



Universidade de Brasília – UnB

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

Laboratório Interdisciplinar de Biociências – LabIBC

Vitória França dos Santos Pessoa

**EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA E DO TREINAMENTO FÍSICO NA
FASE AGUDA E CRÔNICA NA DOENÇA DE CHAGAS EXPERIMENTAL**

Brasília-DF,

2024

Vitória França dos Santos Pessoa

**EFEITOS DA DIETA HIPERLIPÍDICA E DO TREINAMENTO FÍSICO NA
FASE AGUDA E CRÔNICA NA DOENÇA DE CHAGAS EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada como requisito à
obtenção do grau Mestre em Biologia das
doenças infecciosas e parasitárias,
Programa de Pós-graduação em Medicina
Tropical, Universidade de Brasília- UnB

Orientadora: Prof^a. Dr^a Luciana Hagström

Brasília-DF,

2024

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

FP475e França dos Santos Pessoa, Vitória
Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento físico na
fase aguda e crônica na doença de chagas experimental /
Vitória França dos Santos Pessoa; orientador Luciana
Hagström. -- Brasília, 2024.
156 p.

Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) --
Universidade de Brasília, 2024.

1. Doença de Chagas. 2. Infecção experimental. 3.
Exercício Físico. 4. Dieta. 5. Prognóstico. I. Hagström,
Luciana, orient. II. Título.

Brasília - DF, 15 de fevereiro de 2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Luciana Hagström (Orientadora/Presidente)

Universidade de Brasília- UnB

Prof^a. Dr^a. Ana Maria de Castro (Membro Externo)

Universidade de Federal de Goiás - UFG

Prof^a. Dr^a. Guilherme Eckhardt Molina (Membro)

Universidade de Brasília- UnB

Prof^a. Dr^a. Karine Brenda Barros Cordeiro (Suplente)

Universidade de Brasília- UnB

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais,
Virgínia e Eustáquio Júnior, aos meus
avós, Maria Inês e Eustáquio, pelo apoio
irrestrito ao longo de toda a minha vida.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Luciana Hagström, uma das pessoas mais fantásticas que conheci na área acadêmica. Agradeço por me acolher, mesmo sem me conhecer, desde o primeiro momento. Obrigada por todo o suporte, disponibilidade e paciência, por caminhar ao meu lado e compartilhar comigo essa bagagem de conhecimento e experiência que possui. Sempre serei grata e honrada por ter tido a sorte de ser orientada por uma pessoa tão incrível como você. Você me inspira diariamente, obrigada por tudo.

Às professoras Nadjar Nitz, Mariana Hecht e Juliana Lott, que sempre estavam disponíveis para me auxiliar em qualquer situação, além das conversas e conselhos durante toda a minha trajetória no mestrado.

Ao Bruno Dallago, por disponibilizar seu tempo para realizar minhas análises estatísticas e não poupar esforços para sanar qualquer dúvida que possa ter ficado. Ainda, agradeço ao Thiago Costa e Leonardo Levenhagem que nos auxiliaram muito nessa reta final com as análises estatísticas que faltaram, vocês trouxeram outras visões para a pesquisa.

Ao professor Márcio Botelho, Davi Emanuel Ribeiro de Sousa e toda a sua equipe do Hospital Veterinário da Universidade de Brasília, pelas análises histológicas, especialmente ao Davi por tirar um tempo para nos dar uma aula de análise histopatológica, que foi fundamental para concluir esse trabalho.

À professora Tatiana Borges pela disponibilidade em me ensinar e aplicar a técnica de citometria de fluxo para que obtivéssemos as dosagens de citocinas.

À equipe do biotério da Faculdade de Medicina, especialmente ao Rafael Rocha Andrade pela disponibilidade e pelo auxílio nos momentos de necessidade e ao Dérison que cuidou com zelo dos animais durante toda a parte experimental, vocês foram essenciais.

Agradeço imensamente aos professores Ana Maria de Castro, Guilherme Molina e Karine Cordeiro, que gentilmente aceitaram compor a banca examinadora, proporcionando-me a valiosa oportunidade de usufruir de suas experiências e conhecimentos.

À Maria Clara Ribeiro por ter dado o pontapé inicial a esse trabalho e por me ensinar com paciência desde o primeiro dia que eu cheguei.

À Aline Silva Moraes por ter me ensinado, com paciência e disposição, a arte da cultura celular. Obrigada por sempre me ajudar nos dias de infecções e nos momentos de desespero dentro da sala de cultura. Agradeço também pelas conversas sinceras e reflexões que me guiaram nesses quase 2 anos.

À Maria Victória Souto e Stefhani Barcelos, por serem essenciais nessa árdua caminhada que é a pós-graduação. Agradeço pela paciência em ouvir minhas dores e lamentos, pelos valiosos conselhos e orientações. Obrigada pelas contribuições nos experimentos, pelas risadas sinceras, pelos capuccinos na copa e pelas saídas que tornaram tudo mais leve. Agradeço por acreditarem em mim quando eu mesma não acreditava e por sempre me elevarem como pessoa e pesquisadora. Sei que estava destinado que nossos caminhos se cruzassem, e sou profundamente grata por isso ter acontecido no momento mais oportuno. Obrigada para sempre, minhas irmãs de alma.

À Emãnuella Melgaço, Tayane Nobre, Isabela Teotônio e Danielle Marques, por me auxiliarem de diversas formas, seja em experimentos ou em conversas que organizaram o que estava desorganizado mentalmente.

À Ludmilla Melanie, Ilana Mazzoleni e Marina Dias, pela disponibilidade e pelos momentos compartilhados. Vocês fizeram diferença nos meus dias, e serei sempre grata por isso.

À minha IC, Raissa Marques, que foi essencial na reta final das extrações.

À Jéssica Luana, minha amiga de turma, pelas trocas de experiência, pelo apoio e pelas horas de conversas. Ao meu amigo, Fabrício Leal, pelo

carinho, motivação e compreensão. A jornada acadêmica é mais leve ao lado de vocês.

Aos meus pais, Eustáquio Júnior e Virgínia, e aos meus avós, Eustáquio e Maria Inês, minha enorme gratidão. Vocês são a razão e o motivo de todas as minhas conquistas.

Aos meus irmãos, Verônica França e Eustáquio Vinícius, pelo apoio e incentivo diários.

Ao meu noivo, Gabriel Vinícius, que é um dos meus maiores incentivadores, obrigada pela paciência e compreensão. Obrigada pelo cuidado e por não poupar esforços em me ajudar a realizar meus sonhos; você é parte dessa conquista.

À minha avó, Marilena de Paiva, tios, tias e primos que me incentivam e apoiam a todo momento. Às minhas amigas por acreditarem e comemorarem as minhas conquistas há pelo menos 10 anos.

A Deus e Nossa Senhora pelas bênçãos e os presentes de poder aprender e estudar com pessoas tão incríveis como as do LabIBC, pela vida e por me sustentar e acalantar nos momentos de ansiedade.

À mim por não ter desistido, mesmo quando achei que não era capaz, obrigada pela resiliência e persistência diárias.

Enfim, a todos que fizeram e ainda vão fazer parte dessa jornada acadêmica, meu muito obrigada!

“É justo que muito custe o que muito vale”

(Santa Teresa D’Ávila)

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Expansão mundial da doença de chagas.
- Figura 2.** Representação esquemática das formas evolutivas do protozoário *Trypanosoma cruzi*
- Figura 3.** Ciclo de vida do protozoário *Trypanosoma cruzi*.
- Figura 4.** Manifestações clínicas da doença de Chagas de acordo com a fase da infecção.
- Figura 5.** Mecanismos da patogênese da doença de Chagas.
- Figura 6.** Efeitos do exercício físico regular.
- Figura 7.** Comparação entre tecido adiposo humano e de roedores.
- Figura 8.** Efeitos endócrinos de fatores secretados por adipócitos.
- Figura 9.** Presença de protozoários no tecido adiposo.
- Figura 10.** Desenho experimental.
- Figura 11.** Esteira ergométrica utilizada nos experimentos.
- Figura 12.** Teste de preensão de membros anteriores e posteriores.
- Figura 13.** Protocolo de treinamento físico e teste de preensão de membros.
- Figura 14.** Parasitemia dos grupos infectados por *Trypanosoma cruzi*.
- Figura 15.** Carga parasitária dos grupos infectados por *Trypanosoma cruzi*.
- Figura 16.** Efeito da dieta na carga parasitária do tecido adiposo branco (A) e do tecido adiposo marrom (B) obtidos 90 dias após a infecção.
- Figura 17.** Dosagem de citocinas perfil Th1
- Figura 18.** Dosagem de citocinas perfil Th2 e Th17.
- Figura 19.** Cortes histológicos do tecido cardíaco com imagens representativas dos diferentes grupos experimentais.

Figura 20. Cortes histológicos do tecido adiposo branco com imagens representativas dos diferentes grupos experimentais.

Figura 21. Cortes histológicos do tecido adiposo marrom com imagens representativas dos diferentes grupos experimentais.

Figura 22. Cortes histológicos do intestino grosso com imagens representativas dos diferentes grupos experimentais.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros relativos à composição corporal dos grupos experimentais coletados durante o estudo.

Tabela 2. Velocidades máxima de corrida obtidas nos testes incrementais para determinação da capacidade aeróbica máxima em camundongos treinados e não treinados.

Tabela 3. Dados relativos à força de membros anteriores e posteriores dos camundongos obtidos através do teste de preensão realizados em três tempos distintos.

Tabela 4. Resumo da avaliação histopatológica dos tecidos coletados após 90 dias de infecção por *Trypanosoma cruzi* e em períodos equivalentes para os grupos não infectados.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACE - Enzima conversora de angiotensina

ACSM - Colégio Americano de Medicina Esportiva, do inglês *American College of Sports Medicine*

AVE - Acidente vascular encefálico

ATP - Adenosina trifosfato

BEN - Benznidazol

CAM - Capacidade aeróbica máxima

CBA - *Cytometry Bead Array*

CCC - Cardiomiopatia chagásica crônica

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

Cq - Ciclo de quantificação, do inglês *Quantification cycle*

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

COVID-19 - Doença do coronavírus-19

DC - Doença de Chagas

DHL - Dieta hiperlipídica

DCT - Doença de Chagas transfusional

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

DP – Dieta padrão

DPP4 - Dipeptidil peptidase 4

DPI - Dias pós infecção

DTUs - Unidades de tipagem discreta, do inglês *discrete typing units*

DTT - Ditioneitol

EDTA - Ácido etilendiamino tetra-acético

EF - Exercício físico

ELISA - *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (Ensaio imunoenzimático)

EUA - Estados Unidos da América

FM - Faculdade de medicina

FR - Frequência respiratória

HE - Hematoxilina e eosina

HCL - Ácido Clorídrico

HIV - Vírus da imunodeficiência humana

I - Infectado

IFI - Imunofluorescência indireta

IFP - Infiltrado inflamatório mononuclear perivascular multifocal

IL-1 α - Interleucina 1 alfa

IL-2 - Interleucina 2

IL-4 - Interleucina 4

IL-6 - Interleucina 6

IL-10 - Interleucina 10

IL-12 - Interleucina 12

IL-17 - Interleucina 17

INF- γ - interferon-gama

iRBCs - Células vermelhas do sangue infectadas pelo *P. falciparum*

kDNA - *Kinetoplast DNA* (DNA do cinetoplasto)

Log - Logaritmo

MCP-1 - Proteína quimiotática de monócitos-1, do inglês *monocyte chemoattractant protein-1*

Myf5 - Fator miogênico 5

NaCl - Cloreto de Sódio

NF – Nifurtimox

nDNA - DNA nuclear

NI - Não infectado

NK - *Natural Killer*

NT - Não treinado

OPAS - Organização Pan-Americana de Saúde

PBS - Tampão fosfato-salino, do inglês *Phosphate-buffered saline*

PPAR γ - Proliferadores de peroxissoma do tipo gama

PCR - *Polymerase Chain Reaction* (Reação de Polimerização em cadeia)

qPCR - Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa/tempo real

ROS - Espécies reativas de oxigênio

SFB - Soro fetal bovino

SDS - Docecil Sulfato de Sódio

T - Treinado

TAB - Tecido adiposo Branco

TABe – Tecido adiposo bege

TAM - Tecido adiposo Marrom

T. cruzi - *Trypanosoma cruzi*

TAG - triacilglicerol

TGF- β - fator de transformação do crescimento-beta

TNF- α - necrose tumoral-alfa

UCP-1 - Proteínas desacopladoras 1, do inglês *uncoupling protein 1*

UnB - Universidade de Brasília

UV - Luz ultravioleta

VO₂ - Consumo de oxigênio

WHO - World Health Organization

ÓRGÃOS FINANCIADORES

Este trabalho foi realizado no Laboratório Interdisciplinar de Biociências localizado na Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília.

Financiamento: FAPDF / CAPES

ÍNDICE

I.	INTRODUÇÃO	22
1.	Doença de Chagas	22
2.	Exercício Físico e doença de Chagas	42
3.	Tecido adiposo	46
4.	Patógenos no tecido adiposo	54
5.	Efeitos da dieta hiperlipídica na doença de Chagas	60
II.	JUSTIFICATIVA.....	64
III.	OBJETIVOS.....	65
1.	Objetivo Geral.....	65
2.	Objetivos Específicos.....	65
IV.	MÉTODOS.....	66
1.	Grupo experimentais.....	66
2.	Infecção por <i>Trypanosoma cruzi</i>	68
3.	Protocolo de treinamento físico e teste de capacidade aeróbica máxima.....	69
4.	Teste de preensão de membros	71
5.	Acompanhamento da ingestão de alimento e do peso corporal	73
6.	Acompanhamento glicêmico	73
7.	Colheita de sangue	74
8.	Eutanásia e coleta de tecidos	74
9.	Extração de ácidos nucleicos.....	75
10.	PCR em tempo real	76
11.	Dosagem de citocinas	78

12.	Histopatologia	79
13.	Análises estatísticas	79
V.	RESULTADOS	81
1.	Consumo alimentar, peso e composição corporal.....	81
2.	Glicemia sanguínea	84
3.	Capacidade aeróbica máxima.....	84
4.	Teste de força.....	86
5.	Carga parasitária	90
6.	Citocinas	94
7.	Análise histopatológica	95
VI.	DISCUSSÃO	104
VII.	CONCLUSÃO	117
VIII.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	119

RESUMO

A doença de Chagas (DC), causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, constitui um sério desafio à saúde pública, com expressiva morbidade e mortalidade, principalmente na América Latina. A patogênese não é bem compreendida e a resposta imunológica, assim como os aspectos clínicos da doença, podem ser influenciados por hábitos do hospedeiro, como a dieta alimentar e atividades físicas realizadas. De fato, o exercício físico (EF) pode ser uma alternativa não farmacológica promissora para melhorar o bem-estar do hospedeiro e, eventualmente, o prognóstico da DC. Este estudo visa avaliar as repercussões à longo prazo da dieta hiperlipídica (DHL) e a capacidade de treinamento físico aeróbico moderado na fase aguda da infecção por *T. cruzi* em camundongos BALB/c fêmeas. Além disso, objetivava-se verificar as consequências a longo prazo desse treinamento realizado na fase inicial da infecção. Os animais foram alimentados com dieta padrão (DP) ou DHL por 4 semanas, infectados ou não por *T. cruzi*, e treinados ou não em esteira rolante por 6 semanas. Testes de capacidade aeróbica máxima (CAM) e de força foram realizados antes, no meio e no final do período de treinamento. O padrão dietético foi mantido ao longo do experimento. Após 90 dias de infecção (dpi), os animais foram eutanasiados. Foi realizada dosagem sérica de citocinas, quantificação da carga parasitária por qPCR e análise histopatológica de diferentes tecidos. Camundongos infectados foram capazes de realizar treinamento aeróbico diário a 60% da CAM. Na ausência de treinamento, a força muscular sofreu redução com a infecção. A DHL se mostrou danosa para a força muscular, mesmo em camundongos não infectados. Da mesma forma, essa dieta provocou mais inflamação no tecido adiposo branco (TAB), marrom (TAM) e intestino, principalmente na presença de *T. cruzi*. A DHL também aumentou a carga parasitária nos TAB e TAM. O treinamento físico realizado na fase aguda da infecção não influenciou a carga parasitária na fase crônica e não provocou alterações teciduais, com exceção do TAM que apresentou maior grau de inflamação nos camundongos treinados. Dada a variação na adesão ao exercício, os resultados do treinamento físico pós-infecção requerem investigação mais aprofundada.

