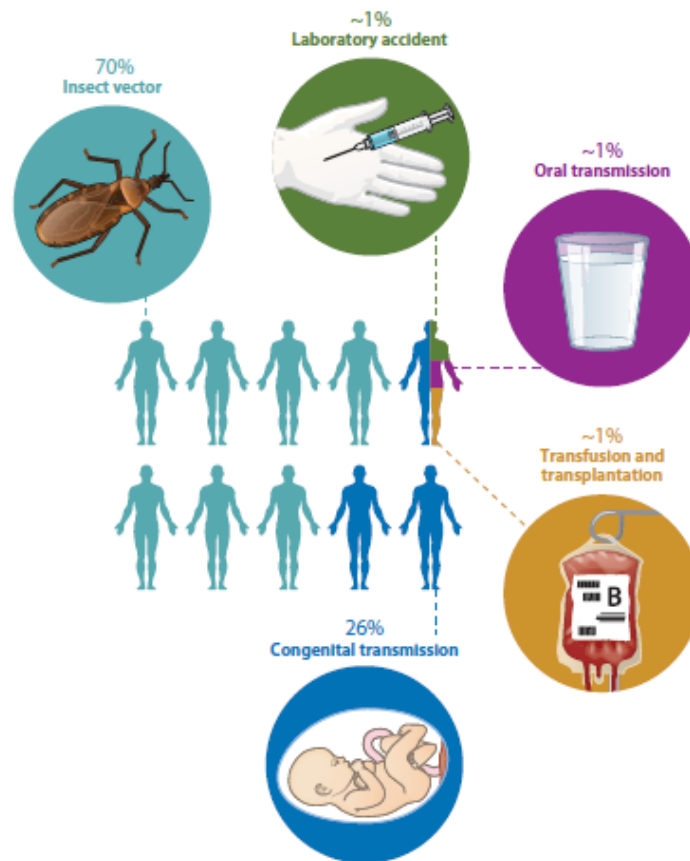


Figura 4. Modos de transmissão da doença de Chagas. (Fonte: Bonney e cols, 2017)

1.5 Sintomatologia e diagnóstico

As manifestações clínicas aparecem de acordo com o curso de evolução da doença. Na fase aguda, 90% dos casos são assintomáticos, entretanto, quando sintomática, os pacientes apresentam sinais em um período de 8-10 dias. São estes a febre de longa duração, edema subcutâneo, seja ele localizado ou generalizado, e desconforto em linfonodos, baço e fígado. O sinal mais clássico de fase aguda da DC é o chamado sinal de Romaña, caracterizado por edema periorbital e da pálpebra, indolor. Uma das causas de óbito neste período é o acometimento por insuficiência cardíaca (Rassi e cols, 2010b). A forma esquemática do desenvolvimento da DC pode ser vista na **Figura 5**.

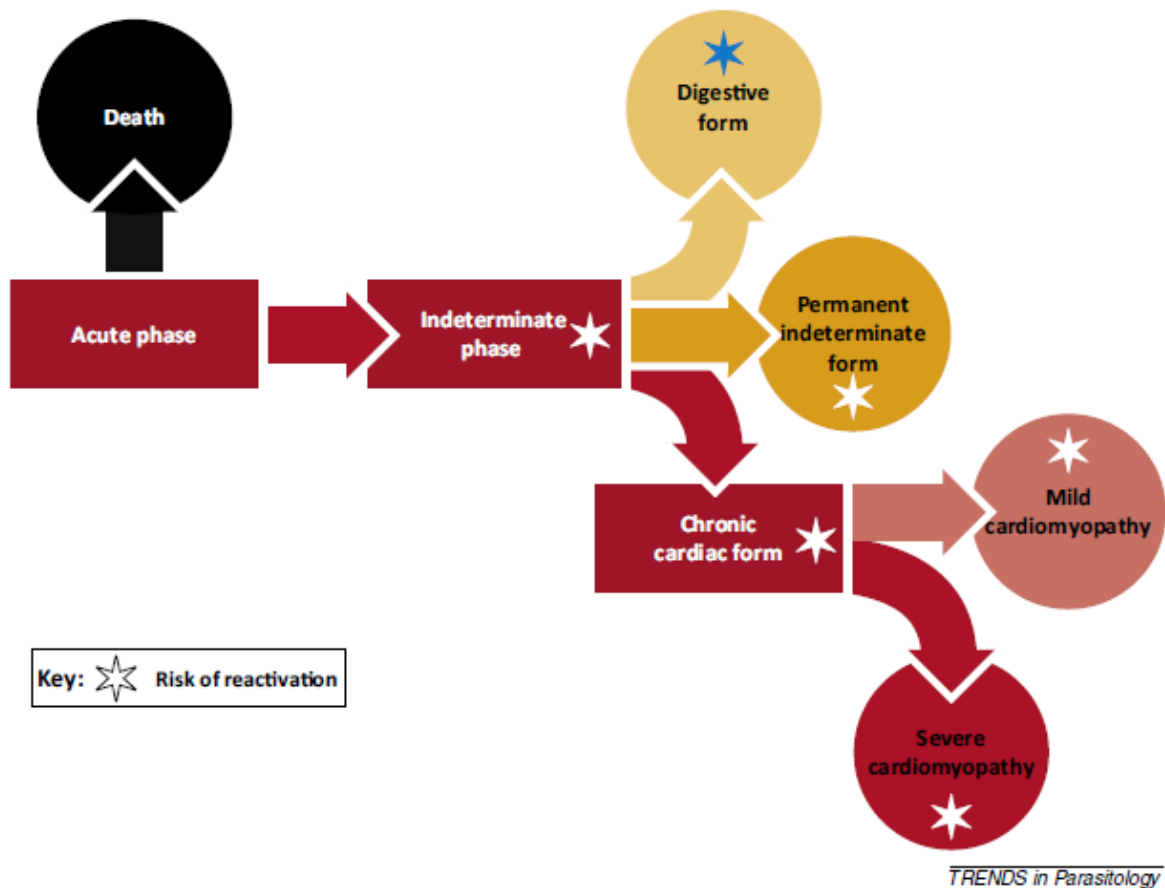


Figura 5. Fluxograma do desenvolvimento da Doença de Chagas. (Fonte: Perez e cols, 2014).

A maioria dos pacientes são assintomáticos durante a fase crônica, sendo classificados com indeterminados. Contudo, durante a fase indeterminada da DC, o paciente crônico poderá, de forma imprevisível, desenvolver sintomas relacionados a órgãos do trato gastrointestinal, sistema nervoso e coração (**Fig. 6**), local de maior variedade de lesões provocadas pela infecção (Tanowitz e cols, 2016). 25-30% dos indivíduos sintomáticos desenvolvem alterações cardíacas, caracterizadas pelo aumento no volume do órgão (megacárdio) (**Fig. 7**) e por alterações na condução dos impulsos nervosos, causando insuficiência cardíaca, embolismo pulmonar advindo de trombos coronarianos, taquicardia ventricular e arritmias. Além disso, 5-10% dos indivíduos apresentam megaesôfago e megacólon (**Fig. 8**). Há ainda os indivíduos que apresentam sintomas mistos, com combinação de sintomas cardíacos e digestivos (Rassi e cols, 1995; Rassi e cols, 2010b; Rassi e cols, 2012; Jabari, 2014).

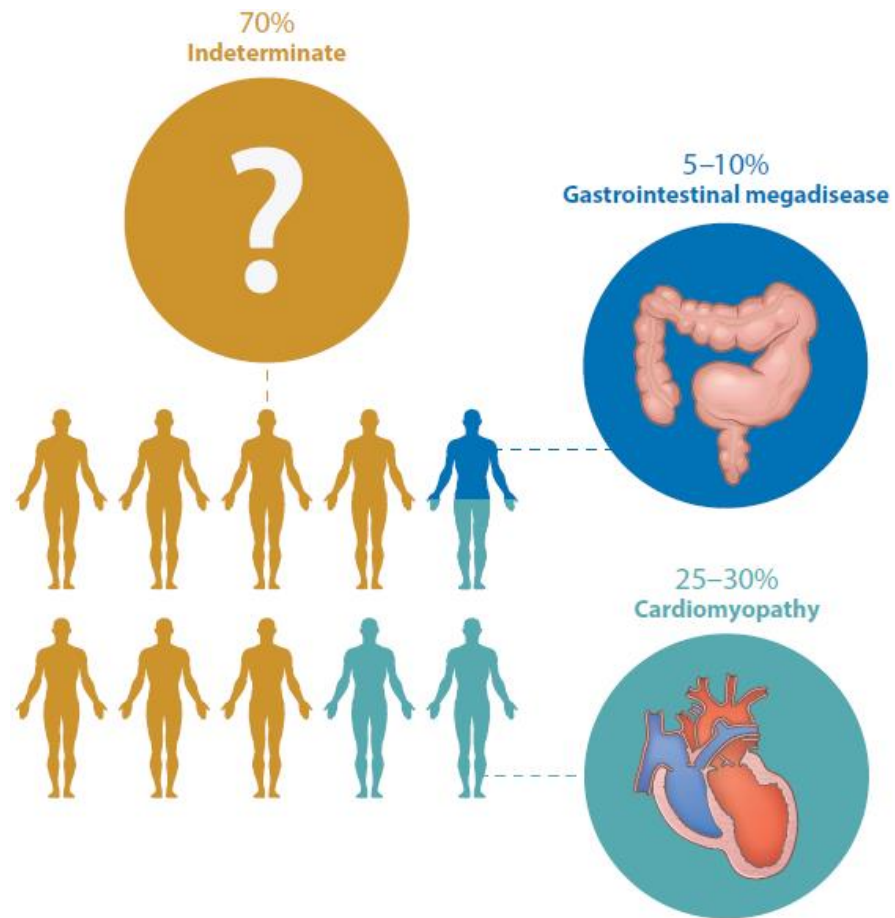


Figura 6. Manifestações clínicas da fase crônica da fase crônica de Chagas. (Fonte: Bonney e cols, 2017)