Palavras-chave: doença de Chagas, dieta, infecção experimental, exercício físico, prognóstico

ABSTRACT

Chagas disease (CD), caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, is a serious challenge to public health, with significant morbidity and mortality, especially in Latin America. The pathogenesis is not well understood, and the immune response, as well as the clinical aspects of the disease, may be influenced by host habits such as dietary intake and physical activities. In fact, physical exercise (PE) may be a promising non-pharmacological alternative to improve host well-being and eventually for a better outcome of CD. This study aims to evaluate the long-term repercussions of a high-fat diet (HFD) and the capacity of moderate aerobic physical training in the acute phase of *T. cruzi* infection in female BALB/c mice. Furthermore, to verify the long-term consequences of this training conducted in the initial phase of infection. The animals were fed either a standard diet (SD) or HFD for 4 weeks, infected or not with *T. cruzi*, and trained or not on a treadmill for 6 weeks. Tests of maximal aerobic capacity (MAC) and strength were performed before, midway, and at the end of the training period. The dietary pattern was maintained throughout the experiment. After 90 days post-infection (dpi), the animals were euthanized. Serum cytokine levels were measured, parasite load quantified by qPCR, and histopathological analysis of different tissues was conducted. Infected mice were able to perform daily aerobic training at 60% of MAC. In the absence of training, muscle strength decreased with infection. HFD proved detrimental to muscle strength, even in uninfected mice. Likewise, this diet caused more inflammation in white adipose tissue (WAT), brown adipose tissue (BAT), and large intestine, especially in the presence of *T. cruzi*. HFD also increased parasite load in WAT and BAT. Physical training conducted in the acute phase of infection did not influence parasite load in the chronic phase and did not cause tissue alterations, except for BAT, which showed a higher degree of inflammation in trained mice. Given the variation in exercise adherence, the results of post-infection physical training require further investigation.

Keywords: Chagas disease, diet, experimental infection, physical exercise, prognosis

I. INTRODUÇÃO

1. Doença de Chagas

1.1 Considerações gerais da doença de Chagas

A doença de Chagas (DC) ou Tripanossomíase Americana foi descoberta pelo médico e pesquisador brasileiro Carlos Justiniano Ribeiro Chagas, na pequena cidade de Lassance, no interior de Minas Gerais em 1909. A infecção é causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* e possui como vetor o inseto hematófago triatomíneo popularmente conhecido como “barbeiro” (Chagas, 1909). Apesar de mais de 114 anos da sua descoberta, ainda é considerada a principal enfermidade endêmica de natureza parasitária nos países da América do Sul e Central, apresentando alta morbidade e mortalidade. Estima-se que existam de 6 a 7 milhões de pessoas infectadas por *T. cruzi* em todo o mundo (Who, 2023). Devido a migração de pessoas infectadas, a DC tem sido encontrada em áreas não endêmicas, se tornando um problema de saúde pública global (Figura 1). Novos casos são notificados principalmente nos Estados Unidos da América (EUA), na Europa e na região do Pacífico Ocidental (Antinori *et al.*, 2017; Lidani *et al.*, 2019).



Figura 1. Expansão mundial da doença de chagas. Distribuição de casos estimados da doença de Chagas no mundo. Adaptado de Martinez *et al.* (2019).

Com relação ao Brasil, as ações regulares e sistemáticas de controle vetorial, além da intensa vigilância na triagem de doadores de sangue e outros tecidos, reduziu substancialmente o número de indivíduos infectados (Martins-Melo *et al.*, 2016). Estima-se que de 1,9 a 4,6 milhões de pessoas no Brasil tenham DC. No entanto, acredita-se que este número esteja subestimado e que na realidade haja 2,3 a 5,2 milhões de pessoas infectadas por *T. cruzi* no país, correspondendo a 1,0 a 2,4% da população brasileira (Brasil, 2022). Essa elevada prevalência da DC no país é refletida na elevada taxa de mortalidade. Nos últimos 10 anos, foram registrados em média 4.000 óbitos por ano no Brasil, o que representa uma das quatro principais causas de morte por doenças infecciosas e parasitárias (Hotez; Fujiwara, 2014; Brasil, 2022).

Apesar dos avanços, a DC continua causando impactos médicos e sociais causando a perda de cerca de 752.000 dias de trabalho devido a mortes prematuras e US\$ 1,2 bilhão em produtividade na América Latina. A carga global estimada da doença é de US\$ 627,46 milhões em custos de assistência médica (Conteh; Engels; Molyneux, 2010). Ademais, menos de 10% dos casos mundiais são diagnosticados e na data de hoje ainda não foram desenvolvidas vacinas ou remédios realmente eficientes contra a DC

crônica, reiterando seu aspecto de doença tropical negligenciada (OPAS, 2023).

1.2 *Trypanosoma cruzi*

Trypanosoma cruzi é um protozoário digenético e polifilético com circulação no planeta datando de milhões de anos. Possui uma ampla distribuição na natureza, com circulação ocorrendo principalmente entre insetos vetores e mamíferos silvestres (Dias, 2006). Pertencente à Ordem Kinetoplastida e à Família Trypanosomatidae, *T. cruzi* possui um único flagelo e um cinetoplasto, uma mitocôndria diferenciada, que abriga DNA circular (kDNA) (Brener, 1997; Dias, 2006).

O parasito possui um ciclo de vida complexo, que abrange tanto hospedeiros invertebrados quanto vertebrados (Zingales *et al.*, 2012). Com relação a morfologia, ele apresenta três estágios principais de desenvolvimento (Figura 2): amastigotas, que são as formas encontradas dentro das células do hospedeiro vertebrado; epimastigotas, que são as formas presentes no intestino do hospedeiro invertebrado; e tripomastigotas, que são altamente infecciosos e se originam dos amastigotas no final do ciclo intracelular após serem liberados no citoplasma e na corrente sanguínea. Os tripomastigotas também surgem dos epimastigotas nas regiões posteriores do trato digestivo do hospedeiro invertebrado (Teixeira *et al.*, 2012).

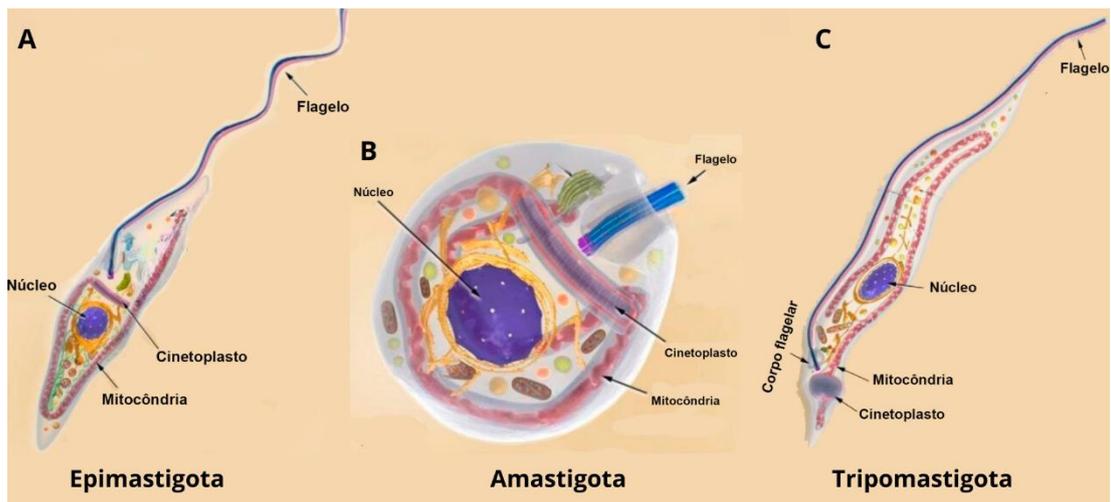


Figura 2 Representação esquemática das formas evolutivas do protozoário *Trypanosoma cruzi*. (a) Epimastigota: forma multiplicativa no inseto. (b) Amastigota: forma de divisão celular no hospedeiro vertebrado. (c) Tripomastigota: forma infectiva. Adaptado de Teixeira *et al.* (2012).

T. cruzi é um parasito que apresenta uma grande diversidade biológica e genética. Essa diversidade pode ser detectada por meio de marcadores biológicos, bioquímicos, imunológicos e genéticos. Devido a essa heterogeneidade, várias classificações foram propostas, incluindo biodemas (I, II e III), zimodemas (Z1, Z2 e Z3), esquizodemas, ribodemas, clones, linhagens, grupos e unidades discretas de tipagem (DTUs, do inglês *discrete typing units*) (Zingales, 2018).

Atualmente, a classificação das cepas de *T. cruzi* em DTUs é a que melhor atende à necessidade de agrupar populações do parasito que são geneticamente semelhantes. Essa classificação divide as cepas em 7 DTUs (TcI a TcVI e Tcbat) (Zingales *et al.*, 2012; Zingales *et al.*, 2009). Esses grupos demonstram comportamentos distintos em relação à parasitemia, interação com as células hospedeiras, resposta imunológica do hospedeiro, resposta à terapia medicamentosa, entre outros (Dias, 2006; Zingales, 2018).

O tropismo tecidual difere entre os vários DTUs. A cepa colombiana (classificada como TcI e utilizada no presente estudo) é miotrópica. Ela se destaca por induzir um parasitismo mais intenso no músculo estriado esquelético (Camandaroba *et al.*, 2006; Zingales *et al.*, 2009) e provocar um

acentuado impacto no coração do hospedeiro (Zingales *et al.*, 2009). Essa característica pode explicar a maior sobrevivência dos animais infectados por esta cepa, uma vez que desenvolvem miocardite no estágio crônico da infecção, levando à morte em uma fase mais avançada. Ademais, a cepa colombiana demonstra uma notável resistência aos medicamentos tripanocidas: nifurtimox (NF) e benznidazol (BNZ), os mais usados para tratamento da DC na fase aguda (Camandaroba, 2005).

1.3 Ciclo Biológico do *Trypanosoma cruzi*

O ciclo de vida de *T. cruzi* é heteróxico, isto é, se alterna entre dois hospedeiros: invertebrado e vertebrado. O ciclo tem seu início quando o vetor triatomíneo durante o repasto sanguíneo ingere tripomastigotas de um hospedeiro mamífero infectado. Esses tripomastigotas se diferenciam em epimastigotas, que se reproduzem por fissão binária no intestino do vetor. Após cerca de 3 a 4 semanas, as formas epimastigotas se transformam em tripomastigotas metacíclicas na parte final do intestino do vetor (metaciclogênese). Estas formas são altamente infectantes para hospedeiros vertebrados (Rassi *et al.*, 2010; Nagajyothi; Machado, *et al.*, 2012).

A transmissão da infecção ocorre após o repasto sanguíneo do vetor quando suas fezes e/ou urina contaminadas com tripomastigotas metacíclicas entram em contato com as mucosas do nariz, cavidade oral, conjuntiva ou escoriações do hospedeiro vertebrado. Uma vez dentro do organismo do hospedeiro vertebrado, os tripomastigotas circulantes invadem células endoteliais e do tecido conjuntivo e se diferenciam em amastigotas dando início a um processo de intensa multiplicação por divisão binária. À medida que a célula é preenchida por amastigotas, estas formas se diferenciam em tripomastigotas que lisam as células e alcançam a corrente sanguínea, onde migram para outros tecidos podendo infectá-los (Teixeira *et al.*, 2006). O ciclo

se reinicia quando o vetor ingere as formas sanguíneas do parasito durante a hematofagia (Bern, 2015) (Figura 3).