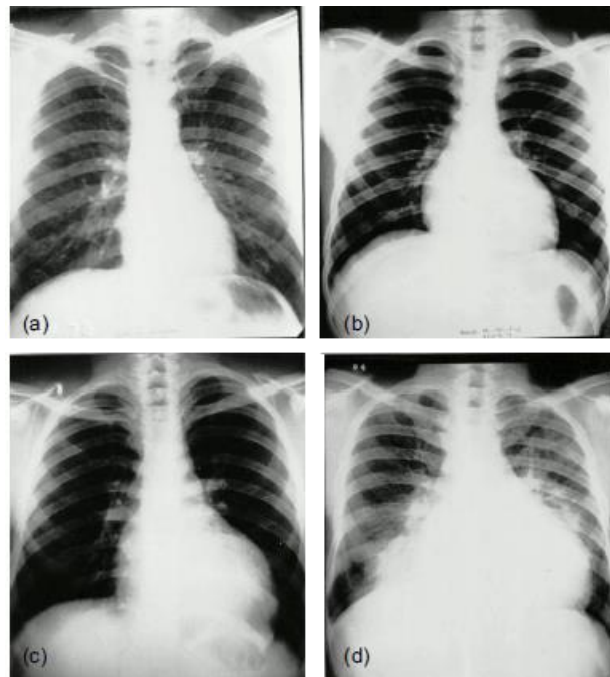


Figura 7. Raio-X de tórax demonstrando a cardiomegalia na DC. (Fonte: Tarleton e cols, 2007)

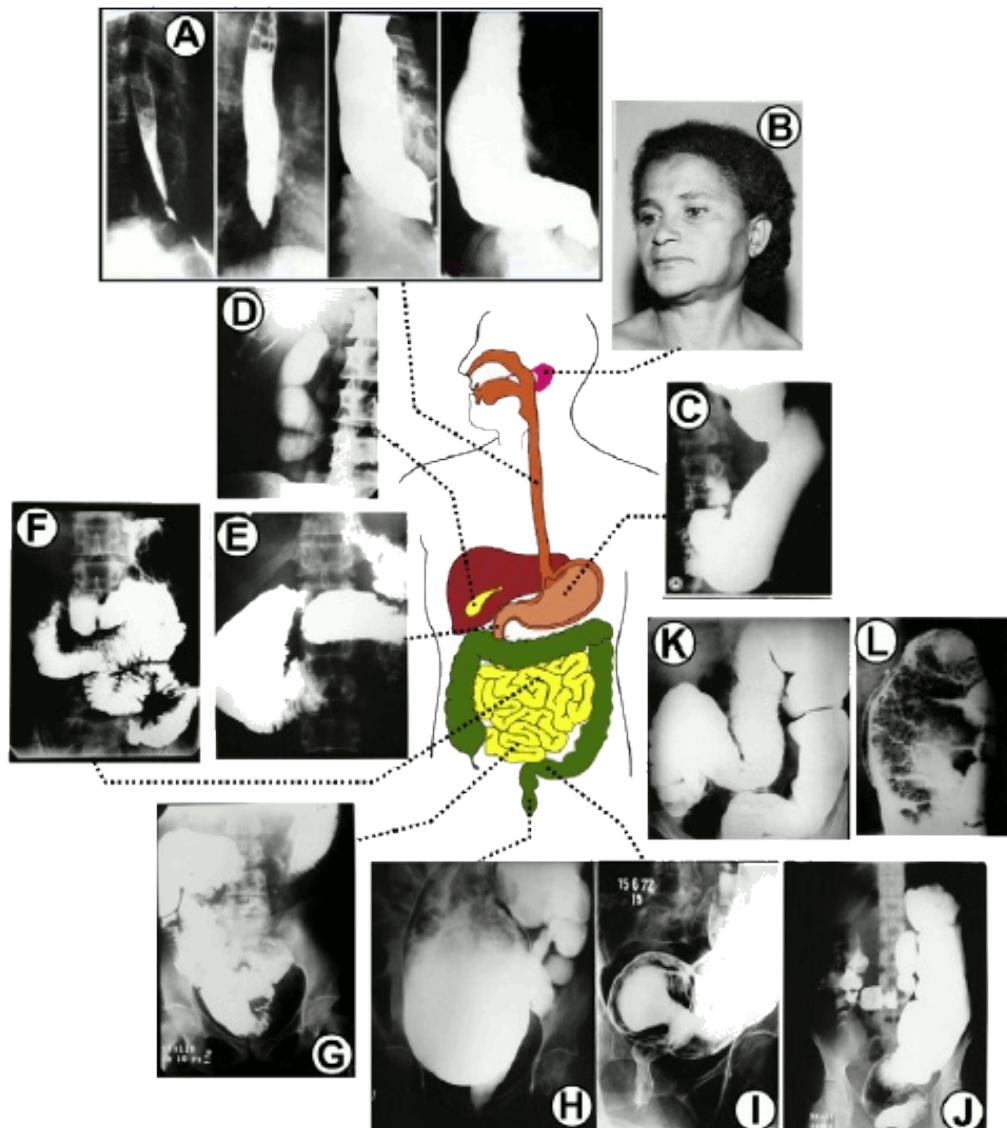


Figura 8. Manifestações gastrointestinais da doença de Chagas (Fonte: Rassi e cols, 2012)

A escolha do método de diagnóstico para a DC depende da fase da doença em que o paciente se encontra. O diagnóstico comumente utilizado em casos agudos é o exame a fresco, realizado por meio da visualização em microscópio de formas tripomastigotas no sangue do paciente (Health, 2013). Na fase crônica, também podem ser realizados exames parasitológicos, tais como hemocultura, todavia, devido à baixa parasitemia, os exames sorológicos e moleculares são os mais recomendados (Lewis e cols, 2014; Schijman e cols, 2011).

O diagnóstico considerado “padrão ouro” durante a fase crônica da DC, baseia-se nos métodos sorológicos que buscam anticorpos do tipo IgG anti *T. cruzi*, como imunofluorescência indireta (IFI), Enzyme-linked-immunosorbent-assay (ELISA) e hemaglutinação indireta (Neves et al., 2005; Rassi; Rassi; Marin-Neto, 2012). As técnicas moleculares, como a PCR quantitativa (qPCR), podem ser utilizadas em caso de resultados inconclusivos na sorologia (Dias, 2016),

além de auxiliar no acompanhamento do tratamento do paciente (Rassi; Rassi; Marin-Neto, 2012).

De acordo com o documento feito no II Consenso Brasileiro da doença de Chagas em 2015, a Organização Mundial da Saúde recomenda a prevenção e o controle da transmissão congênita e indica triagem por método sorológico, como forma de manejo clínico para pacientes do sexo feminino com histórico de transfusão realizado em áreas que são consideradas endêmicas (Carlier e cols, 2011; Dias e cols, 2015).

1.6 Tratamento e perspectivas na DC

De acordo com Pedrique cols (2013), 850 novos produtos terapêuticos incluindo novas formulações, novas moléculas, combinações de dose ou vacinas e biológicos foram registrados em agências regulatórias de 2000-2011. Deste total, apenas 37 (4%) foram destinados ao hall das doenças negligenciadas, com maior foco em malária, tuberculose e doenças diarreicas, dentre eles, 29 medicamentos e 8 vacinas. Estes dados evidenciam a grande deficiência no desenvolvimento de fármacos para estas doenças, apesar do progresso ocorrido em comparação ao estudo realizado pela organização Drugs for Neglected Diseases Initiative (DNDI; 2003), que demonstrou que entre os anos de 1975 a 1999 apenas 1% dos fármacos registrados eram para este fim.

Atualmente o tratamento da DC é feito por meio dos medicamentos nifurtimox e benznidazol, sendo que apenas este último está disponível no Brasil (MSF,2018). O medicamento utilizado no país é um fármaco sintético que tem como modo de ação principal a formação de radicais livres (Ribeiro, 2013), e é indicado preferencialmente para pacientes de fase aguda, com efetividade moderada. Pode ter efeitos adversos indesejáveis como reações de hipersensibilidade e neuropatias (Rodríguez-Morales; Von; Franco-Paredes, 2011).Ademais, o estudo de ensaio randomizado conduzido por Morillo e cols (2015) em pacientes crônicos com cardiomiopatia, demonstrou que o medicamento foi capaz de reduzir a quantidade de parasitos presentes no sangue, mas não obteve sucesso em relação à progressão da manifestação clínica, demonstrando a dificuldade do uso de quimioterapia na fase crônica da doença.

Novas estratégias já vêm sendo relatadas na literatura no que tange à diagnóstico, prognóstico e possível imunização. Atualmente, a molécula do parasito de 80 kDA polyl oligopeptidase (Tc80) está sendo testada em modelo animal como possível alvo para o desenvolvimento de uma vacina (Bivona e cols,2018). Além disso, o Eletrocardiograma (ECG)

de superfície de alta resolução tem se demonstrado uma ferramenta promissora no diagnóstico precoce de pacientes crônicos assintomáticos (de la Rosa e cols, 2018). Recentemente, o projeto de pesquisa desenvolvido no Laboratório Interdisciplinar de Biociências da UnB (LabIBC) busca avaliar o papel das integrações do kDNA de *T. cruzi* e dos retroelementos de LINE-1 como potenciais marcadores moleculares do *T. cruzi* para auxiliar na melhora prognóstica dos pacientes (dados não publicados).

1.7 Justificativa e objetivo

Assim, após toda contribuição científica realizada nos últimos 110 anos para se conhecer de forma substancial a DC e seus aspectos fisiopatológicos, até o momento não há um consenso em relação aos mecanismos de patogênese envolvidos no surgimento das lesões teciduais presentes na fase crônica. Nesse sentido, vivemos grandes dificuldades no que se diz respeito à conduta considerada adequada para o manejo clínico dos pacientes sintomáticos. A DC pode permanecer em estado de latência por muitos anos e, não se conhece os fatores que desencadeiam o desenvolvimento das formas crônicas, cardíaca ou digestiva.

Algumas hipóteses tentam responder essas questões, dentre elas, destacamos a hipótese que reforça o papel da persistência do parasito e outra, que defende que os mecanismos responsáveis pelo aparecimento das lesões são decorrentes de uma resposta autoimune indesejada. Além disso, diversos autores sugerem a participação de alterações metabólicas e mutações no DNA da célula hospedeira na gênese das lesões. Nesse sentido, o objetivo desse trabalho é estudar as teorias de patogênese da DC, buscando relacionar os conhecimentos científicos com novas estratégias de assistência aos pacientes.

2. METODOLOGIA

Este estudo pretende discorrer sobre as teorias relacionadas ao processo de patogênese da Doença de Chagas. Para isto, foi realizada uma busca ativa na base de dados do National Institute of Health (PUBMED), dando ênfase às publicações realizadas entre 2010 a 2018, exclusivamente em inglês. A pesquisa foi efetuada por meio dos descritores “*Trypanosoma cruzi*” AND “Chagas disease” AND “pathogenesis”.

3. RESULTADOS

Com o intuito de identificar as causas envolvidas no processo de patogênese tardia da doença de Chagas crônica, foram elaboradas algumas teorias baseadas em mecanismos que envolvem a persistência do parasito, microvasculopatia, autoimunidade, ativação de bystander, dentre outras. As principais teorias abordadas neste trabalho serão as da persistência ao parasito e autoimunidade, por serem bem exploradas pela literatura (Booney & Engman, 2015), das atualizações acerca dos distúrbios metabólicos que podem estar associados ao desenvolvimento das lesões.

3.1. Teoria da persistência do parasito

Uma das teorias que buscam explicar os mecanismos de patogênese é a teoria de persistência do parasito, em que sugere que o tecido-alvo dos parasitos está sujeito a infecções recorrentes, levando conseqüentemente ao dano tecidual local (Tarleton, 2001). Alguns estudos da literatura buscam relacionar achados clínicos com a presença do parasito no tecido infectado (**Fig. 9**), de forma a sustentar a teoria da persistência ao parasito; como os achados de antígenos em tecido cardíaco e a falta de reatividade autoimune na ausência de infecção pelo parasito (Jones e cols, 1993; Higuchi e cols, 1993). Ademais, esta teoria começou a ganhar espaço por meio de trabalhos desenvolvidos na década de 1990, que demonstraram o DNA do parasito em lesões inflamatórias cardíacas, o que reforçou a relação entre a presença do *T. cruzi* com o aparecimento de inflamação e dano tecidual (Rassi e cols, 2010a).

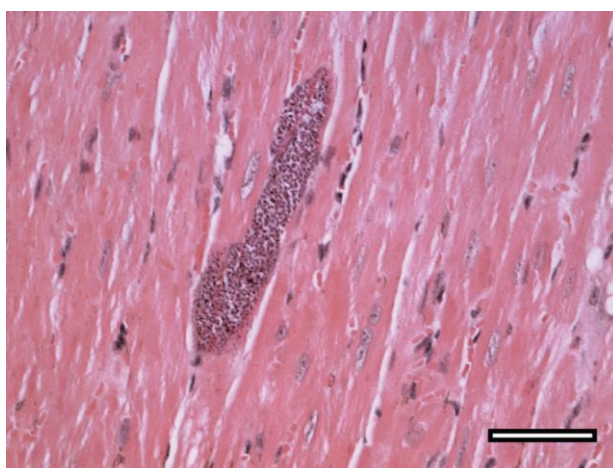


Figura 9. Ninho de amastigotas em cardiomiócitos. (Fonte: Marinho e cols, 2009)

Inicialmente, foram avaliadas características relacionadas ao agente etiológico. A diversidade genética do *T. cruzi* parece estar diretamente relacionada a diferenças quanto ao

tropismo celular e o potencial patogênico, possibilitando expressões variáveis na patogênese da doença (Perez e cols, 2014).

A atualização de estudos que visavam relacionar a presença do parasito com os acometimentos clínicos trouxe à tona grandes desafios relacionados à variável genética do parasito, uma vez que, essas modificações alteram o metabolismo do parasito e a sua posterior interação com o hospedeiro, como pôde ser visto no trabalho em que as diferentes cepas interagem com diferentes tipos de galectinas humanas (Pineda e cols, 2015). Pode-se dizer que a sustentação mais intensa para tal teoria atualmente seria, a exemplo do estudo de Cruz e cols (2016), a constatação da presença de ninho de amastigotas do parasito atrelada a eventos de fibrose ventricular e distúrbios elétricos deste.

A intensidade da doença pode ser influenciada de acordo com a duração desta e com o local tecidual escolhido pelo parasito. Essas variáveis poderiam, então, se sujeitar a comportamentos genéticos tanto do hospedeiro quanto do *T. cruzi*, que, como abordado previamente, é dividido em subtipos distintos geneticamente (Messenger e cols, 2015; Lewis & Kelly, 2016). A variabilidade genética pode estar envolvida também como fator de modulação da ativação de citocinas (Costa e cols, 2009; Rodriguez e cols, 2014).

Essa variação de intensidade de infecção, mediada por diferentes cepas de *T. cruzi* foi avaliada por Pineda e cols (2015) face às galectinas humanas – moléculas presentes no citosol de diversas células da família das lecitinas e possuem atividade imunoregulatórias (Vasta, 2012). Essa interação da galectina associada a cepa de determinado DTU poderia estar relacionada ao desenvolvimento das lesões encontradas no período crônico da doença (Pineda e cols, 2015).

Outros autores avaliaram a disfunção ventricular de miócitos em modelo animal e em pacientes sintomáticos (Pereira, 1986; Nunes, 2004). Cruz e cols (2016) estudaram os possíveis mecanismos desencadeantes da disfunção elétrica do órgão por meio do isolamento ventricular de miócitos de camundongos infectados por cepa Colombiana. Foi identificada a presença de *T. cruzi* em ambos ventrículos aos 90 dias pós-infecção por técnica molecular e aumento do prolongamento de potencial de ação ventricular, com aumento na deposição de colágeno no tecido cardíaco. Dessa forma, foi possível relacionar a progressão da doença à fibrose e as alterações elétricas com a presença do parasito e seus antígenos no tecido.

A teoria ganhou novas abordagens por meio da exploração da técnica de bioluminescência, cuja capacidade de identificar o tropismo de tecidos em camundongos

infectados *post-mortem* é ampla ao longo do corpo do camundongo, ao passo que, por se tratar da utilização de moléculas fluorescentes, tem a sua visualização ao microscópio reduzida (Shaner e cols, 2013).

A técnica de bioluminescência associada a CRISPR/Cas9 para edição do genoma baseado em PCR (Costa e cols, 2018) foi capaz de facilitar o estudo do “mapeamento geográfico” destes parasitos e transferir a experimentação de modelo *in vitro* para *in vivo*.

Modelo não-invasivo de imagem, a bioluminescência permitiu a identificação de parasitos aos 126 dpi utilizando a cepa Colombiana em camundongos Swiss Webster, ao passo que a parasitemia é baixíssima, os parasitos estavam distribuídos ao longo de tecidos como coração, intestino, gordura mesentérica e músculo esquelético e órgãos como fígado, pulmão e baço (Silberstein e cols, 2018). Outros trabalhos demonstraram também a persistência do parasito ao longo do TGI e no coração, ao utilizar, desta vez, as cepas Dm28c e JR, classificadas em TcI, em camundongos BALB/c e C57BL/6 (Lewis e cols, 2016; Henriques e cols, 2014).