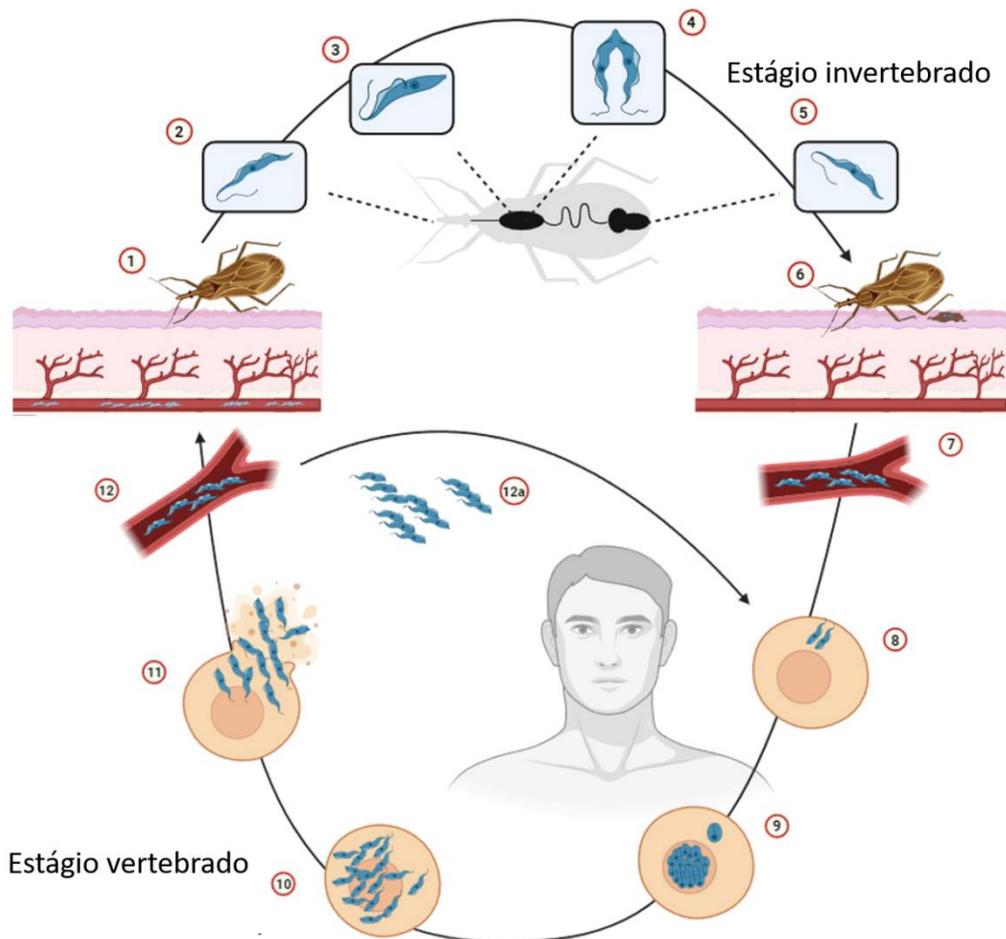


Figura 3. Ciclo de vida do protozoário *Trypanosoma cruzi*. (1) Durante o repasto sanguíneo em um hospedeiro mamífero infectado, o vetor triatomíneo (fêmea ou macho) ingere formas tripomastigotas metacíclicas presentes no sangue. (2) Tripomastigotas metacíclicos. (3) Os tripomastigotas ingeridos se diferenciam em epimastigotas no intestino médio do vetor. (4) Os parasitas se multiplicam e se diferenciam em tripomastigotas metacíclicos no intestino médio. (5) Tripomastigotas metacíclicos infecciosos no intestino posterior. (6) O vetor infectado realiza o repasto sanguíneo e libera tripomastigotas metacíclicas em suas fezes e/ou urina, perto do local da picada. Os tripomastigotas entram no hospedeiro através dessa lesão ou através de membranas de mucosas intactas, como a conjuntiva. (7) Os tripomastigotas metacíclicos adentram a corrente sanguínea. (8) Tripomastigotas infectam células nucleadas. (9) Dentro da célula, os tripomastigotas se diferenciam em amastigotas e se multiplicam por fissão binária. (10) Amastigotas se diferenciam em tripomastigotas. (11) Os tripomastigotas lisam a célula. (12) Os tripomastigotas invadem a corrente sanguínea e podem infectar novas células. Em caso de repasto sanguíneo pelo inseto vetor, o ciclo é reiniciado. (12a) Os tripomastigotas no hospedeiro vertebrado infectam células de uma variedade de tecidos e se transformam em amastigotas intracelulares em novos locais de infecção. Adaptado de Pérez-Molina; Molina (2018); Teixeira *et al.* (2012).

1.4 Vias de Transmissão

A principal forma de transmissão da DC ocorre através da picada de insetos triatomíneos (Abad-Franch; Monteiro, 2005). Os barbeiros, como são popularmente conhecidos, pertencem a família Hemíptera e possuem cerca de 152 espécies identificadas como vetores potenciais do parasito com três gêneros em destaque: *Panstrongylus*, *Triatoma* e *Rhodnius* (Vieira *et al.*, 2018). Além disso, já foram descritas mais de 100 espécies de mamíferos que servem de reservatório de *T. cruzi* (Roque; Jansen, 2014). Além da transmissão primária (vetorial), existem as chamadas secundárias, isto é, outras vias fora do ciclo biológico natural do parasito, são elas: via oral, transmissão congênita, transplante de órgãos e sangue e exposição ocupacional (Carlos; Dias; Neto, 2011; Dias; Amato Neto; Luna, 2011).

A transmissão por via oral acontece através de alimentos contaminados com o parasito. Ela tem apresentado um crescimento epidemiológico importante nos últimos anos no Brasil, sendo responsável por 70% dos novos casos (Costa *et al.*, 2017; Magalhães-Santos, 2014). Os primeiros casos de transmissão oral foram registrados na década de 60 no Rio Grande do Sul através da ingestão de caldo de cana de açúcar contaminado, seguidos de surtos em regiões do nordeste e, principalmente, da região amazônica (Trotta *et al.*, 2014; Bruneto *et al.*, 2021).

A transmissão congênita ou vertical ocorre quando a mãe transmite via cordão umbilical parasitos vivos que persistem após o nascimento da criança (Carlier; Truyens, 2010; Cevallos; Hernández, 2014). A frequência de transmissão congênita varia de acordo com a região avaliada. No continente americano, por exemplo, a taxa é de 2%, mas em países como Argentina, Bolívia e México, ela varia entre 5% e 7%. No Brasil, ela fica em torno de 1,7% (Santana *et al.*, 2020; Nobre *et al.*, 2021).

A transmissão da DC por transplante de órgãos pode ocorrer através da doação de um órgão por um doador infectado. Essa forma já foi documentada em transplantes de coração, fígado, medula óssea, pâncreas e rim. Os primeiros relatos datam do início da década de 1980 (Altclas *et al.*, 2005; Dias *et al.*, 2011). No entanto, a partir de 2009, a regulamentação de transplantes no Brasil restringiu a possibilidade de pacientes com DC serem aceitos como doadores de órgãos. Isso se deve à implementação da triagem sorológica sistemática, a qual limita esse tipo de doação em indivíduos infectados (Dias *et al.*, 2016). Devido a criação do sistema nacional de sangue e hemoderivados no Brasil, foi estabelecida a obrigatoriedade da realização de testes sorológicos para DC para os candidatos a doação de sangue. Sendo assim, os casos de DC transfusional (DCT) são mínimos (Dias, 2006). Apesar do ótimo cenário brasileiro, a DCT acontece em países não-endêmicos onde não há programas de vigilância sorológica, contribuindo para a disseminação da doença (Antinori *et al.*, 2017).

Com menos frequência, também são reportados casos por acidentes em laboratórios ou exposição ocupacional, como profissionais que fazem manejo de animais infectados ou trabalham diretamente com o vetor (Dias *et al.*, 2011).

Além disso, alguns estudos sugerem a possibilidade de transmissão sexual (Araújo *et al.*, 2017; Gomes *et al.*, 2019). Esse mecanismo de transmissão já foi mostrado em modelo murino, tanto em fase aguda quanto em fase crônica (Ribeiro *et al.*, 2016).

1.5 Manifestações Clínicas

A DC se apresenta em duas fases: aguda e crônica. O período de incubação no homem após a infecção é de 1 a 8 semanas (Figura 4). Nessa fase inicial, a principal característica é a alta parasitemia, que pode ser detectada microscopicamente. A maioria das infecções agudas passa

despercebida, não sendo diagnosticada. Os sintomas geralmente são leves e inespecíficos e incluem febre, mal-estar, hepatoesplenomegalia e linfocitose atípica. Eventualmente pode surgir nódulo na pele (chagoma) ou edema prolongado e indolor na pálpebra (sinal de Romaña) que podem indicar o local de inoculação do parasita (Rassi *et al.*, 2010; Pérez-Molina; Molina, 2018). No entanto, de 1 a 5% dos casos, a doença aguda assume uma forma grave, apresentando manifestações como miocardite aguda, derrame pericárdico e meningoencefalite, com risco de óbito que pode variar de 0,2% a 0,5% dos casos (Pinto *et al.*, 2008). Os surtos de infecção oral por *T. cruzi* parecem estar associados a uma maior incidência de miocardite e taxas de letalidade mais elevadas do que as infecções transmitidas por vetores (Shikanai-Yasuda; Carvalho, 2012; Bern, 2015).

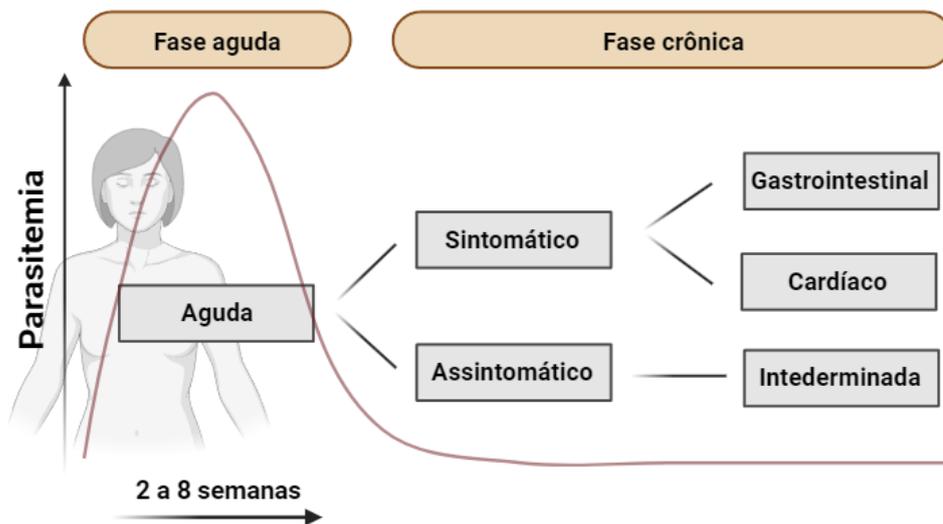


Figura 4. Manifestações clínicas da doença de Chagas de acordo com a fase da infecção. Fonte: Autoria própria (2023).

A fase aguda geralmente se resolve espontaneamente, após a qual os pacientes evoluem para a fase crônica com baixa significativa da parasitemia (Figura 4). Aproximadamente 70% dos indivíduos infectados não desenvolvem sintomas, condição conhecida como a forma crônica indeterminada da DC, que tem um bom prognóstico e é caracterizada pela

soropositividade para *T. cruzi*, além da ausência de sinais clínicos e sintomas de envolvimento cardíaco e digestivo, com radiografia de tórax e eletrocardiografia normais (Dias, 1989; Pérez-Molina; Molina, 2018). No entanto, devido à maior sensibilidade dos métodos diagnósticos atuais, como ecocardiografia, ressonância magnética e manometria esofágica, um certo número de pacientes com a forma crônica indeterminada está sendo diagnosticado com anormalidades cardíacas ou digestivas sutis. Porém, ainda não está claro se essas alterações estão associadas a um pior prognóstico (Viotti *et al.*, 2004; Pérez-Ayala *et al.*, 2011).

Aproximadamente 30 a 40% dos pacientes cronicamente infectados podem desenvolver sintomas no coração e/ou intestino 10 a 30 anos após a infecção inicial (Pérez-Molina; Molina, 2018). Os sintomas cardíacos na fase crônica são responsáveis pela alta morbidade e mortalidade, e são a principal causa de cardiomiopatia não-isquêmica na América Latina. Ocorre em 45% dos pacientes cronicamente infectados, e afeta principalmente o sistema de condução e o miocárdio. Os primeiros sinais são geralmente problemas no sistema de condução, especialmente bloqueio de ramo direito ou bloqueio fascicular anterior esquerdo. Outro sinal precoce são as contrações ventriculares prematuras multiformes, mas elas podem passar despercebidas sem monitoramento eletrocardiográfico ambulatorial. A cardiomiopatia chagásica crônica (CCC) é altamente arritmogênica. Os pacientes afetados eventualmente progridem para cardiomiopatia dilatada e insuficiência cardíaca congestiva, além disso, podem ter derrames ou outros eventos tromboembólicos como resultado da formação de trombos no ventrículo esquerdo dilatado ou aneurisma. (Rassi *et al.*, 2001, 2010, 2012; Bern, 2015; Pérez-Molina; Molina, 2018). Em análises histológicas, observa-se miocardite linfocitária disseminada, presença de poucos ninhos de amastigotas, fibrose intersticial generalizada e atrofia dos miócitos (Rossi, 1991).

A ocorrência de complicações gastrointestinais é menos frequente (21% dos casos crônicos sintomáticos), afetando, predominantemente, o esôfago, o cólon ou ambos e resulta em danos aos neurônios intramurais

(Matsuda *et al.*, 2009). As manifestações da doença esofágica variam de distúrbios de motilidade assintomáticos e acalasia leve a megaesôfago grave, com sintomas que incluem disfagia, odinofagia, refluxo esofágico, perda de peso, aspiração, tosse e regurgitação. O megacólon é caracterizado por constipação persistente e pode levar a fecaloma, vólvulo e isquemia intestinal. O acometimento cardíaco e gastrointestinal pode se apresentar juntos, mas são raros (Matsuda *et al.*, 2009; Pinazo *et al.*, 2010; Pérez-Molina; Molina, 2018).

De interesse, a DC também é uma das principais causas de acidente vascular encefálico (AVE) cardioembólico, sendo até duas vezes mais comum na CCC do que em outras formas de cardiomiopatia (Cardoso *et al.*, 2014). A incidência de AVE isquêmico foi estimada em 2,7 eventos por 100 pacientes por ano, e cerca de um terço dos pacientes que sofrem AVE isquêmico podem ter infecção assintomática por *T. cruzi* (Nunes *et al.*, 2009; Carod-Artal, 2013).

1.6 Patogênese da doença de Chagas

Apesar de décadas de estudo, a patogênese da DC não está completamente esclarecida, suscitando uma série de questionamentos que levaram ao desenvolvimento de teorias para elucidar seus mecanismos subjacentes. Duas teorias principais têm sido consideradas nesse contexto: a teoria da persistência parasitária e a teoria dos mecanismos autoimunes.

1.6.1 Persistência parasitária

A teoria da persistência parasitária sustenta a hipótese de que a inflamação e os danos teciduais na DC são causados pela presença do parasita no hospedeiro, onde sua multiplicação intracelular pode levar à ruptura das células parasitadas, expondo antígenos que desencadeiam uma resposta imunológica adaptativa, resultando em inflamação e suas

consequências em diferentes tecidos (Teixeira *et al.*, 2011; Ramírez-Tolosa; Ferreira, 2017; Bonney *et al.*, 2019). Estudos mostraram uma associação entre a detecção de antígenos e a gravidade do processo inflamatório no miocárdio. Observou-se uma taxa de 100% de positividade ao antígeno em amostras de pacientes com miocardite severa. Em casos de miocardite leve ou de ausência de infiltrados inflamatórios não foram identificados fragmentos de parasitas. Essas descobertas evidenciam a relevância da presença do parasita na sustentação e intensidade da inflamação miocárdica na CCC (Higuchi *et al.*, 1993; Zhang; Tarleton, 1999). Essa hipótese ganhou apoio com a detecção do parasito em pacientes cronicamente infectados através do uso de metodologias avançadas de biologia molecular, como a PCR quantitativa em tempo real (qPCR) (Barbosa *et al.*, 2011). Além disso, o emprego de sistemas de imagem de bioluminescência altamente sensíveis, capazes de detectar o *T. cruzi* expressando luciferase, possibilitou um acompanhamento prolongado da infecção *in vivo* em modelos murinos e trouxe novas descobertas sobre a distribuição tecidual do parasito (Lewis *et al.*, 2014).

Durante as infecções crônicas em camundongos, verificou-se que a circulação de *T. cruzi* pelo organismo é dinâmica e não se concentra apenas no coração, mas está presente em outros tecidos, como no trato gastrointestinal, especificamente no estômago e no cólon. Com base nesses achados, sugere-se que o intestino possa funcionar como um reservatório para o *T. cruzi*, com migrações ocasionais para o miocárdio, o que explicaria a miocardite e fibrose cardíaca encontrada nesses animais (Silberstein *et al.*, 2018). Outra maneira pela qual o parasito pode provocar lesões no miocárdio é através do estresse oxidativo. Sabe-se que em murinos e humanos infectados por *T. cruzi* pode haver disfunção mitocondrial, resultando no aumento da geração de superóxido e espécies reativas de oxigênio (ROS) no coração, o que pode provocar a apoptose de cardiomiócitos, o que está correlacionado à gravidade da CCC (Wen; Vyatkina; Garg, 2004; Dhiman *et al.*, 2013).

Da mesma forma, estudos indicaram que o TA pode ser um nicho permissivo para a permanência de *T. cruzi* na fase crônica da infecção, contribuindo para a patogênese da DC (Nagajyothi *et al.*, 2014; Tanowitz *et al.*, 2017). Formas amastigotas podem entrar em estado latência no TA por um período prolongado e, posteriormente, se diferenciar em tripomastigotas ativas capazes de invadir outros tecidos e reiniciar um processo de infecção ativa lesionando diferentes órgãos (Sánchez-Valdéz *et al.*, 2018).

Estudos evidenciaram que a carga parasitária durante a infecção por *T. cruzi* desempenha um papel fundamental na determinação do padrão de resposta imunológica do hospedeiro, o que pode resultar no controle do parasita ou em danos teciduais (Borges *et al.*, 2013). Reforçando essa teoria, estudos que empregaram tratamentos com drogas antiparasitárias destacam-se nesse contexto. O uso dessas drogas na fase aguda da doença pode prevenir a transição para a fase crônica em 50 a 70% dos pacientes. Um estudo que utilizou o BNZ como tratamento durante a fase aguda da DC em camundongos reduziu a mortalidade e a gravidade da doença, indicando que a eliminação do parasita pode resultar na atenuação ou erradicação da resposta autoimune na fase crônica da infecção, principalmente ao reduzir o dano aos cardiomiócitos e mitigar o mimetismo molecular (Ferreira, 1961; Hyland *et al.*, 2007).

1.6.2 Autoimunidade

Um aspecto intrigante em relação à DC diz respeito à diminuição da quantidade de parasitos na fase crônica da infecção, momento em que as principais manifestações clínicas da doença podem aparecer. Além disso, os medicamentos eficazes contra as formas sanguíneas do protozoário (BNZ e NF) não possuem efeitos benéficos significativos quando usados na fase crônica (Morillo *et al.*, 2015). Embora as técnicas histológicas geralmente não revelem a presença de parasitas no interior das células durante a fase crônica, os achados histopatológicos das lesões cardíacas indicam inflamação e

remodelação tecidual, com a presença de miocardite rica em macrófagos e células T, bem como hipertrofia e fibrose, predominantemente resultantes dos danos às fibras miocárdicas. Estudos indicam uma correlação positiva entre a presença de miocardite e o subsequente desenvolvimento de fibrose intersticial (Higuchi *et al.*, 1987; Benvenuti *et al.*, 2008).

Esses aspectos deram origem a uma outra hipótese para explicar a patogênese da DC, conhecida como teoria da autoimunidade (Teixeira *et al.*, 2011; Guimaro *et al.*, 2014). A autoimunidade ocorre quando existe uma falha na tolerância imunológica, levando ao reconhecimento incorreto de componentes próprios do organismo como invasores. Isso desencadeia uma resposta inflamatória que pode causar danos severos nos tecidos-alvo, resultando em comprometimento grave e perda de função. Esse desregulamento da resposta imunológica provoca um processo inflamatório crônico. De fato, ativação adequada do sistema imune é fundamental para conter o parasito de maneira a não provocar danos teciduais (La Cava, 2011; Guimaro *et al.*, 2014).

Durante a infecção por *T. cruzi*, a resposta imune inata e adaptativa do hospedeiro desempenha um papel crucial para sua sobrevivência. Muitas células do sistema imune inato, como células dendríticas, macrófagos e células NK (do inglês, *natural killer*), desempenham uma função importante ao promover a endocitose dos parasitos, contribuindo assim para o controle inicial da replicação de *T. cruzi* (Esper *et al.*, 2015). Estudos que utilizam imuno-histoquímica para avaliar a produção de citocinas no tecido miocárdico em modelos experimentais de cardiomiopatia chagásica em camundongos revelam uma produção persistente de fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), fator de transformação do crescimento-beta (TGF- β), interleucina 1 alfa (IL-1 α), interleucina 6 (IL-6), interferon-gama (IFN- γ) e interleucina 10 (IL-10) (Zhang; Tarleton, 1996). No entanto, é crucial que a resposta imune seja equilibrada. Assim, a produção de citocinas pró-inflamatórias é necessária para ativar as respostas efetoras dos linfócitos T, mas um excesso ou

interrupção dessas respostas pode estar associado à patogênese tardia da cardiomiopatia chagásica (Zhang; Tarleton, 1996; Teixeira *et al.*, 2002).

A primeira evidência da autoimunidade foi fornecida por Santos-Buch e Teixeira (1974) que demonstraram que linfócitos de coelhos chagásicos crônicos eram capazes de destruir células cardíacas de fetos de coelhos. Os linfócitos de coelhos saudáveis, por outro lado, não atacavam o coração dos fetos. Isso mostrou que os linfócitos imunocompetentes dos coelhos chagásicos crônicos possuíam a capacidade pré-formada de atacar miofibras e neurônios do sistema nervoso parassimpático de coelhos saudáveis sem DC (Teixeira *et al.*, 2011).

Para explicar a autoimunidade, diversos mecanismos foram propostos. O primeiro deles é o mimetismo molecular, que é o processo pelo qual um patógeno pode desencadear uma resposta imunológica contra células do hospedeiro. Isso ocorre quando o patógeno apresenta estruturas moleculares semelhantes às de células do hospedeiro (Teixeira *et al.*, 2011; Bonney; Engman, 2015; De Bona, *et al.*, 2018). Como exemplo, a proteína flagelar de tripomastigotas (FL-160) possui dois epítomos distintos que imitam epítomos encontrados em tecidos nervosos (Voorhis, Van *et al.*, 1993). A proteína ribossomal L27 de *T. cruzi* também compartilha uma notável similaridade com proteínas ribossomais de diversas espécies, incluindo *Homo sapiens* (Perone *et al.*, 2003). O reconhecimento específico de anticorpos contra a miosina cardíaca foi observado em camundongos inoculados com extrato de *T. cruzi* (Leon; Engman, 2001). Além disso, moléculas específicas do parasito foram identificadas como responsáveis pelo desencadeamento da resposta imune, como o antígeno B13 (Abel *et al.*, 2005) e a cruzipaina (Aoki *et al.*, 2004).

O segundo mecanismo da autoimunidade é a ativação *bystander* que sugere que a exposição contínua de antígenos no tecido danificado poderia estimular linfócitos a se tornarem autorreativos. Dessa forma, o dano mecânico causado diretamente por *T. cruzi*, juntamente com respostas imunes específicas e não específicas ao parasito, resultaria na liberação significativa de autoantígenos em um ambiente abundantemente rico em

mediadores inflamatórios. Citocinas, como o TNF e quimiocinas, ativariam células T autorreativas, as quais começariam a se multiplicar intensamente. Além disso, o processo inflamatório também poderia alterar os padrões de migração de linfócitos e ativar células apresentadoras de antígenos. (Gironès *et al.* 2005; Wen *et al.*, 2008).

Por fim, há a hipótese de integração de minicírculos de kDNA de *T. cruzi* no genoma do hospedeiro. Diversos estudos demonstraram que o *T. cruzi* pode transferir fragmentos de seu DNA para o genoma hospedeiro (Hecht *et al.*, 2010; Teixeira *et al.*, 2011; Wesley *et al.*, 2019) Esses fragmentos, chamados de minicírculos de kDNA, estão associados a elementos móveis do DNA do hospedeiro, chamados de retrotransposons (Nitz *et al.*, 2004; Simões-Barbosa *et al.*, 2006) A integração dos minicírculos no genoma do hospedeiro é mediada por microhomologia, um mecanismo de reparo de DNA. A transferência horizontal de kDNA de *T. cruzi* tem sido associada a respostas autoimunes na DC crônica. Isso ocorre porque os minicírculos de kDNA podem ser expressos no hospedeiro, produzindo proteínas que podem ser reconhecidas pelo sistema imunológico como estranhas ao organismo. A inserção dos minicírculos no genoma da célula hospedeira também pode alterar a expressão ou provocar o silenciamento de genes já existentes (Hecht *et al.*, 2010; Teixeira *et al.*, 2011).

Vale ressaltar que as teorias da persistência parasitária e de autoimunidade não são excludentes e ambas podem estar implicadas na fisiopatologia da DC (Teixeira *et al.*, 2011). A Figura 5 ilustra os diferentes mecanismos relacionados a patogênese da DC.

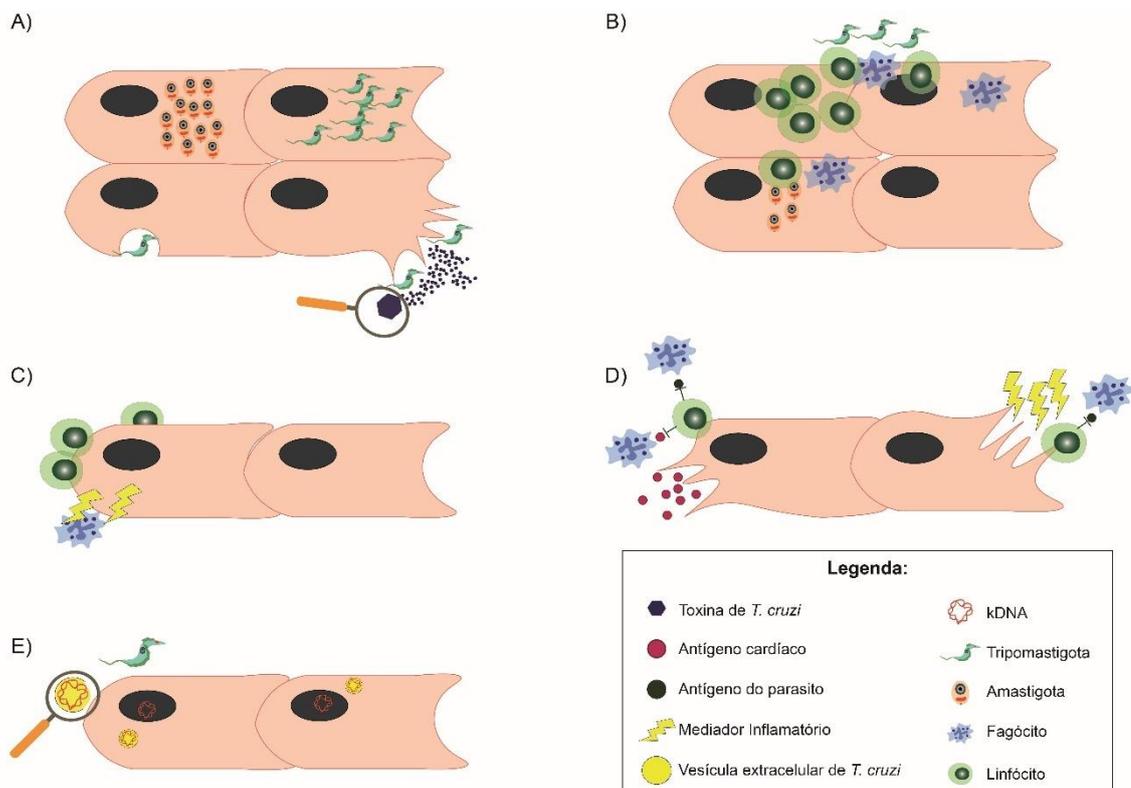


Figura 5. Mecanismos da patogênese da doença de Chagas. a) Persistência do parasita resulta em lise celular durante sua diferenciação e multiplicação. b) Ativação da imunidade específica contra *T. cruzi* contribui para a destruição dos miócitos. c) Ativação exacerbada da imunidade inata leva a reconhecimento não específico por ativação *bystander*. d) Autoimunidade induzida por parasitas gerada por mimetismo molecular entre parasita e autoantígenos (parte à esquerda da imagem) ou ativação de células T autorreativas após a lise celular por *T. cruzi* (à direita da imagem); e) Transferência de micirculos de kDNA de *T. cruzi* para o genoma da célula hospedeira. Fonte: Morais, 2022.

1.7 Diagnóstico

Conforme as diretrizes do Ministério da Saúde, o diagnóstico da DC requer a combinação de informações clínicas e epidemiológicas que devem ser confirmadas por meio de testes laboratoriais. A escolha dos exames laboratoriais apropriados varia de acordo com a fase da doença em que o paciente se encontra e pode ser classificada em duas categorias distintas: testes parasitológicos e testes sorológicos (Brasil, 2019).

O diagnóstico parasitológico da DC fundamenta-se na identificação de parasitos nos tecidos dos indivíduos afetados. Esse método é particularmente

eficaz durante a fase aguda da doença, devido à elevada parasitemia, o que permite a detecção microscópica direta dos parasitos no sangue. As técnicas parasitológicas diretas mais comuns compreendem a observação a fresco de tripanossomatídeos sob microscópio óptico, o uso da técnica de gota espessa e métodos que visam concentrar os parasitos. Adicionalmente, existem abordagens parasitológicas indiretas tradicionais, como o xenodiagnóstico que é um procedimento que envolve a alimentação de ninfas de triatomíneos não infectadas com o sangue de paciente potencialmente infectado pelo *T. cruzi*. Em seguida as amostras são mantidas em meio de cultura para possível identificação do parasito (Teixeira *et al.*, 2018; Brasil, 2019).