Contudo, existem resultados na literatura que não corroboram para a constatação desta teoria, como o trabalho de Lewis e cols (2014), em que, com o auxílio de técnica de bioluminescência, não encontrou parasitos no local de lesões cardíacas nos camundongos infectados.

Estudos com bioluminescência trouxeram novas perspectivas acerca da persistência do parasito no tecido. Uma vez que a grande dificuldade encontrada na fase crônica é a baixa parasitemia, a distribuição em pontual em tecidos diferentes e a quantificação destes. A técnica, recentemente aperfeiçoada, traz a nova proposta a esta teoria, de que o intestino e órgãos adjacentes também possuem protagonismo face à persistência do parasito.

3.1.1 O papel do tecido adiposo na patogênese

Pesquisa buscam compreender a relação entre as alterações metabólicas e endócrinas geradas no paciente com DC que possam comprometer e acarretar no desenvolvimento das lesões chagásicas e em sua severidade. Estudos prévios demonstraram que as formas mais severas de miocardite acometem pacientes que apresentam algum desequilíbrio imunoendócrino, como sobrepeso (Perez e cols, 2011). Nesses casos, supõe-se que o aumento da resposta inflamatória do paciente pode ser decorrente de seu ganho de peso, e que este fator poderia desencadear o desenvolvimento de lesões cardíacas de forma mais acelerada.

O local escolhido pelo *T. cruzi* no hospedeiro está associado com características genéticas do parasito, sendo considerada um importante variável em relação à resposta imune, que por sua vez está diretamente ligada ao estabelecimento dos parasitos (Tanowitz e cols, 2017). É sabido que o *T. cruzi* possui tropismo por músculo cardíaco estriado e músculo liso (Lewis & Kelly, 2016), fato este atribuído à necessidade deste tipo celular de reparo (Fernandes, 2011) e a oferta de grupamento heme pela mioglobina (Taylor & Kelly, 2010). Entretanto, alguns autores demonstraram a permanência do parasito no citoplasma de adipócitos (Shoemaker e cols, 1970), com tropismo para o tecido adiposo bege e branco nas duas fases da DC, indicando um papel importante do tecido adiposo (**Fig. 10**) na progressão da infecção (Nagaiyothi e cols, 2012; Ferreira e cols, 2011; Tanowitz, 2017). Ademais, as células adiposas podem ser consideradas "porta de entrada" para outros tecidos em momentos tardios da infecção (Nagajyothi, 2011; Johndrow, 2014).

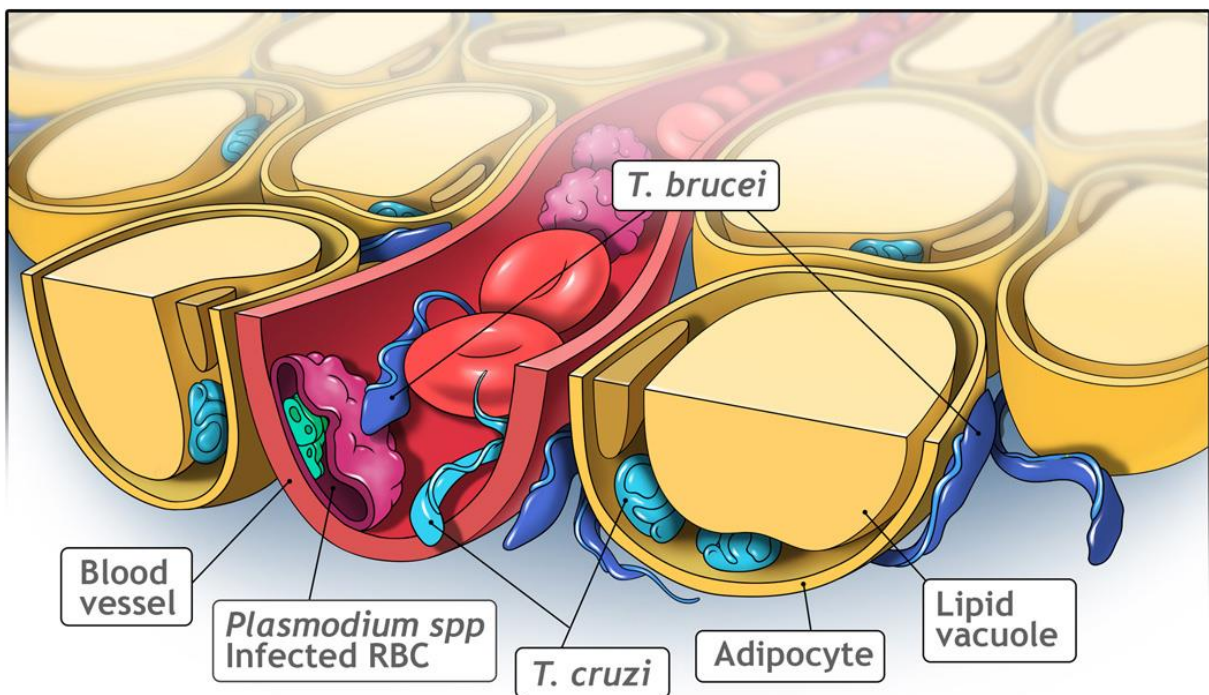


Figura 10. Local de alojamento dos parasitos *T. brucei* (em azul escuro) e *T. cruzi* (em azul claro) no tecido adiposo. (Fonte: Tanowitz e cols, 2017)

O parasito tem acesso ao tecido adiposo ao atravessar um vaso sanguíneo para acessar tecidos diversos; por extravasamento vascular (Tanowitz, 2017), ou de forma específica, por meio de da interação com receptores provenientes dos capilares do tecido (Kolonin, 2004). A relação entre tecidos ricos em adipócitos e a presença de parasitos também é vista pelo trabalho de imagem de bioluminescência de Lewis e cols (2014).

Recentemente, estudos utilizando dietas hipercalóricas em modelos animais demonstraram aumento da carga parasitária no tecido adiposo com consequente diminuição da parasitemia no tecido cardíaco e diminuição da cardiomiopatia, sugerindo papel protetor do tecido adiposo na DC crônica (Nagajyothi, 2014; Tanowitz, 2017).

A contribuição do papel do tecido adiposo na patogênese corrobora com a persistência do parasito e com a proposta da presença do parasito em tecidos e órgãos distintos, que, de certa forma, podem se redistribuir durante a fase crônica, mostrando o papel de alguns tecidos como reservatórios para posterior migração deste parasito para outros locais para ocasionar a lesão, como o órgão cardíaco, grande acometido de disfunções graves na fase crônica.

3.2 Teoria da autoimunidade

A DC, no que tange suas complicações cardíacas, é caracterizada pela presença de infiltrado inflamatório capaz de destruir cardiomiócitos e fibras nervosas, envolvidos no processo de desenvolvimento de lesões como cardiomegalia, parada cardíaca, derrame, arritmia ou falha congestiva (Rassi e cols, 2010). A autoimunidade é caracterizada pela perturbação dos processos de auto tolerância do hospedeiro, acarretando na ativação de células do sistema imune contra antígenos próprios. Possíveis explicações acerca desta resposta imune indesejada seriam a atuação dos mecanismos de mimetismo molecular e ativação *bystander* (**Fig. 11**). A ativação de *bystander* ocorre por meio da exposição de antígenos no tecido lesado e o mimetismo molecular (**Fig. 12**), devido a semelhanças de epítomos do parasito com proteínas próprias (Engman & Leon, 2002). Esses processos desencadeiam aumento da secreção de IFN- α e β , seguida de ativação de linfócitos T CD8⁺ e expansão clonal, caracterizando o infiltrado inflamatório presente no tecido cardíaco (Zhang & Tarleton, 1999; Boyman, 2010).

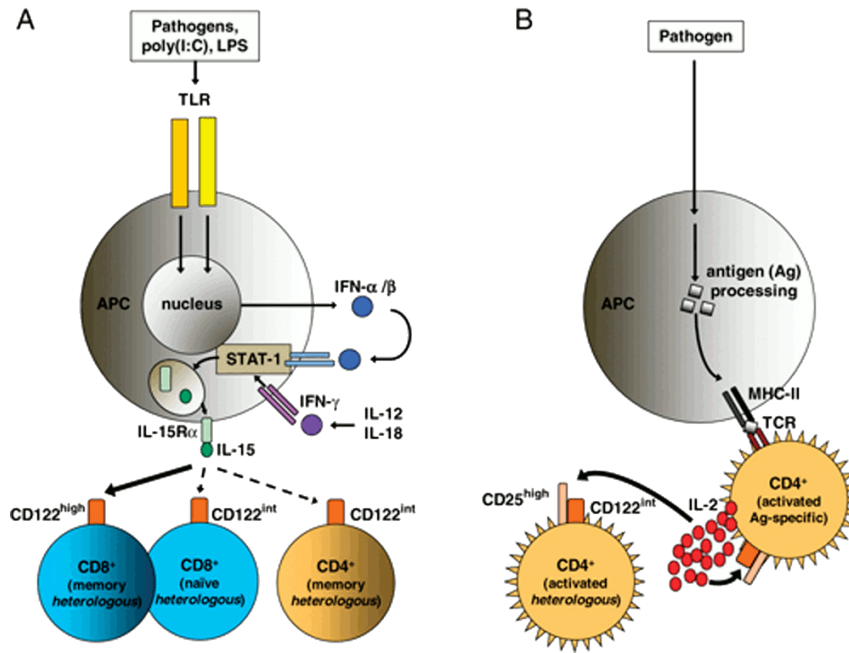


Figura 11. Ativação bystander de células T CD4 e CD8 (Fonte: Boyman, 2010).

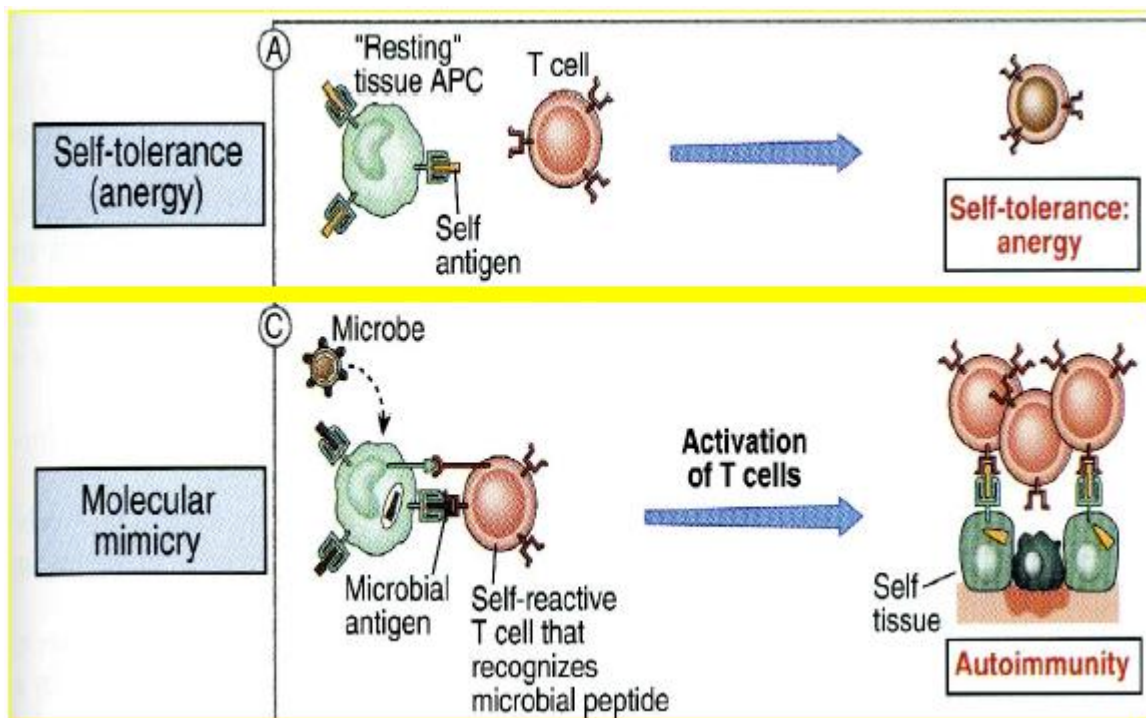


Figura 12. Esquema dos mecanismos de auto-tolerância e mimetismo molecular.

Interessantemente, outros estudos propõem que mutações no genoma da célula hospedeira decorrentes de integração de kDNA do *T. cruzi* poderiam estar relacionadas com o desenvolvimento das lesões cardíacas. Aves mutadas com o kDNA de *T. cruzi* apresentavam insuficiência cardíaca e intenso infiltrado inflamatório nos cardiomiócitos, sugerindo uma

resposta autoimune nesses animais (Hecht e cols, 2010; Teixeira e cols, 2012; Guimaro e cols, 2014).

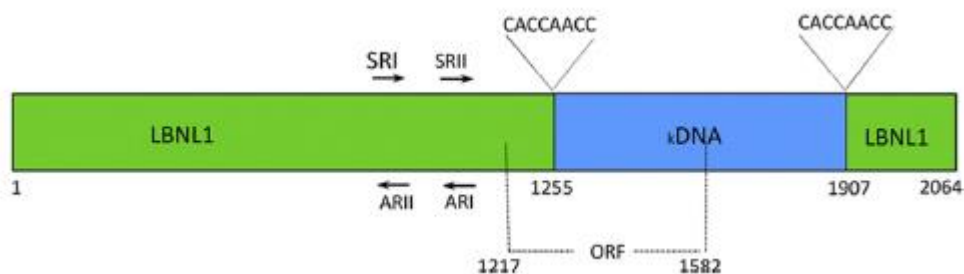


Figura 13. Esquematização da integração do kDNA à sequência genômica de camundongos (Fonte: Nitz e cols, 2004).

3.3 Aspectos que enquadram as duas teorias

3.3.1 Células e mediadores da imunidade inata e adaptativa

Um dos objetivos principais de se estudar a imunologia da DC é compreender a cascata de interações que o parasito realiza com as células hospedeiras e o comportamento responsivo de células e moléculas envolvidas na resposta imune inata e adaptativa (**Fig. 13**), desde os primeiros contatos com o parasito, na contribuição posterior para os mecanismos da patogênese.

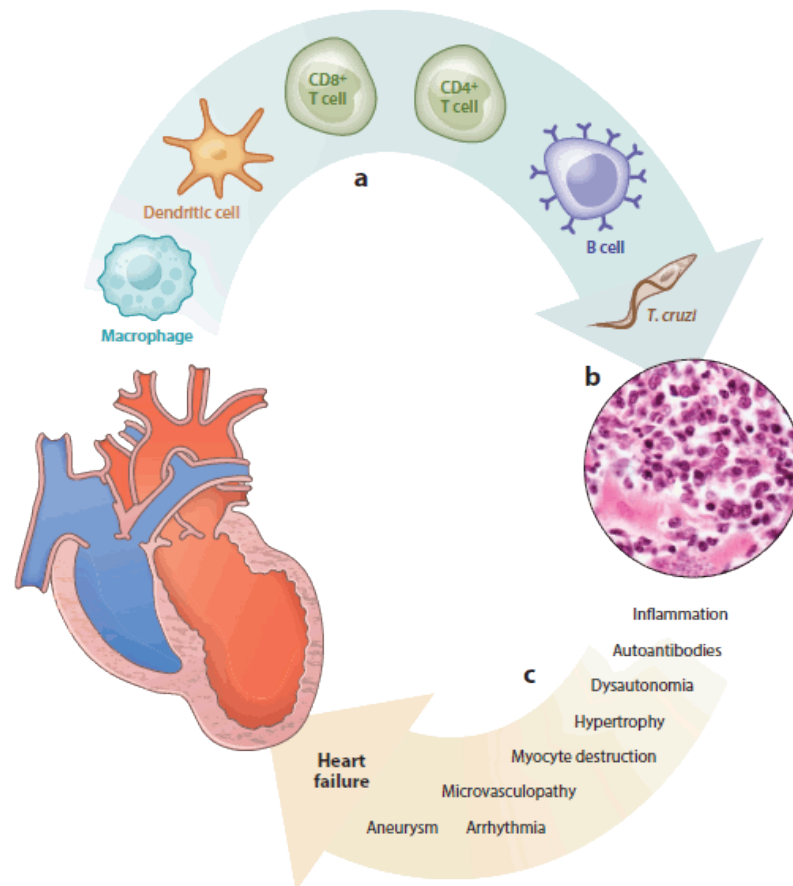


Figura 13. Patogênese na doença de Chagas – processo cardíaco. (Fonte: Bonney e cols, 2017)

Pesquisas ressaltam que fatores importantes moduladores da resposta imune são dependentes de polimorfismo genético do hospedeiro (Rodriguez e cols, 2014). O parasito durante o processo de multiplicação intracelular, libera inúmeros antígenos, tanto exógenos quanto proteínas intracelulares, levando a ativação e sustentação da resposta imunológica do hospedeiro, que responde de forma individual, de acordo com as suas características genéticas (Teixeira, 2006; Teixeira e cols, 2011).

Na resposta imune inata, a família de receptores do tipo Toll (TLR) e receptores do tipo Nod (NLR) ganham destaque na compreensão da patogênese, uma vez que desempenham funções importantes na regulação da resposta imune; seja por estarem envolvidos no reconhecimento de padrões moleculares associados à patógeno (PAMPs) e posterior ativação de células da imunidade inata, ou pela modulação na resposta adaptativa (Pereira e cols, 2018).

Sendo assim, foram investigadas as relações entre os receptores TLR1-9, 3/NLRP3, as citocinas (IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-23, IFN- β e TNF- α), moléculas adaptadoras com manifestações clínicas apresentadas por pacientes crônicos da DC. Percebeu-se o aumento de

TLR2, IL-12 e TNF- α em pacientes com a forma cardíaca e cardiodigestiva, ao passo que pacientes com a forma digestiva e mista tiveram o aumento de mRNA de TLR8 e IFN- β . Esse estudo demonstra como os receptores da resposta imune inata podem atuar em face às citocinas e conseguinte ativação nas lesões nas diferentes classificações de manifestação clínicas destes pacientes (Pereira e cols, 2018).