Entre os métodos parasitológicos, existem os testes de biologia molecular. Eles são considerados boa opção para complementar o diagnóstico e são os mais utilizados em centros de pesquisa (Brasil, 2019). O principal deles é a reação em cadeia da polimerase (PCR) que demonstra alta sensibilidade e especificidade. Dessa forma, por meio das técnicas de PCR (convencional ou em tempo real), é viável a identificação do parasito em amostras biológicas do paciente, uma vez que esses métodos de amplificação de ácidos nucleicos possuem como alvo sequências de DNA específicas de *T. cruzi*. Além disso, a qPCR permite a quantificação da carga parasitária (para revisão, Hagström *et al.*, 2019).

O diagnóstico sorológico da DC é realizado por meio de testes imunológicos, no entanto, são métodos indiretos e não são os mais apropriados para a fase aguda. No entanto, podem ser empregados quando os exames parasitológicos forem negativos e a suspeita clínica persistir. Os métodos mais utilizados são a hemaglutinação indireta (HAI), a imunofluorescência indireta (IFI) e o método imunoenzimático (ELISA) (Brasil, 2019; OPAS, 2019). A confirmação da infecção é estabelecida quando pelo menos dois testes distintos apresentam reatividade, sendo preferencialmente o ELISA um deles (Brasil, 2019).

1.8 Tratamento

Dois medicamentos comerciais estão disponíveis para combater o *T. cruzi*: BZN e NF, que foram introduzidos no mercado em 1971 e 1965, respectivamente. No Brasil, apenas o BZN é autorizado (Ribeiro *et al.*, 2020). O principal critério para avaliar a eficácia do tratamento é a conversão de sorologia positiva para negativa, juntamente com resultados negativos em testes parasitológicos (Gutierrez *et al.*, 2009; Ribeiro *et al.*, 2020).

Durante a fase aguda da doença, ambos os medicamentos têm sucesso clínico, inclusive no tratamento da DC congênita. No entanto, na fase crônica da doença, estima-se que a taxa de cura com o BZN varia de 8% a 40%. Portanto, a eficácia do tratamento nessa fase é considerada baixa (Zrein *et al.*, 2018).

Vários elementos parecem exercer influência na taxa de sucesso do tratamento medicamentoso, incluindo o genótipo do parasito, a idade do paciente, o tempo decorrido entre a infecção e o início do tratamento, bem como o quadro clínico. Além disso, é importante destacar que esses medicamentos possuem uma série de efeitos colaterais, provocando a descontinuidade do tratamento por muitos pacientes. O BZN, por exemplo, pode provocar hipersensibilidade, dermatites com erupções cutâneas, edema, febre, anorexia, perda de peso corporal, linfadenopatia, dor muscular, depressão da medula óssea, trombocitopenia e agranulocitose, polineuropatia, parestesia e polineurites periféricas (Pontes *et al.*, 2010). Diante dessas considerações, é fundamental avaliar a relação entre os efeitos adversos e os benefícios esperados do tratamento, especialmente quando se trata dos riscos associados ao desenvolvimento de complicações cardíacas e/ou digestivas na ausência de intervenção terapêutica (Gutierrez *et al.*, 2009).

Atualmente, o tratamento da DC é baseado na monofarmacologia, na qual é prescrito somente um medicamento para tratamento da doença sendo

este apresenta eficácia limitada e efeitos colaterais graves. Para superar essas limitações, estão sendo conduzidos estudos voltados para o desenvolvimento ou isolamento de novos medicamentos, como o reposicionamento de fármacos (Aguilera *et al.*, 2019).

O reposicionamento de fármacos envolve a utilização de agentes farmacoterapêuticos com perfis conhecidos de atividade e efeitos colaterais, que já estão comercializados para o tratamento de outras doenças. Essa estratégia é um dos métodos mais empregados e bem-sucedidos no desenvolvimento de novos tratamentos, especialmente para doenças negligenciadas (para revisão, Ribeiro *et al.*, 2020). Essa abordagem é vantajosa devido ao custo e ao tempo significativos envolvidos no desenvolvimento de novos medicamentos, uma vez que os compostos utilizados no reposicionamento já possuem perfis toxicológicos e farmacocinéticos investigados quando aplicados em sua indicação terapêutica original (Alberca *et al.*, 2016).

Medicamentos de diversas classes farmacológicas têm sido testados contra o *T. cruzi* como alternativa para o tratamento da DC. A benidipina e a clofazimina, um bloqueador de canais de cálcio e um antibiótico, respectivamente, atuam inibindo a cruzipaina, uma principal cisteína-protease do parasito. Esses compostos apresentaram resultados promissores, reduzindo a carga parasitária no sangue e no tecido muscular esquelético, assim como diminuindo os efeitos inflamatórios da infecção. Outros fármacos, como o antiparasitário triclabendazol, o antifúngico sertaconazol e o antidepressivo paroxetina, também apresentaram inibição da proliferação do parasito na sua forma epimastigota (Alberca *et al.*, 2016; Sbaraglini *et al.*, 2016).

Dada a ausência de tratamento medicamentoso verdadeiramente eficaz na fase crônica da infecção, surgem estratégias voltadas para a redução da carga parasitária e o controle da resposta imunológica desencadeada pelo parasito. Sendo assim, alguns estudos foram conduzidos com o objetivo de explorar o potencial do exercício físico no contexto da

infecção por *T. cruzi*, pois pode ser uma ferramenta terapêutica não medicamentosa auxiliar não só na prevenção, mas também no tratamento da DC (Soares *et al.*, 2012; Moreira *et al.*, 2014a; Moreira *et al.*, 2014b; Warburton; Bredin, 2016; Gabriel; Zierath, 2017).

2. Exercício Físico e doença de Chagas

A prática regular de exercícios físicos (EF) oferece benefícios indiscutíveis para a saúde, e, por esse motivo, tem sido empregado como ferramenta terapêutica não medicamentosa auxiliar não apenas na prevenção, mas também no tratamento de várias patologias (Vina *et al.*, 2012; Warburton; Bredin, 2016; Gabriel; Zierath, 2017). A prática frequente de EF desencadeia adaptações positivas em diversos sistemas fisiológicos, incluindo os sistemas cardiovascular e imunológico (Pedersen; Hoffman-Goetz, 2000; Vina *et al.*, 2012) (Figura 6). Este último desempenha um papel crucial na defesa do organismo contra agentes patogênicos (Pedersen; Hoffman-Goetz, 2000). Além disso, o EF está associado a benefícios relacionados à composição corporal, como o aumento da massa magra e a redução da massa gorda (Blain *et al.*, 2000; Vina *et al.*, 2012) e na qualidade de vida (Fossati *et al.*, 2021).

Uma vez que ainda não existe tratamento medicamentoso verdadeiramente eficaz contra o protozoário *T. cruzi*, especialmente na fase crônica da infecção (Ribeiro *et al.*, 2020), estratégias que visem a redução da carga parasitária, a regulação da resposta imune induzida pelo parasito e a melhora da qualidade de vida dos pacientes tornam-se de grande importância (Moreira; Zanoni, *et al.*, 2014).

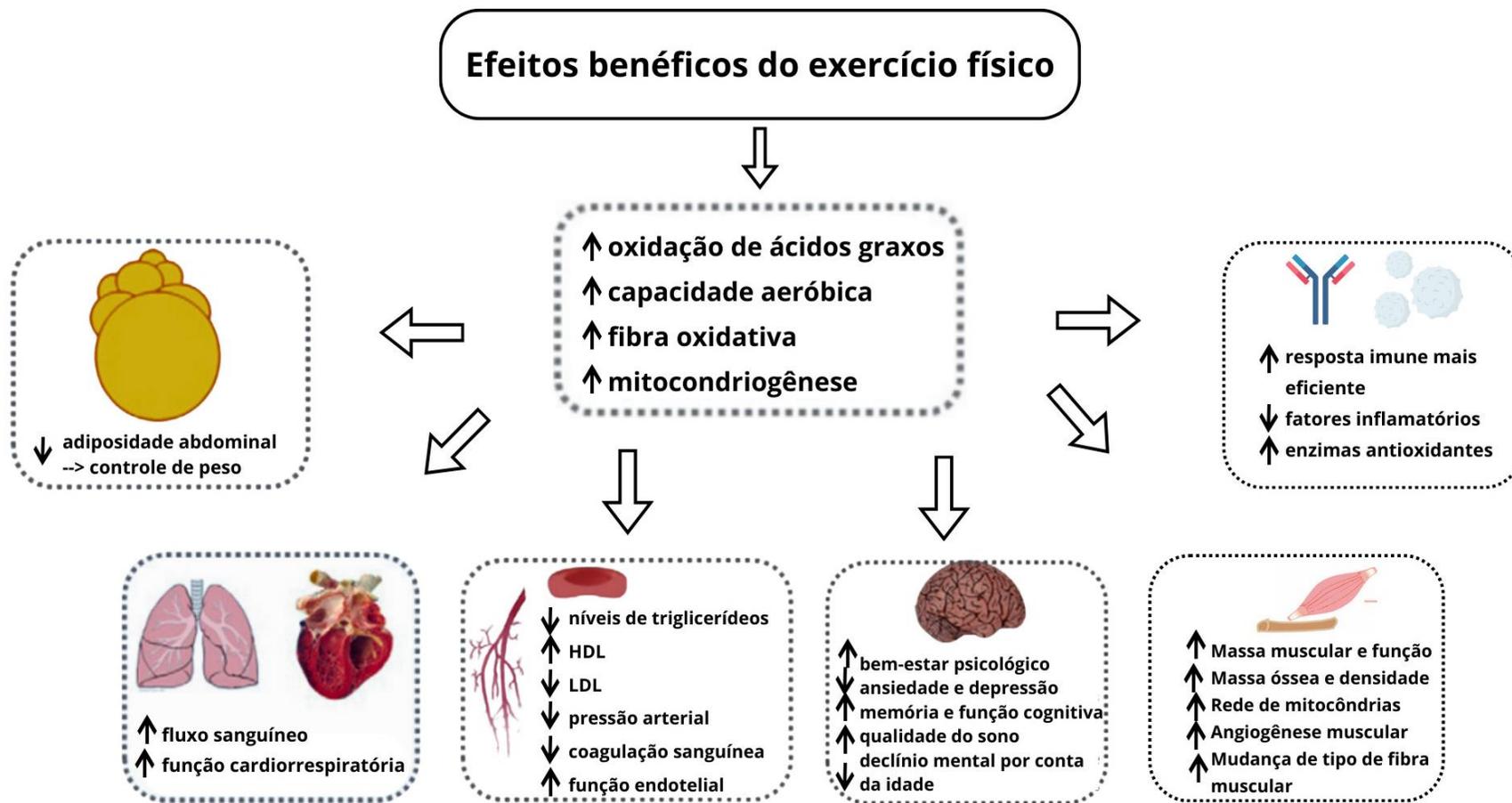


Figura 6. Efeitos do exercício físico regular. Adaptado de Vina *et al.* (2012) e Guo *et al.* (2020).

2.1 Exercício físico pré-infecção por *Trypanosoma cruzi*

O treinamento físico realizado previamente à infecção influencia positivamente a resposta do hospedeiro ao *T. cruzi*. Estudos indicam que camundongos submetidos ao treinamento físico moderado antes da infecção exibem redução no pico de parasitemia sanguínea e diminuição na carga parasitária total em comparação aos sedentários infectados (Soares *et al.*, 2010; Moreira *et al.*, 2014a; Moreira *et al.*, 2014b; Lucchetti *et al.*, 2017). Soares *et al.* (2012) utilizou camundongos machos e fêmeas de linhagens diferentes (Swiss e BALB/c) para avaliar a influência do exercício pré-infecção e obteve resultados semelhantes (Soares *et al.*, 2012), reiterando o fator de resistência do exercício físico contra o desenvolvimento de *T. cruzi* (Schebeleski-Soares *et al.*, 2009).

Com relação a resposta imune, os padrões dos níveis de citocinas não são conclusivos. Por exemplo, alguns estudos não encontraram diferenças nos níveis do TNF- α na fase aguda entre camundongos treinados e não treinados antes da infecção por *T. cruzi* (Schebeleski-Soares *et al.*, 2009; Soares *et al.*, 2010). Por outro lado, resultados de Moreira *et al.* (2013; 2014a; 2014b) indicaram um aumento de TNF- α e TGF- β após 75 dias pós infecção (dpi) em camundongos treinados previamente à infecção. Sabe-se que o TNF- α desempenha um papel na resposta imune contra *T. cruzi*, enquanto o TGF- β está envolvido na reparação tecidual e na regulação do sistema imunológico (Anker; Coats, 1999; Abbas *et al.*, 2019). A síntese aumentada dessas moléculas sugere que o EF moderado pode potencializar a resposta imune e promover a reparação tecidual em animais infectados por *T. cruzi*. Além disso, o EF reduziu o número de focos inflamatórios decorrentes da infecção, com redução na inflamação no cólon (Moreira *et al.*, 2014b). Modificações nos níveis de IFN- γ e IL-10 não foram encontradas por Moreira *et al.* (2013).

Lucchetti *et al.* (2017) mostraram que camundongos treinados previamente à infecção por *T. cruzi* tiveram diminuição na frequência cardíaca

(FC) com níveis considerados normais de óxido nítrico (NO) no tecido cardíaco em comparação aos camundongos infectados sedentários. Além disso, este grupo treinado exibiu níveis reduzidos de citocinas pró-inflamatórias (IL-12, TNF- α , IFN- γ) e proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1, do inglês *monocyte chemoattractant protein-1*), indicando uma modulação na reação inflamatória na qual foi estabelecido um equilíbrio entre as respostas Th1 e Th2 adequado para combater a infecção. Isso sugere que os efeitos positivos do EF aeróbico moderado poderiam atuar de maneira profilática contra a inflamação que ocorre nas fases iniciais da infecção (Lucchetti *et al.*, 2017).

2.2 Exercício pós-infecção por *Trypanosoma cruzi*

Até onde sabemos, apenas um estudo avaliou o efeito do treinamento físico pós-infecção por *T. cruzi* em camundongos. Pedra-Rezende *et al.* (2021) submeteram camundongos C57BL/6 ao treinamento de intensidade moderada em esteira rolante durante 4 semanas após 150 dias de infecção. O principal resultado diz respeito à redução na fibrose cardíaca após 180 dpi nos animais treinados. Ademais, comparado ao grupo infectado e não treinado, não foi observado modificações no peso do coração, em sua função, na carga parasitária ou no grau de inflamação. O EF também não alterou a concentração de citocinas plasmáticas com 120 e 180 dpi. Em relação à força muscular, não foi observado diferenças entre camundongos sedentários ou treinados não infectados e infectados por *T. cruzi* aos 180 dpi (Pedra-Rezende *et al.*, 2021).

Em humanos, os estudos são voltados principalmente para os benefícios da prática de EF na qualidade de vida dos pacientes infectados cronicamente, concentrando-se sobretudo na avaliação da tolerância ao esforço físico e na capacidade funcional dos indivíduos infectados Lima *et al.*, 2010; Fialho *et al.*, 2012; Nascimento *et al.*, 2014; Alves *et al.*, 2016). De

acordo com nosso conhecimento, não há estudos que relacionam a prática regular de EF à evolução da DC. Embora alguns autores sugiram evitar o treinamento físico em pessoas com miocardite (Basso *et al.*, 2007), Lima e colaboradores (2010) demonstraram que o EF não acarreta efeitos adversos em pacientes com CGC. Além disso, um trabalho com mulheres infectadas por *T. cruzi* que se exercitaram em esteira durante seis semanas, realizando duas sessões semanais, mostrou redução significativa na pressão arterial e na frequência respiratória (FR), bem como aumento no consumo de oxigênio (VO₂) (Mendes *et al.*, 2011).

Em resumo, embora haja evidências promissoras sobre os benefícios do exercício físico na DC, é notável a escassez de pesquisas direcionadas ao treinamento após a infecção por *T. cruzi* e suas implicações. A continuidade desses estudos é fundamental para preencher essa lacuna de conhecimento e fornecer uma visão mais abrangente sobre o papel do EF na progressão da doença e no bem-estar dos pacientes.

3. Tecido adiposo

3.1 Tipos de tecido adiposo

O TA constitui de 20 a 28% da massa corporal em indivíduos saudáveis, com essa porcentagem variando conforme o gênero e o estado energético (Frigolet; Gutiérrez-Aguilar, 2020). Sua função depende do tipo, da distribuição e de localização no corpo, diferindo entre as espécies (Luong *et al.*, 2019; Frigolet; Gutiérrez-Aguilar, 2020; Börgeson *et al.*, 2022). Existem três tipos de TA de acordo com suas funções, coloração, vascularização e estrutura.

3.1.2 Tecido adiposo branco

O tecido adiposo branco (TAB) exibe variação de cor, que vai de branco a amarelado, dependendo da dieta. Essa coloração é principalmente atribuída ao acúmulo de carotenos, pigmentos orgânicos naturais presentes em certos alimentos, dissolvidos nos corpúsculos lipídicos. Este tipo de TA é predominante em humanos adultos e desempenha função crucial no armazenamento de lipídios, sendo um local essencial para a homeostase energética, com influência no metabolismo da glicose em resposta à insulina e à atividade endócrina (Gesta; Tseng e Kahn, 2007; Frigolet; Gutiérrez-Aguilar, 2020).

O TAB é composto principalmente por adipócitos uniloculares, células grandes com diâmetro de aproximadamente 50 a 150 μm , que são inicialmente esféricas quando isoladas, mas adotam formas poliédricas no tecido devido à compressão recíproca entre elas. Essas células exibem uma única e grande gotícula lipídica envolta por uma fina camada de citoplasma, com núcleo achatado na periferia. Embora observações por microscopia eletrônica revelem a presença de corpúsculos lipídicos muito menores, cortes histológicos comuns removem esses corpúsculos devido ao processamento com solventes orgânicos, deixando cada célula visível apenas com sua camada de citoplasma e núcleo (Zwick *et al.*, 2018; Frigolet; Gutiérrez-Aguilar, 2020).

O TAB também possui porções de tecido conjuntivo que contêm vasos sanguíneos e nervos, acompanhados por fibras reticulares (colágeno III) que sustentam as células adiposas. A vascularização do TA é notavelmente abundante, considerando a pequena quantidade de citoplasma funcional, resultando em uma relação volume capilar sanguíneo/volume de citoplasma maior do que em tecidos como o músculo estriado. Em situações de consumo prolongado das reservas energéticas, o TA passa por uma mobilização lipídica, começando pelos reservatórios subcutâneos, seguidos pelos do

mesentérico e retroperitoneais. No entanto, o TA localizado nos coxins das mãos e dos pés resiste a períodos prolongados de desnutrição. À medida que o tecido perde a maior parte de sua gordura, transforma-se em um tecido composto por células de forma poligonal ou fusiforme, com corpúsculos lipídicos raros (Alaniz *et al.*, 2006; Frigolet; Gutiérrez-Aguilar, 2020).

Historicamente, o estudo do TA, principalmente do TAB, ficou concentrado nas funções de controle homeostático energético por meio do armazenamento e liberação de lipídeos em resposta às necessidades metabólicas e nutricionais do organismo (Alaniz *et al.*, 2006; Zwick *et al.*, 2018). Com os avanços provenientes das pesquisas sobre o TA nos últimos anos, ficou evidente o seu papel nas funções endócrinas do organismo por meio da secreção de proteínas que desencadeiam sinais regulatórios em todo o corpo, conhecidas como adipocinas (Alaniz *et al.*, 2006; Coelho *et al.*, 2013). Essas adipocinas incluem uma variedade de fatores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios, como leptina, adiponectina, resistina e visfatina, além de citocinas e quimiocinas como TNF, IL-6, MCP-1 e outros (Saely; Geiger; Drexel, 2012; Coelho; Oliveira; Fernandes, 2013; Grant; Dixit, 2015; Gu *et al.*, 2023). Além disso, essas biomoléculas estão envolvidas no controle do comportamento alimentar, na sensibilidade periférica à insulina e até mesmo no desenvolvimento do sistema reprodutor feminino (Giralt; Cereijo; Villarroya, 2015).

Observa-se níveis alterados de adipocinas em diversas condições inflamatórias, embora seu papel patogênico ainda não esteja totalmente esclarecido. Todas essas moléculas integram-se em uma rede de comunicação com outros tecidos e órgãos, como músculo esquelético, córtex adrenal, cérebro e sistema nervoso simpático, desempenhando um papel crucial na regulação do apetite, equilíbrio energético, imunidade, sensibilidade à insulina, angiogênese, pressão arterial, metabolismo e homeostase lipídica (Alaniz *et al.*, 2007; Blüher; Mantzoros, 2015; Fasshauer; Blüher, 2015; Gu *et al.*, 2023).

A Figura 7 ilustra a distribuição do TAB no homem e em modelo murino.

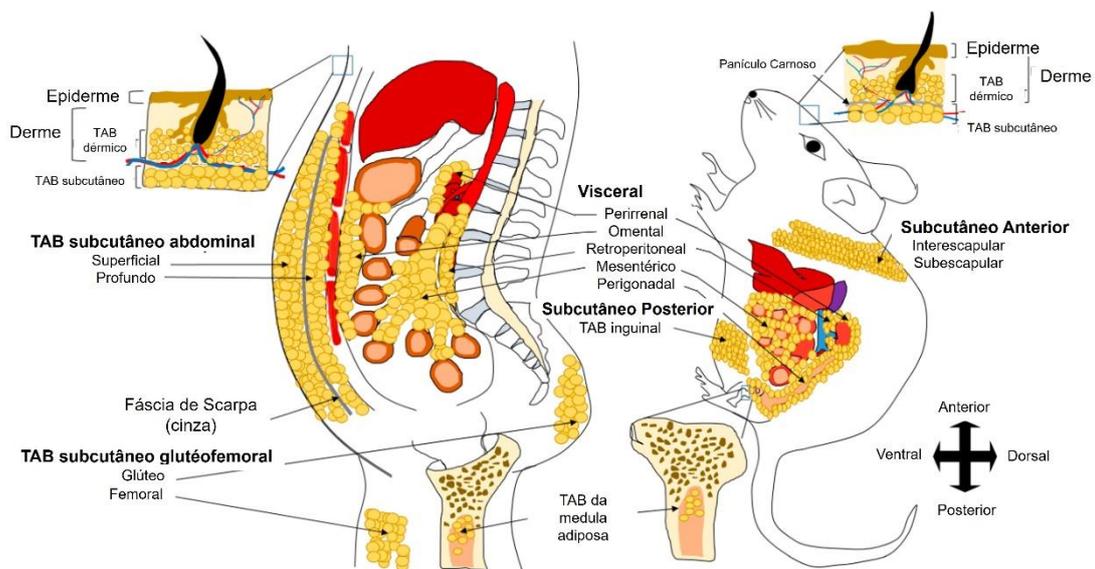


Figura 7. Comparação entre tecido adiposo humano e de roedores. Os principais tecidos adiposos branco (TAB) são o visceral e o subcutâneo. Em relação ao visceral, tanto no homem como em roedores, os predominantes são o epicárdico/pericárdico (não mostrado), o perirrenal, o retroperitoneal e o mesentérico. O homem possui muita gordura omental e os roedores um grande depósito de gordura perigonadal. Adaptado de Luong *et al.*, 2019.

3.2.2 Tecido adiposo marrom

Os adipócitos brancos e marrons têm origem na mesma célula-tronco mesenquimal. Entretanto, durante a gastrulação, as células-tronco mesenquimais do mesoderma paraxial expressam o fator miogênico 5 (Myf5), enquanto as do mesoderma lateral não expressam esse fator de transcrição. As células que expressam Myf5 se diferenciam em adipócitos marrons ou miócitos, ao passo que as células negativas para Myf5 se desenvolvem em adipócitos brancos ou pericitos, que são células associadas aos vasos sanguíneos (Rodríguez *et al.*, 2015; Lizcano; Arroyave, 2020).

A coloração do tecido adiposo marrom (TAM) se deve à sua maior vascularização e ao alto conteúdo de mitocôndrias, que contêm citocromos responsáveis por essa pigmentação. Os adipócitos marrons são células de configuração poligonal, apresentando citoplasma normal e gotículas lipídicas multiloculares. Seu núcleo é redondo e centralizado. A principal função

biológica dessas células é a termogênese, embora também possam armazenar energia na forma de gordura e secretar adipocinas, contudo em menor extensão do que os adipócitos brancos (Rodríguez *et al.*, 2015; Lizcano; Arroyave, 2020). A ativação dos receptores β -adrenérgicos no TAM estimula as proteínas desacopladoras 1 (UCP-1, do inglês *uncoupling protein 1*), que utilizam o fluxo de prótons da fosforilação oxidativa para produzir calor em vez de adenosina trifosfato (ATP). É nas mitocôndrias do TAM que o calor é produzido pela função das UCPs e, como resultado, o gasto energético é aumentado (Ricquier; Bouillaud, 2000). Quando o alimento não está disponível, sinais de fome do hipotálamo ativam os neurônios gabaminérgicos que bloqueiam a ativação do sistema simpático para diminuir a termogênese no TAM e reduzir o gasto energético (Nakamura; Nakamura, 2018).

Em recém-nascidos, a gordura marrom é abundantemente encontrada no pescoço e na região interescapular como medida preventiva contra a hipotermia. Anteriormente, acreditava-se que os adultos continham apenas vestígios desse tecido devido à sua involução durante a infância. No entanto, estudos revelaram a presença de TAM ativo, mesmo em quantidade reduzidas, em algumas partes do corpo de adultos, como na região cervical-supraclavicular (Nedergaard; Cannon, 2013; Herz; Kiefer, 2019). A exposição ao frio e o consumo excessivo de alimentos aumentam a atividade e o tamanho do TAM, enquanto a idade as diminui. Por outro lado, em roedores, o TAM é mantido ao longo da vida e contribui significativamente para o gasto energético por meio da termogênese (Saito *et al.*, 2009; Lichtenbelt *et al.*, 2009). Nos camundongos, o TAM é encontrado principalmente na região interescapular (Börgeson *et al.*, 2022).

Existem condições, como maior concentração de hormônios tireoidianos, ácidos biliares, peptídeos natriuréticos e retinóides, que aumentam o número de adipócitos marrons no TAB (Frigolet; Gutiérrez-Aguilar, 2020). O desenvolvimento de adipócitos marrons em depósitos brancos tem sido associado a um menor risco de desenvolver obesidade e diabetes e isso é alcançado com exposição ao frio e tratamento com agonistas

de receptores β -adrenérgicos (Ghorbani; Himms-Hagen, 1997; Alcalá *et al.*, 2019). Por outro lado, a conversão de adipócitos marrons em brancos foi demonstrada em modelos animais de obesidade induzida por dieta (Labbé *et al.*, 2018).

3.2.3 Tecido adiposo bege

Além do TAB e TAM, estudos identificaram a presença de células semelhantes às células adiposas marrons, conhecidas como células bege ou "brite" (*brown-in-white*) ou tecido adiposo marrom induzível (Berbée *et al.*, 2015). Os adipócitos bege são células que não expressam Myf5 e, aparentemente, têm origem em células endoteliais ou perivasculares no interior do TAB. Essas células possuem uma assinatura genética única, distinta das encontradas nos adipócitos brancos ou marrons (Rodríguez *et al.*, 2015).

É relevante destacar que diversos estudos indicam que o TA bege (TABe) influencia o metabolismo corporal e protege camundongos contra a obesidade induzida por dieta (Graf; Ferrari, 2019; Cheng *et al.*, 2021). Evidências têm revelado que os programas termogênicos do TAM e TABe operam por meio de mecanismos regulatórios comuns (Harms; Seale, 2013). Em 2015, foi apresentado um novo fator de transcrição induzível pelo frio e por beta-agonistas, conhecido como Zfp516 (*zinc finger protein 516*). Este fator interage diretamente com o gene codificador de proteínas PRDM16 e estimula a transcrição de genes termogênicos, como o da UCP-1, induzindo principalmente o TA inguinal a adotar o fenótipo do TAM. Como resultado da expressão acentuada do Zfp516, especificamente no TA, os camundongos apresentaram aumento no gasto energético e na temperatura corporal, prevenindo o desenvolvimento de obesidade (Dempersmier *et al.*, 2015).

O EF também é um estímulo que favorece a transdiferenciação do TAB em TABe. Em 2012, foi descoberto que um peptídeo liberado pelos músculos

estriados esqueléticos de roedores em resposta ao treinamento físico tinha a capacidade de induzir a diferenciação do TAB em TABe (Wang *et al.*, 2013). Em culturas de adipócitos brancos de camundongos, esse peptídeo, chamado de irisina, converteu as células em adipócitos UCP1-positivos, com fenótipo bege (Irving *et al.*, 2014).

A Figura 8 apresenta os efeitos de diferentes substâncias químicas secretadas pelos três tipos de TA.