Para que se compreenda o papel das citocinas na resposta ao *T. cruzi*, o estudo realizado por Kulkarni e cols (2015) buscou elucidar a relação entre a via de ativação do interferon- γ (IFN- γ), sinalizada pela expressão de STAT-1, com a susceptibilidade à infecção pelo *T. cruzi*. Ao utilizar camundongo STAT-1 knockout, verificou-se a hiper responsividade de IFN- γ mediada por células CD4+ e CD8+ e o aumento de IL-17 como compensação pela falta de IFN- γ . Foi demonstrada a importância desta via de sinalização frente ao controle de infecção, uma vez que camundongos STAT-1 knockouts morreram na infecção aguda e apresentaram grande número de parasitos no miocárdio (Kulkarni e e cols, 2015). O papel do interferon- γ também foi avaliado, juntamente com a atuação de células CD4+ e CD8+ e outras citocinas em pacientes com DC crônica no México. Esse trabalho identificou uma maior concentração de CD25+ e CD69 em pacientes com cardiomiopatia chagásica crônica (CCC) e aumento de resposta do tipo Th1. Nos pacientes assintomáticos, apesar de também apresentarem concentrações alteradas de CD25+ e CD69, foi identificada resposta imune predominante do tipo Th2 e células CD8+/IFN- γ . Outras citocinas estudadas, como IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e TNF- α , não obtiveram quantidades detectáveis (Cruz-Robles e e cols, 2017).

Moléculas derivadas de ácido graxo como os leucotrienos ganharam destaque após serem produzidas por leucócitos para recrutar macrófagos e, assim, eliminar o parasito em sua forma intracelular (Pavanelli e cols 2010). Os macrófagos, por sua vez, constituem a primeira linha de defesa contra o *T. cruzi* por meio da fagocitose. Entretanto, estas células podem contribuir na disseminação dos parasitas que se alojam em seu interior, seja por invasão celular quantitativamente intensa ou pela habilidade de escape do vacúolo fagocítico pelo parasito (Teixeira e cols, 2011). Ademais, durante a fase crônica da DC, o processo de fagocitose exercido pelos macrófagos e neutrófilos é facilitado pela atuação de IgG opsonizante (Mota, I. & Umekita, 1989; Álvarez e cols, 2014).

3.3.2 A atuação de espécies reativas de oxigênio

As espécies reativas de oxigênio (ROS, sigla em inglês) são produzidas pelo reconhecimento dos PAMPS por receptores TLRs e NODs (Kayama & Takeda, 2010), por meio

oxidação de moléculas de oxigênio, catalisadas pela enzima NADPH oxidase como forma de combate à infecção. Além disso, os ROS atuam na a oxidação de moléculas como açúcares, proteínas, peroxidação de lipídeos, com efeito desestabilizador de membranas celulares, além de causar danos ao material genético (Figueira e cols, 2013). Na fase crônica, as ROS apresentaram quantidade elevada no coração, desencadeando aumento de biomarcadores de lesão oxidativa no coração como catalase (CAT), Glutathione Peroxidase (GPx), Glutathione reductase (GRS). Juntamente com achados de Mn (2+) Superóxido Dismutase (MnSOD) diminuídos nos camundongos infectados, esse conjunto de ações podem contribuir para o estresse oxidativo causado a longo prazo, de forma persistente e ocasionando as lesões(Wen; Vyatkina; Garg, 2004).

O acúmulo destas espécies reativas, aliado à depleção antioxidativa, resulta em um quadro de estresse oxidativo que pode atuar na progressão de lesões encontradas na patologia cardíaca (Machado e cols, 2012). Entretanto, para compreensão mais abrangente da atuação do estresse oxidativo na DC, se faz importante conhecer o comportamento do parasito frente à atuação das ROS, uma vez que o *T. cruzi* também tem a capacidade de produzi-las. Ademais, é necessário conhecer melhor os mecanismos de escape do parasito. De interesse, inibidores de vias de reparo de DNA e o uso de antioxidantes, se apresentam como alvos interessantes para o desenvolvimento de novos fármacos (Machado-Silva e cols, 2016).

Da mesma forma, é possível perceber alterações no metabolismo oxidativo desde a fase aguda devido ao aumento da expressão gênica gerada por cardiomiócitos em resposta a infecção por *T. cruzi*. A respiração metabólica é intensificada para auxiliar a cadeia de transporte de elétrons (CTE) em resposta a infecção, processo que influencia a fosforilação oxidativa, confirmado pelo aumento da produção de PGC-1 α , marcador do processo de biogênese mitocondrial. Esse processo ocorre por intermédio da ativação da via AKT/mTOR1 (Libisch e cols, 2018).

4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os estudos abordados neste trabalho trazem diferentes linhas de pesquisas que convergem e auxiliam na construção das peças que compõem o complexo processo de adoecimento atribuído à doença de Chagas. Essas pesquisas apontam perspectivas promissoras à compreensão dos processos que envolvem a patogênese de forma a converter em sucesso do manejo clínico dos pacientes em situação crônica, uma vez que, ao conhecer a causa de lesões

e todos os eventos que anteriores à estas, torna-se facilitado o processo de desenvolvimento de novos fármacos e de moléculas capazes de avaliar este tratamento.

A literatura descreve o envolvimento de diversas células e mediadores do sistema imune inato e adaptativo no desenvolvimento da fase crônica sintomática, especialmente no que tange a resposta autoimune. Diversos autores demonstram a persistência do parasito e sua relação com o desenvolvimento das lesões cardíacas. Além disso, alterações metabólicas também podem agravar o quadro dos processos já existentes da patogênese. Os dados referentes ao processo oxidativo decorrente da produção de espécies reativas de oxigênio trazem novos direcionamentos tanto no que tange à patogênese e aponta novas perspectiva para o tratamento da DC. É valido ressaltar que as teorias citadas neste presente trabalho não são excludentes, ou seja, os mecanismos podem coexistir para que as lesões nos órgãos-alvo ocorram.

Contudo, é necessário ampliar o conhecimento a respeito dos mecanismos fisiopatogênicos da DC, a fim permitir a identificação de marcadores de prognóstico, que poderão ser aplicados na prática clínica, possibilitando o tratamento mais adequado e melhor a acompanhamento dos pacientes na fase crônica da Doença de Chagas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁLVAREZ, J. M., FONSECA, R., BORGES DA SILVA, H. et al. Chagas Disease: Still Many Unsolved Issues. *Mediators of Inflammation*, v. 2014, p. 1-9, 2014.

AMODEO, S., JAKOB, M.; OCHSENREITER, T. Characterization of the novel mitochondrial genome replication factor MiRF172 in *Trypanosoma brucei*. *Journal of Cell Science*, v. 131, n. 8, p. jcs211730, 2018.

AMSTUTZ-SZALAY, S. Physician Knowledge of Chagas Disease in Hispanic Immigrants Living in Appalachian Ohio. *Journal of Racial and Ethnic Health Disparities*, v. 4, n. 3, p. 523-528, 2016.

ANGHEBEN, A., BOIX, L., BUONFRATEM, D. et al. Chagas disease and transfusion medicine: a perspective from non-endemic countries. *Blood Transfus.* Oct;13(4):540-50, Itália, v. 13, n. 4, p. 540-50, out. 2015

BARRIAS, E. S., DE CARVALHO, T. M. U., DE SOUZA, W. *Trypanosoma cruzi*: Entry into Mammalian Host Cells and Parasitophorous Vacuole Formation. *Frontiers in Immunology*, v. 4, 2013.

BIVONA, A. E., SÁNCHEZ ALBERTI, A., MATOS, M. N. et al. *Trypanosoma cruzi* 80 kDa prolyl oligopeptidase (Tc80) as a novel immunogen for Chagas disease vaccine. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 12, n. 3, p. e0006384, 2018.

BONNEY, K.; ENGMAN, D. Autoimmune Pathogenesis of Chagas Heart Disease. *The American Journal of Pathology*, v. 185, n. 6, p. 1537-1547, 2015.

BOYMAN, O. Bystander activation of CD4⁺T cells. *European Journal of Immunology*, v. 40, n. 4, p. 936-939, 2010.

BRUNORO, G. V. F.; CAMINHA, M. A.; FERREIRA, A. T. D. S. et al. Reevaluating the *Trypanosoma cruzi* proteomic map: The shotgun description of bloodstream trypomastigotes. *J Proteomics*, Rio de Janeiro, v. 115, p. 58-65, 2015.

CARLIER, Y; TORRICO, F; SOSA-ESTAMI, S. et al. Congenital Chagas Disease: Recommendations for Diagnosis, Treatment and Control of Newborns, Siblings and Pregnant Women. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 5, n. 10, p. e1250, 2011.

CASEY, M.M; BLEWETT, L.A.; CALL, K.T. Providing Health Care to Latino Immigrants: Community-Based Efforts in the Rural Midwest. *American Journal of Public Health*, v. 94, n. 10, p. 1709-1711, 2004.