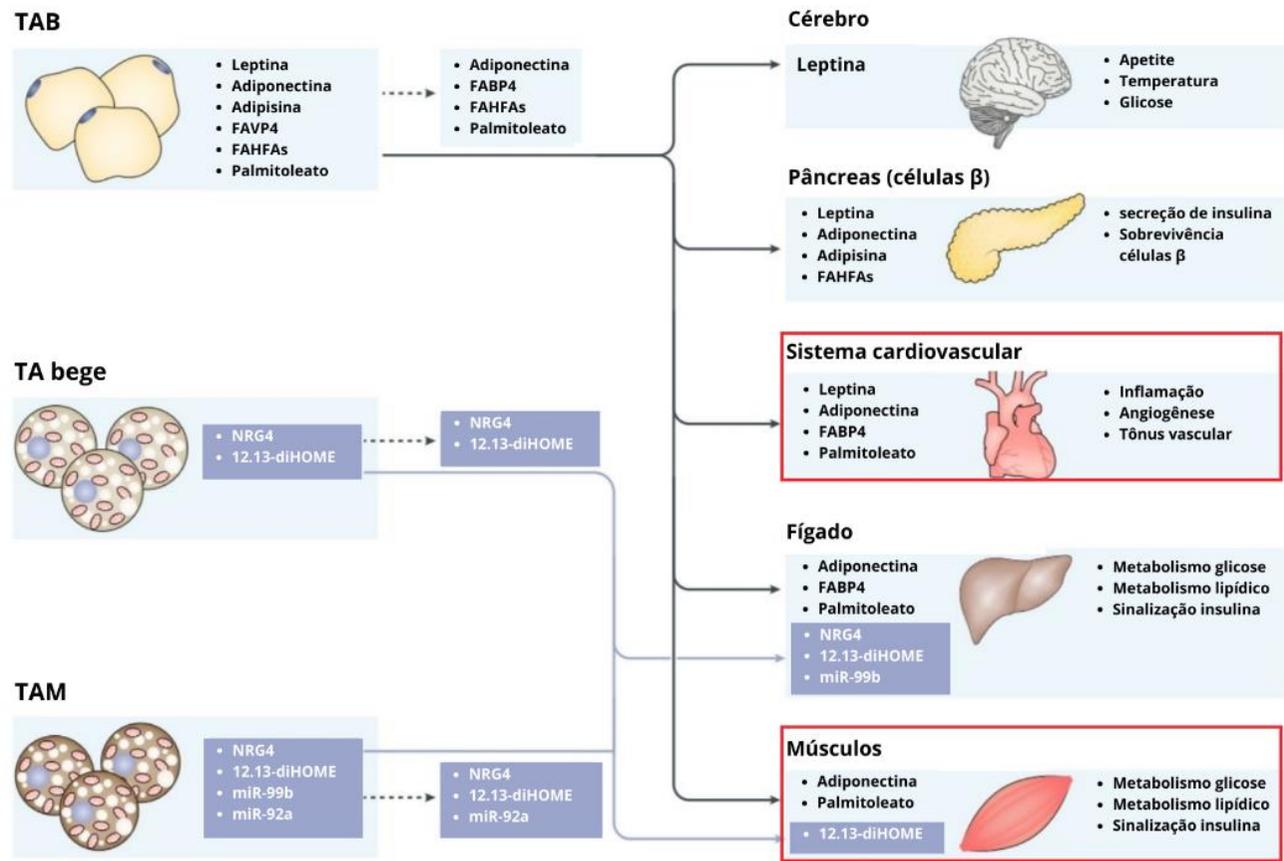


Figura 8. Efeitos endócrinos de fatores secretados por adipócitos. Hormônios secretados por adipócitos têm efeitos parácrinos e endócrinos. Embora a maioria dos hormônios do tecido adiposo (TA) seja produzida tanto pelo TA branco (TAB) quanto pelo TA marrom (TAM) são mostrados apenas os principais locais de origem. A adiponectina e o FABP4 são duas proteínas que exercem grande influência no sistema cardiovascular. Elas têm propriedades anti-inflamatórias e antifibróticas, o que contribui para a proteção contra doenças cardiovasculares. Além disso, a adiponectina pode influenciar a captação de glicose pelo músculo, a secreção de insulina e a regeneração muscular. Setas tracejadas indicam atividade parácrina; setas sólidas indicam atividade endócrina. Os quadros vermelhos destacam os sistemas que mais interessam no presente trabalho (Adaptado de Scheja; Heeren, 2019).

4. Patógenos no tecido adiposo

Historicamente, acreditava-se que a resposta pró-inflamatória no TA, que pode ter efeitos locais e parácrinos, desempenhava um papel na resposta imune inata contra infecções, principalmente devido à presença significativa de macrófagos no local. No entanto, a compreensão do potencial imunológico do TA evoluiu ao longo do tempo. Embora o TAB possa contribuir para a resposta imune contra infecções, também é utilizado como abrigo por certos patógenos (dos Reis, 2021).

Em termos gerais, os microrganismos exibem uma ampla diversidade em relação aos ambientes que preferem colonizar ou invadir. Entre aqueles que infectam mamíferos, alguns habitam o interior das células hospedeiras, enquanto outros se encontram no espaço extracelular. Alguns permanecem na corrente sanguínea, enquanto outros têm a capacidade de penetrar e se acumular em tecidos, onde podem persistir em reservatórios, evitando a resposta imune do hospedeiro (Tanowitz *et al.*, 2017).

Em relação a essa questão, diversos exemplos podem ser citados. Pesquisadores investigaram a relação entre o TAB e a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Inicialmente, acreditava-se que as alterações metabólicas observadas em pessoas infectadas pelo HIV eram causadas pelos medicamentos antirretrovirais (Samaras *et al.*, 2007; Falutz, 2011). No entanto, estudos posteriores demonstraram que o vírus pode infectar adipócitos, o que poderia explicar essas alterações. Foi identificado material genético do HIV associado a células da fração vascular estromal do TAB, incluindo células TCD4+ e macrófagos. Também foi observado a reativação de partículas virais obtidas de células TCD4+ do TAB de pacientes em tratamento antirretroviral. Essas descobertas sugerem que o TAB pode desempenhar um papel na persistência, ativação e inflamação crônica durante a infecção por HIV (Hazan *et al.*, 2002).

O citomegalovírus (CMV) é um herpesvírus que infecta grande parte da população, sendo mais prevalente em idosos (Cannon; Schmid; Hyde, 2010). A infecção por este vírus no TAB foi associada à infiltração e/ou expansão local de

células T CD8, desencadeando uma resposta pró-inflamatória e causando alterações metabólicas. Contreras *et al.* (2019) identificaram adicionalmente locais de residência de células T anti-CMV e relataram as consequências fisiológicas dessa resposta, destacando a importância do TA na infecção. Através da análise de citometria de fluxo, notaram que o TAB se enriqueceu em células T CD8 citotóxicas, especificamente direcionadas ao CMV, durante a transição da fase aguda para a fase crônica da infecção. Também observaram um aumento de citocinas inflamatórias em conjunto com a expansão das células T CD8. Adicionalmente, estabeleceram uma correlação entre o estado inflamatório do TA em resposta à infecção pelo vírus e o desenvolvimento de hiperglicemia nos camundongos (Contreras *et al.*, 2019).

Além disso, também foram descritas alterações no metabolismo energético e nas características dos adipócitos após a infecção pelo vírus influenza A (Bourgeois *et al.*, 2019; Ayari *et al.*, 2020). Por fim, recentemente, foi visto que como o TAB expressa enzima conversora de angiotensina (ACE) e dipeptidil peptidase 4 (DPP4) que são proteínas que o SARS-CoV-2, agente etiológico causador da doença do coronavírus-19 (COVID-19), interage para entrada na célula hospedeira. Desta forma, o aumento do volume do TAB na obesidade pode funcionar como um reservatório maior para o SARS-CoV-2 (Yu *et al.*, 2022).

Diferentes bactérias também foram associadas ao TA. Em 2010, Bechah *et al.* sugeriram que o TAB poderia servir como um potencial reservatório para o estado latente de infecção por *Rickettsia prowazekii*, o agente causador do tifo epidêmico (Bechah *et al.*, 2010). Essa doença infecciosa negligenciada normalmente ocorre em hospedeiros que vivem em condições de vulnerabilidade anos ou décadas após a infecção (Nyatanyi *et al.*, 2016). Devido à falta de compreensão abrangente sobre como ocorre a reativação e em qual local as bactérias permanecem em estado latente, pesquisadores sugeriram que o TAB pode atuar como um possível reservatório para o estágio de dormência da infecção bacteriana. Os resultados do estudo de Bechah *et al.* (2010) demonstraram que a presença da bactéria pôde ser detectada no TAB dos animais mesmo quatro meses após a recuperação clínica da infecção inicial.

Embora o reservatório celular exato nos hospedeiros ainda seja desconhecido, a bactéria *Coxiella burnetii*, responsável pela febre Q, uma zoonose conhecida por persistir em humanos e roedores, foi observada no TAB de camundongos (Raoult *et al.*, 2005). Após a infecção por via intraperitoneal ou intratraqueal nesses animais, a presença de *C. burnetii* foi detectada no TA abdominal, inguinal e dorsal, enquanto nenhuma bactéria foi encontrada no sangue, fígado, pulmões ou baço, independentemente da via de inoculação (Raoult *et al.*, 2005).

O TAB também foi descrito como o primeiro local de colonização de *Leptospira interrogans* em um modelo de infecção de hamsters. *L. interrogans* é uma espiroqueta patogênica que causa leptospirose, uma das zoonoses mais abrangentes e potencialmente fatais do mundo (Ozuru *et al.*, 2017; Picardeau, 2020). Através de um sistema de imagem *in vivo* foi possível acompanhar bactérias bioluminescentes em animais infectados e identificar os locais de colonização e crescimento durante a fase aguda da infecção. Os resultados mostraram que as bactérias luminescentes foram detectadas primeiro no local de inoculação e depois se espalharam para o centro do abdômen. Em seguida, a luminescência das bactérias foi detectada no TAB antes que em outros órgãos, indicando que as leptospiros colonizaram o TAB nos estágios iniciais da infecção (Ozuru *et al.*, 2017).

Alguns estudos também têm levantado hipóteses sobre o envolvimento do TA na infecção por *Mycobacterium tuberculosis*, agente causador da tuberculose. Acredita-se que um quarto da população mundial seja portadora da bactéria, no entanto, 90% dos infectados terão apenas a forma latente da doença, pois a micobactéria tem a capacidade de persistir no hospedeiro humano por longos períodos (Hopewell; Jasmer, 2004). Em 2006, Neyrolles *et al.* (2006) identificaram a presença de DNA de *M. tuberculosis* no TAB, rins, estômago, linfonodos, coração e pele em amostras de pacientes que foram a óbito em decorrência da tuberculose. Análises *in vitro*, usando uma variedade de modelos de adipócitos, incluindo a linhagem 3T3-L1 e adipócitos primários humanos, demonstraram que, após se ligar a receptores *scavengers*, uma família diversa de receptores de superfície celular, a micobactéria entra nos adipócitos e acumula lipídios citoplasmáticos, onde é capaz de sobreviver em

estado não replicativo, tornando-se insensível à ação da droga antibacteriana isoniazida (Neyrolles *et al.*, 2006).

Os protozoários do gênero *Plasmodium* spp. são os agentes etiológicos da malária e parasitos intracelulares obrigatórios. Embora cinco espécies possam infectar humanos, o *Plasmodium falciparum* é a mais grave e responsável pela maioria das mortes por malária na África subsaariana. Os eritrócitos infectados pelo *P. falciparum* se aderem às células endoteliais dos vasos sanguíneos, o que pode levar a complicações graves, como encefalite e insuficiência renal. Estudos histopatológicos de pessoas que morreram de malária mostraram que as células vermelhas do sangue infectadas pelo *P. falciparum* (iRBCs) se acumulam em diferentes quantidades em diversos tecidos e órgãos. O pulmão e o baço são os locais mais comuns de acúmulo de iRBCs, mas o TAB subcutâneo também pode ser um desses locais (Seydel *et al.*, 2006; Milner *et al.*, 2014, 2015). Além disso, um estudo realizado em animais de laboratório infectados por *P. berghei* mostrou que o receptor CD36 desempenha um papel importante no sequestro de células vermelhas infectadas nos pulmões e no TA. Nos animais deficientes em CD36, o sequestro de células vermelhas infectadas foi significativamente reduzido nesses dois locais. Os resultados do estudo revelaram que, como esperado, o pulmão é o principal sítio de sequestro de parasitos de malária, mas o TA também contribui significativamente para esse processo (Franke-Fayard *et al.*, 2005).

Outro exemplo do TAB como reservatório parasitário diz respeito ao protozoário *Trypanosoma brucei*, causador da tripanossomíase africana, também conhecida como doença do sono, uma enfermidade tropical negligenciada que geralmente resulta em óbito se não for tratada. Esses parasitos podem adentrar o cérebro, provocando anomalias neuropsiquiátricas e perturbações na regulação do sono (Kennedy, 2013). Pesquisadores descrevem o TAB como um importante reservatório deste parasita em modelo murino. Uma vez acumulado nesse tecido, o *T. brucei* apresenta uma remodelação distinta na expressão de genes em comparação às formas infecciosas encontradas no sangue. Isso sugere que o parasita utiliza ácidos graxos como substrato energético. Dados obtidos por qPCR demonstraram que o TAB abriga cerca de 10 vezes mais parasitos do que no sangue durante

estágios crônicos da doença. Além disso, os parasitos retirados do TAB foram capazes de se replicar e infectar camundongos saudáveis, demonstrando que esses parasitas podem voltar para a corrente sanguínea e estabelecer uma nova infecção (Claes *et al.*, 2009; Trindade *et al.*, 2016).

A relação entre patógenos, acúmulo ou perda de TA no hospedeiro e patogênese das infecções é complexa e ainda não totalmente compreendida. O fato é que vários agentes infecciosos se acumulam em diferentes locais do TA (Figura 9), tecido de grande longevidade e rico em nutrientes, o que permite a persistência de patógenos no organismo hospedeiro durante infecções crônicas (Tanowitz *et al.*, 2017).

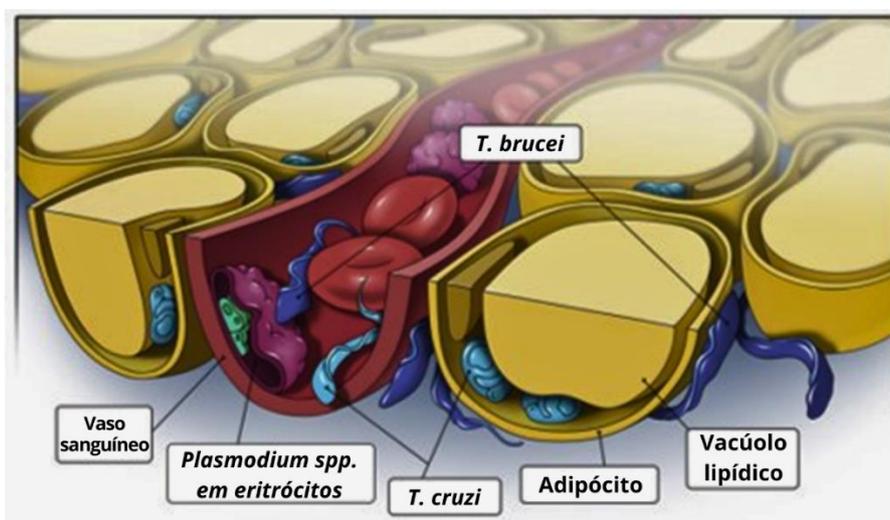


Figura 9. Presença de protozoários no tecido adiposo. *Trypanosoma brucei* (em azul escuro), *Trypanosoma cruzi* (em azul claro) e *Plasmodium spp.* (verde). Adaptado de Tanowitz *et al.* (2017).