- CASTILLO-RIQUELME, M. Chagas disease in non-endemic countries. *The Lancet Global Health*, v. 5, n. 4, p. e379-e380, 2017.
- CHAGAS, C. Nova tripanozomíaze humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 1, n. 2, p. 159-218, 1909.
- CHAGAS, C. *Trypanosoma minasense*. *Médico* 48. 1908, ano XXII.
- CHEN, J. et al. The topology of the kinetoplast DNA network. *Cell*, v. 80, n. 1, p. 61-69, 1995.
- COSTA, F.C.; FRANCISCO, A.F.; JAYAWARDHANA, S. et al. Expanding the toolbox for *Trypanosoma cruzi*: A parasite line incorporating a bioluminescence fluorescence dual reporter and streamlined CRISPR/Cas9 functionality for rapid in vivo localisation and phenotyping. *PLoS Negl Trop Dis*, v.12, n. 4, p. e0006388, 2018.
- COSTA, G. et al. Functional IL-10 Gene Polymorphism Is Associated with Chagas Disease Cardiomyopathy. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 199, n. 3, p. 451-454, 2009.
- COURA, J.R. Chagas disease (American trypanosomiasis). A historical Review. *Protozoal Diseases*, p. 306-312, 1999.
- COURA, J.R. Chagas disease: what is known and what is needed - A background article. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, n. review, v. 102, Suppl.I, p. 113-122, 2007.
- CRUZ, J. S., ROMAN-CAMPOS, D., MONTI-ROCHA, R et al. Altered Cardiomyocyte Function and *Trypanosoma cruzi* Persistence in Chagas Disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 94, n. 5, p. 1028-1033, 2016.
- CRUZ-ROBLES, D. et al. Serum cytokines and activation ex vivo of CD4+ and CD8+ T cells in chagasic chronic Mexican patients. *Annals of Parasitology*, v. 63, n. 4, p. 299-308, 2017.
- DA SAÚDE, Ministério. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Boletim Epidemiológico*, v. 46 n. 21, p. 1-9, 2015.
- DE LA ROSA, E., PAGLINI-OLIVA, P., PRATO, L. B. et al. Early Detection of Chronic Asymptomatic Chagas Infection. *Medical Science Monitor*, v. 24, p. 4567-4571, 2018.
- DE SOUZA, W., ATTIAS, M. New advances in scanning microscopy and its application to study parasitic protozoa. *Experimental Parasitology*, v. 190, p. 10-33, 2018.
- DE SOUZA, W.; DE CARVALHO, T.M.U.; BARRIAS, E.S., Review on *Trypanosoma cruzi*: Host Cell Interaction. *Int. J. Cell Biol.*, v.11, p. 11-18, 2010.
- DIAS, J.C.P. et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. *Epidemiol. Serv. Saúde*, v. 25, n. esp, p. 7-86, 2015.
- DNDi – Drugs for Neglected Diseases Initiative [online]. 2003. [acesso 2017 nov 3]. Disponível em: <<http://www.dndi.org/>>

- DVORAK, J.A & HYDE T.P. Trypanosoma cruzi: Interaction with vertebrate cells in vitro. *Experimental Parasitology*, v. 34, n. 2, p. 284-294, 1973.
- ENGMAN, D.; LEON, J. Pathogenesis of Chagas heart disease: role of autoimmunity. *Acta Tropica*, v. 81, n. 2, p. 123-132, 2002.
- FERNANDES, M. C.; ANDREWS, N. W. Host cell invasion by Trypanosoma cruzi: a unique strategy that promotes persistence. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 36, n. 3, p. 734-747, 2012.
- FERNANDES, M.; CORTEZ, M; FLANNERY, A.R et al. Trypanosoma cruzi subverts the sphingomyelinase-mediated plasma membrane repair pathway for cell invasion. *The Journal of Cell Biology*, v. 193, n. 4, p. i9-i9, 2011.
- GASCON, J., BERN, C. E PINAZO, M. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Tropica*, v. 115, n. 1-2, p. 22-27, 2010.
- GURGEL-GONÇALVES, R., KOMP, E., CAMPBELL, L. P. et al. Automated identification of insect vectors of Chagas disease in Brazil and Mexico: The Virtual Vector Lab. *PeerJ*, v. 5, p. e3040, 2017.
- HEALTH, Global. Parasites - American Trypanosomiasis (also known as Chagas Disease). CDC, Atlanta, 2 de jun. de 2014. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/chagas/diagnosis.html>>. Acesso em: 05 de nov. de 2018.
- HECHT, M. M., NITZ, N., ARAUJO, P. F. et al. Inheritance of DNA Transferred from American Trypanosomes to Human Hosts. *PLoS ONE*, v. 5, n. 2, p. e9181, 2010.
- HIGUCHI, M. D. L., DE BRITO, T., MARTINS REIS, M. et al. Correlation between Trypanosoma cruzi parasitism and myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagasic myocarditis: Light microscopy and immunohistochemical findings. *Cardiovascular Pathology*, v. 2, n. 2, p. 101-106, 1993.
- JABARI, S., DE OLIVEIRA, E. C., BREHMER, A. et al. Chagasic megacolon: enteric neurons and related structures. *Histochemistry and Cell Biology*, v. 142, n. 3, p. 235-244, 2014.
- JACKSON, Y.; PINTO, A.; PETT, S. Chagas disease in Australia and New Zealand: risks and needs for public health interventions. *Tropical Medicine & International Health*, v. 19, n. 2, p. 212-218, 2013.
- JOHNDROW, C., NELSON, R., TANOWITZ, H. Trypanosoma cruzi infection results in an increase in intracellular cholesterol. *Microbes and Infection*, v. 16, n. 4, p. 337-344, 2014.

- JONES, E. M., MCCURLEY, T. L., LOPES, E. R. et al. Amplification of a *Trypanosoma Cruzi* DNA Sequence from Inflammatory Lesions in Human Chagasic Cardiomyopathy. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 48, n. 3, p. 348-357, 1993.
- JUSTI, S. A., GALVÃO, C. E. SCHRAGO, C. G. Geological Changes of the Americas and their Influence on the Diversification of the Neotropical Kissing Bugs (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 10, n. 4, p. e0004527, 2016.
- KALEM M.C., GERASIMOV E.S., VU P.K. et al. Gene expression to mitochondrial metabolism: Variability among cultured *Trypanosoma cruzi* strains. *PLOS ONE*, v. 13, n. 5, p. e0197983, 2018.
- KAYAMA, H.; TAKEDA, K. The innate immune response to *Trypanosoma cruzi* infection. *Microbes Infect.*, v. 12, n. 7, p. 511-517, 2010.
- KOLONIN, M.G.; SAHA, P.K.; CHAN, L. et al. Reversal of obesity by targeted ablation of adipose tissue. *Natural Medicine*, v. 10, n.6, p. 625–632, 2004.
- KROPF, S.M; SÁ, M.R. The discovery of *Trypanosoma cruzi* and Chagas disease (1908-1909). *Hist Cien Saude – Manguinhos*, v. 16, n. (Suppl I) p. 13-34, 2009.
- KULKARNI, M. M., VARIKUTI, S., TERRAZAS, C. et al. Signal transducer and activator of transcription 1 (STAT-1) plays a critical role in control of *Trypanosoma cruzi* infection. *Immunology*, v. 145, n. 2, p. 225-231, 2015.
- LEWIS, M.; FORTES, F.A.; TAYLOR, M.C. et al. Bioluminescence imaging of chronic *Trypanosoma cruzi* infections reveals tissue-specific parasite dynamics and heart disease in the absence of locally persistent infection. *Cellular Microbiology*, v. 16, n. 9, p. 1285-1300, 2014.
- LEWIS, M.D, FORTES FRANCISCO, A., TAYLOR, M. C. et al. Bioluminescence imaging of chronic *Trypanosoma cruzi* infections reveals tissue-specific parasite dynamics and heart disease in the absence of locally persistent infection. *Cellular Microbiology*, v.16, p.1285–1300, 2014.
- LEWIS, M.D; KELLY, JM. Putting Infection Dynamics at the Heart of Chagas Disease. *Trends in parasitology*, v. 32, n.11, p. 899-911, 2016.
- LEWIS, M.D, FORTES FRANCISCO, A., TAYLOR, M. C. et al. Host and parasite genetics shape a link between *Trypanosoma cruzi* infection dynamics and chronic cardiomyopathy. *Cell Microbiol*, v. 18, n. 10, p. 1429-43, 2016.
- LIBISCH, M. G., FARAL-TELLO, P., GARG, N. J. et al. Early *Trypanosoma cruzi* Infection Triggers mTORC1-Mediated Respiration Increase and Mitochondrial Biogenesis in Human Primary Cardiomyocytes. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, 2018.

- MACHADO, F.S.; DUTRA, W.O.; ESPER, L. et al. Current Understanding of Immunity to *Trypanosoma cruzi* Infection and Pathogenesis of Chagas Disease. *Seminars in Immunopathology*, v. 34, n. 6, p. 753-770, 2012.
- MACHADO-SILVA, A., CERQUEIRA, P. G., GRAZIELLE-SILVA, V. et al. How *Trypanosoma cruzi* deals with oxidative stress: Antioxidant defence and DNA repair pathways. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, v. 767, p. 8-22, 2016.
- MARTIN, D. L., LOWE, K. R., MCNEILL, T. et al. Potential sexual transmission of *Trypanosoma cruzi* in mice. *Acta Tropica*, v.149, p. 15-18, 2015.
- MATOS FERREIRA, A. V., SEGATTO, M., MENEZES, Z. et al. Evidence for *Trypanosoma cruzi* in adipose tissue in human chronic Chagas disease. *Microbes and Infection*, v. 13, n. 12-13, p. 1002-1005, 2011.
- MESSENGER, L.A.; MILES, M.A.; BERN, C. et al. Between a bug and a hard place: *Trypanosoma cruzi* genetic diversity and the clinical outcomes of Chagas disease. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, v.13, p. 995–1029, 2015.
- MONTEIRO, C.J. et al. Mir-190b negatively contributes to the *Trypanosoma cruzi*-infected cell survival by repressing PTEN protein expression. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 2015, 110(8): 996-1002.
- MORILLO, C.A.; MARIN-NETO, J.A.; AVEZUM, A. et al. Randomized Trial of Benznidazole for Chronic Chagas' Cardiomyopathy. *The New England Journal of Medicine*, v. 1, 2015.
- MOTA, I.; UMEKITA, L. The effect of C3 depletion on the clearance of *Trypanosoma cruzi* induced by IgG antibodies. *Immunology Letters*, v. 21, n. 3, p. 223-225, 1989.
- MUKHERJEE, S.; MUKHOPADHYAY, A.; GRASIELLA et al. *Trypanosoma cruzi* invasion is associated with trophocytosis. *Microbes and Infection*, v. 17, n. 1, p. 62-70, 2015.
- NAGAJYOTHI, F; DESRUISSEAUX, M.S., MACHADO, F.S. et al. Response of adipose tissue to early infection with *Trypanosoma cruzi* (Brazil strain). *J Infect Dis.*, v.205, n.5, p.830-40, 2012.
- NAGAJYOTHI, F; et al. High Fat Diet Modulates *Trypanosoma cruzi* Infection Associated Myocarditis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8:e3118
- NEVES, D.P. *Parasitologia humana*. 11^a Ed., São Paulo: Atheneu, 2005.
- NOLAN, M.S., AGUILAR, D., BROWN, E.L. et al. Continuing evidence of Chagas disease along the Texas-Mexico border. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 12, n. 11, p. e0006899, 2018.

- NITZ, N., et al. 2004. Heritable integration of kDNA minicircle sequences from *Trypanosoma cruzi* into the avian genome: insights into human Chagas disease. *Cell* **118**:175–186.
- NUNES, Mdo C.; BARBOSA, M.M.; BRUM, V.A. et al. Morphofunctional characteristics of the right ventricle in Chagas' dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol* v. 94, p. 79–85, 2004.
- ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE (OPAS). Informação geral: Enfermedad de Chagas. 2016, Washington. Disponível em: <http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=5856&Itemid=41414&lang=es> Acesso em 25 de outubro de 2017
- PAVANELLI, W.R.; GUTIERREZ, F.R., MARIANO, F.S. et al. 5-lipoxygenase is a key determinant of acute myocardial inflammation and mortality during *Trypanosoma cruzi* infection. *Microbes Infect*, v.12, n. 8-9, p. 587-97, 2010.
- PEDRIQUE, B; STRUB-WOURGAFT; N; SOME, C et al. The drug and vaccine landscape for neglected diseases (2000–11): a systematic assessment. *Lancet Glob Health*, v. 1, p. e371–79, 2013.
- PEREIRA BARRETO, A.C., MADY, C; ARTEAGA-FERNANDEZ, E. et al. Right ventricular endomyocardial biopsy in chronic Chagas' disease. *Am Heart J*, v. 111, p. 307–312, 1986.
- PEREIRA, N. et al. Innate immune receptors over expression correlate with chronic chagasic cardiomyopathy and digestive damage in patients. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 12, n. 7, p. e0006589, 2018.
- PÉREZ, A., SILVA-BARBOSA, S., BERBERT, L. Immunoneuroendocrine alterations in patients with progressive forms of chronic Chagas disease. *Journal of Neuroimmunology*, v. 235, n. 1-2, p. 84-90, 2011.
- PEREZ, C.J; LYMBERY, A.J; THOMPSON, R.C. Chagas disease: the challenge of polyparasitism? *Trends Parasitol* 2014, 30:176-182.
- PINEDA, M.G.; et al. Interactions of human galectins with *Trypanosoma cruzi*: binding profile correlate with genetic clustering of lineages. *Glycobiology*. 2015. 25(2):197-210.
- putative inner arm dynein heavy chain results in flagellar immotility in *Trypanosoma brucei*.
- RASSI A, RASSI A, MARIN-NETO JA. Chagas disease. *Lancet*, v. 375, p. 1388–1402, 2010a.
- RASSI, A. JR; RASSI, A; MARCONDES DE REZENDE, J. American trypanosomiasis (Chagas disease). *Infect Dis Clin North Am*, v. 26, n. 2, p. 275-91, 2012.
- RASSI, A.J; RASSI, A.G, RASSI, SG, et al. Ventricular arrhythmia in Chagas disease. Diagnostic, prognostic, and therapeutic features. *Arq Bras Cardiol*, v. 65, p. 377-87, 1995.

RASSI, A; REZENDE, J.M; LUQUETTI, A.O; et al. Clinical phases and forms of Chagas disease. In: Telleria J, Tibayrenc M, editors. American trypanosomiasis (Chagas disease). One hundred years of research. 1st edition. Burlington (MA): Elsevier Inc; p. 709–41, 2010.

RIBEIRO, M. A. Transmissão sexual do *Trypanosoma cruzi* em camundongos chagásicos crônicos. 2013. 105 páginas. Dissertação de Mestrado em Ciências Médicas. Universidade de Brasília.

RIBEIRO, M., NITZ, N., SANTANA, C. et al. Sexual transmission of *Trypanosoma cruzi* in murine model. *Experimental Parasitology*, n. 162, p. 1-6, 2016.

RODRIGUEZ, H.; GUERRERO, N.A, FORTES, A. et al. *Trypanosoma cruzi* strains cause different myocarditis patterns in infected mice. *Acta Tropica*, v. 139, p. 57-66, 2014.

RODRÍGUEZ-MORALES, A.J.; VON, A.; FRANCO-PAREDES, C. Achievements and challenges in controlling Chagas disease. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.*, v. 68, n. 2, p. 111-119, 2011.

SHANER, N.C.; LAMBERT G.G.; CHAMMAS, A. et al. A bright monomeric green fluorescent protein derived from *Branchiostoma lanceolatum*. *Nat Methods*, n. 10, v. 5, p. 407-9, 2013.

SCHIJMAN, A. G., BISIO, M., ORELLANA, L. International Study to Evaluate PCR Methods for Detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in Blood Samples from Chagas Disease Patients. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 5, n. 1, p. e931, 2011.

SCHMUNIS, G.A. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 102, n. (Suppl 1), p. 75–85, 2007.

SHOEMAKER JP, HOFFMAN R.V Jr, HUFFMAN, D.G. *Trypanosoma cruzi*: preference for brown adipose tissue in mice by the Tulahuen strain. *Exp Parasitol.*, v. 27, n. 3, p. 403-7, 1970.

SILBERSTEIN, E.; SERNA, C., FRAGOSO, S. P.e t al. A novel nanoluciferase-based system to monitor *Trypanosoma cruzi* infection in mice by bioluminescence imaging. *PLOS ONE*, v. 13, n. 4, p. e0195879, 2018.

SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/doenca-de-chagas/situacao-epidemiologica>> Acesso em 7 out. 2018

TANOWITZ HB, Machado FS, Spray DC, Friedman JM, Weiss OS, et al. 2016. Developments in the management of Chagas cardiomyopathy. *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* 13:1393–409

TANOWITZ, H.B.; SCHERER, P.E., MOTA, M.M.; FIGUEIREDO, L.M. Adipose tissue - a safe haven for parasites? *Trends in parasitology*, v. 33, n. 4, p. 276-284, 2017.

TARLETON, R.L. Parasite persistence in the aetiology of Chagas disease. *Int J Parasitol.* 2001; 31(5-6):550-4.

TEIXEIRA, A. R. L; NITZ, N; GUIMARO, M. C. et al. Chagas disease. *Postgrad Med J*, v. 82, p. 788–798, 2006.

WEN, J.J.; VYATKINA, G.; GARG, N. Oxidative damage during chagasic cardiomyopathy development: role of mitochondrial oxidant release and inefficient antioxidant defense. *Free Radic Biol Med*, v. 37, n. 11, p. 1821-33, 2004.

WHO MEDIA CENTRE: Chagas disease (American trypanosomiasis) Fact sheet; 2018. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/> [Last accessed: 25th sep 2018].

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Chagas disease (American trypanosomiasis). Fact sheet N°340. 2015. Acesso em: 23 de agosto de 2017.

ZHANG, L.; TARLETON, R. Parasite Persistence Correlates with Disease Severity and Localization in Chronic Chagas' Disease. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 180, n. 2, p. 480-486, 1999.