4.1 Tecido adiposo e *Trypanosoma cruzi*

Há décadas, registros isolados já documentavam a presença de *T. cruzi* no TA. Shoemaker e colaboradores (1970), por exemplo, observaram o protozoário no TAM de camundongos (Shoemaker *et al.*, 1970). Mais tarde, Andrade e Silva (1995) publicaram micrografias eletrônicas de amastigotas de *T. cruzi* dentro de adipócitos, evidenciando o tropismo do parasito pelo TA (Andrade; Silva, 1995).

No entanto, somente em 2005, Combs *et al.* demonstraram que tripomastigotas de *T. cruzi* podiam infectar facilmente o TAB. Neste estudo, os pesquisadores destacam a falta de atenção historicamente direcionada ao papel dos adipócitos na patogênese da DC e suas conseqüentes alterações metabólicas. Eles conduziram experimentos tanto *in vitro*, utilizando células 3T3-L1, como *in vivo*, utilizando modelo murino de infecção. Durante esses experimentos, foi observado que os adipócitos podiam ser facilmente infectados. As micrografias eletrônicas das células infectadas revelaram um considerável número de parasitos intracelulares agrupados em torno de corpúsculos lipídicos. Além disso, foi mostrado que os adipócitos infectados sofreram modificações em relação à expressão de proteínas adipocíticas, como a leptina e resistina (Combs *et al.*, 2005).

Os adipócitos são alvos durante a fase aguda da infecção, influenciando o perfil de produção de adipocinas (Andrade; Silva, 1995; Combs *et al.*, 2005; dos Reis, 2021). Durante a infecção em camundongos, o TAB exibiu um perfil metabólico distinto, caracterizado por inflamação significativa, hipoadiponectinemia, hipoglicemia e hipoinsulinemia (Elased; Playfair, 1994; Combs *et al.*, 2005).

Nagajyothi *et al.* (2012) mostraram em modelo murino que tanto o TAM quanto o TAB são suscetíveis à infecção por *T. cruzi*, com carga parasitária substancial nestes tecidos durante a fase aguda da infecção. Além disso, observaram um aumento importante no número de macrófagos no TA, uma redução no acúmulo de lipídios, no tamanho dos adipócitos e na gordura corporal. Isso foi acompanhado por um aumento na expressão de enzimas lipolíticas, que são responsáveis pela quebra de gorduras. Também houve alterações na produção e expressão de receptores ativados por proliferadores de peroxissoma do tipo gama (PPAR γ), que são proteínas que regulam diversas funções metabólicas, incluindo o armazenamento de gordura e a sensibilidade à insulina. Essas alterações foram observadas no TA, que se apresentou aumentado, e na adiponectina, que exibiu níveis reduzidos. Além disso, a expressão gênica de citocinas e quimiocinas, bem como seus receptores, também apresentaram aumentos notáveis nos estágios iniciais da infecção. Ainda em camundongos infectados por *T. cruzi*, Wen e colaboradores (2014)

identificaram um aumento nos marcadores de estresse oxidativo no TAB e TAM. Ao avaliarem os animais em diferentes momentos (15, 30 e 130 dias após a infecção), constataram um aumento desses marcadores em ambos os tecidos (Wen *et al.*, 2014).

O TA também foi reconhecido como reservatório de *T. cruzi* durante a fase crônica da infecção em seres humanos. Ferreira e sua equipe (2011) demonstraram a presença de *T. cruzi* no TAB de pacientes idosos com DC crônica cardíaca, sugerindo que o parasita pode subsistir nesse tecido por décadas. Isso indica que o TA desempenha um papel fundamental como reservatório do parasito durante a infecção (Ferreira *et al.*, 2011). Isso ocorre porque os adipócitos são células de extrema longevidade, tanto em humanos quanto em camundongos, o que permite que os parasitos persistam no organismo por longos períodos, mesmo após tratamento medicamentoso (Spalding *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2013). Além disso, outra possibilidade a ser considerada é que o adipócito oferece intracelularmente uma boa fonte de nutrientes, especialmente ácidos graxos, que podem ser mobilizados facilmente a partir do depósito de lipídios (Nielsen *et al.*, 2014). Ademais, picos pós-prandiais de insulina asseguram um influxo regular de glicose. Assim, tanto as necessidades de carboidratos quanto de lipídios do parasita durante seu estado quiescente são prontamente atendidas pelo adipócito (Tanowitz *et al.*, 2017).

5. Efeitos da dieta hiperlipídica na doença de Chagas

Como o *T. cruzi* possui tropismo pelo TA, supõe-se que mudanças na morfologia e na fisiologia deste tecido tenham influência na infecção, alterando o metabolismo lipídico, a resposta imunológica e o equilíbrio energético do hospedeiro. Atualmente, o padrão alimentar ocidental, rico em gorduras, calorias e alimentos processados, tem se tornado prevalente na América Latina, região endêmica para a DC. Essa dieta aumenta os riscos de sobrepeso e obesidade e

isso pode afetar a patogênese da doença (Zhao *et al.*, 2016) e o desenvolvimento de cardiomiopatia chagásica (Nagajyothi *et al.*, 2019).

Em uma coorte de 66 pacientes com DC crônica no Brasil, Geraix *et al.* (2007) mostraram que 83% apresentavam estilo de vida sedentário e 94% estavam com sobrepeso ou obesidade (Geraix *et al.*, 2007). Entretanto, ainda não existe um consenso de que a infecção por *T. cruzi* cause obesidade, que indivíduos obesos tenham uma maior probabilidade de desenvolver sintomas como a cardiomiopatia chagásica ou ainda que a carga parasitária seja mais elevada em caso de sobrepeso (Combs *et al.*, 2005; Ferreira *et al.*, 2011; Nagajyothi; Desruisseaux, *et al.*, 2012), mas sabe-se que a dieta hiperlipídica (DHL) é pro-inflamatória no tecido adiposo (Zaki *et al.*, 2020).

Alguns estudos sugerem uma relação entre índice de massa corporal (IMC) e prognóstico da DC. Fonseca *et al.* (2020) avaliaram a influência da composição corporal e força muscular em coorte de pacientes com DC e observaram que eles apresentavam diminuição da massa gorda e comprometimento da força muscular em comparação com pacientes com insuficiência cardíaca isquêmica apenas (Fonseca *et al.*, 2010). Em modelo de camundongos transgênicos com redução de TA e infectados por *T. cruzi*, foi encontrado maior número de parasitos no coração, maior comprometimento cardíaco (Zaki *et al.*, 2020; Lizardo *et al.*, 2021) e menor sobrevida nas fases aguda e crônica da infecção (Lizardo *et al.*, 2021).

Diante disso, associado ao fato de que a taxa de invasão celular de *T. cruzi* depende dos níveis de colesterol do hospedeiro e que o parasito tem alta afinidade por lipídios e lipoproteínas (Combs *et al.*, 2005), estudos com animais infectados e submetidos a dieta com alto nível de gordura tem sido realizados com resultados contraditórios. Nagajyothi *et al.* (2014) demonstraram que durante a infecção aguda por *T. cruzi*, a DHL aumentou a adipogênese e reduziu a lipólise, diminuindo o número de parasitos circulantes e no coração, mas com aumento da carga parasitária no TAB. Além disso, os camundongos alimentados com DHL apresentaram uma taxa de sobrevivência aumentada com dano cardíaco diminuído, sugerindo um efeito protetor deste tipo de dieta durante os estágios iniciais da infecção (Nagajyothi *et al.*, 2014). Contrariamente, Figueiredo *et al.* (2018) mostraram aumento na parasitemia a partir de 17 dpi em

camundongos submetidos à DHL e infectados (Figueiredo *et al.*, 2018). Embora Souza *et al.* (2021) não observaram elevação na quantidade de parasitos no sangue em camundongos infectados alimentados com DHL comparado com DP, com 30 dpi, a carga parasitária no coração e no TA aumentou com a DHL. Esses achados sugerem que a DHL provoca alterações metabólicas que favorecem o crescimento e a proliferação de *T. cruzi* nas fases iniciais da infecção (Souza *et al.*, 2021).

A resposta imune do hospedeiro parece ser modulada pela DHL na presença de *T. cruzi* afetando fatores como a carga parasitária, a resposta ao estresse oxidativo e a resposta inflamatória que é diferente nos vários tecidos. Por exemplo, o nível de CCL2, que possui importante função no recrutamento de monócitos, células T e células dendríticas para locais de infecção contribuindo para a manutenção da resposta inflamatória, foi exacerbado no coração e diminuído no TA de camundongos alimentados com DHL com 30 dpi. Da mesma forma, houve uma expressão aumentada no coração do grupo da DHL de Tlr2 e Tlr9, que são proteínas relacionadas ao reconhecimento e resposta às moléculas específicas associadas a patógenos na resposta imunológica (Souza *et al.*, 2021).

Na fase crônica da infecção, Zaki *et al.* (2020) sugeriram uma ligação entre o consumo de DHL, o estado inflamatório no TA e a progressão e gravidade da DC. A presença de infiltrado inflamatório cardíaco foi maior no coração, assim como os níveis séricos de TNF- α em camundongos alimentados com DHL e infectados por *T. cruzi*. Por outro lado, ao realizar ablação do TAB em camundongos, os autores não observaram aumento no número de parasitos, mas houve uma redistribuição de *T. cruzi* em diferentes tecidos, com diminuição da carga parasitária no TAB epididimal. O infiltrado inflamatório cardíaco foi maior nesses animais comparados aos camundongos selvagens (*wild-type*) infectados. Ou seja, a ablação de gordura pode aumentar a resposta inflamatória durante a infecção por *T. cruzi* podendo intensificar os danos cardíacos e a CCC (Zaki *et al.*, 2020).

Segundo Lizardo *et al.* (2019) camundongos submetidos à DHL e infectados por *T. cruzi* são mais suscetíveis às alterações cardíacas na fase crônica tardia (160 dpi), tanto em relação à função dos ventrículos esquerdo e

direito, quanto aos danos teciduais (maior inflamação e hipertrofia). Além disso, a DHL agrava o estresse mitocondrial. Os autores sugerem que isso pode contribuir para a patogênese da CCC (Lizardo *et al.*, 2019).

Também já foi demonstrado que a DHL elevou a detecção de macrófagos no TA, a produção de espécies reativas de oxigênio e a mortalidade dos animais. Os níveis de LDL e colesterol total também aumentaram, contribuindo para a sobrevivência do parasita no hospedeiro e para o aumento da parasitemia (Souza *et al.*, 2020).

Apesar das evidências encontradas, estudos sobre a influência da dieta na evolução da DC ainda são escassos, necessitando de mais pesquisas.

II. JUSTIFICATIVA

A boa alimentação humana favorece a qualidade de vida e a saúde. As mudanças no consumo alimentar mundial geram impactos nesses fatores e, por isso, merecem ser estudados. Desta forma, diversos estudos têm avaliado os efeitos de dietas ricas em gorduras no curso da DC. Entretanto, os resultados ainda não são concludentes.

Além disso, apesar das evidências, pouca atenção tem sido dada à importância clínica e a função do TA na patogênese da DC, principalmente em relação ao TAM. O presente estudo pretende trazer mais informações a esse respeito.

Como o EF melhora a composição corporal, a associação entre DHL e EF é interessante. Dado que o treinamento físico tem a capacidade de reduzir a gordura corporal, ele pode representar uma abordagem diferente para avaliar a função do TA nas infecções por *T. cruzi*.

Sabe-se que o treinamento físico pré-infecção possui efeitos benéficos na DC. Contudo, pouco se sabe sobre o treinamento pós-infecção. Assim, este estudo destaca a importância de se compreender o impacto da DHL e das alterações metabólicas associadas a ela, assim como do treinamento físico aeróbico na patogênese da DC. Se o parasito persiste no TA, ele pode eventualmente deixar esse ambiente protetor, por exemplo, em caso de perda de massa gorda, e entrar na circulação sistêmica, o que o tornaria capaz de invadir outros tecidos e reativar a doença. Trabalhos anteriores reforçam os benefícios do exercício físico quando realizado antes da infecção por *T. cruzi*. No entanto, há uma falta de dados relativos aos possíveis benefícios do treinamento físico após a infecção pelo parasito.

Compreender como o *T. cruzi* interage com o hospedeiro exposto a diferentes condições (de dieta e de nível de atividade física, por exemplo) pode trazer informações valiosas a respeito da evolução da DC. Isso pode ser benéfico para milhões de pacientes com DC, melhorando não apenas sua qualidade de vida, mas também seu prognóstico, além de trazer possibilidades de novas intervenções terapêuticas não farmacológicas.

III. OBJETIVO

1. Objetivo Geral

O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar os efeitos da DHL na DC experimental e analisar a capacidade de treinamento físico na fase aguda da infecção. Além disso, verificar a influência desses dois fatores no prognóstico da doença em modelo animal (*Mus musculus*) infectado por *T. cruzi*.

2. Objetivos Específicos

Os objetivos específicos foram:

- Verificar a influência da infecção aguda por *T. cruzi* na capacidade aeróbica máxima de camundongos.
- Avaliar se com a DHL e/ou com a infecção por *T. cruzi* existe modificação na força muscular após 6 semanas de treinamento físico.
- Investigar os efeitos a longo prazo do treinamento físico em camundongos infectados ou não por *T. cruzi*.
- Avaliar a influência da DHL e do treinamento físico realizado na fase aguda da infecção no tropismo tecidual do parasito.
- Verificar possíveis alterações nos tecidos cardíaco, adiposo branco, adiposo marrom e intestino decorrentes da DHL, da infecção e/ou do treinamento.

IV. MÉTODOS

1. Grupo experimentais

Trata-se de um estudo experimental randomizado prospectivo no qual foram utilizados 71 camundongos da linhagem BALB/c fêmeas uniformes quanto ao peso e a idade (4 a 5 semanas). Os animais foram mantidos em rack ventilado (Alesco, Viracopos, SP) no biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (FM/UnB) com ciclo claro/escuro de 12h à temperatura ambiente ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), além de alimento e água disponíveis *ad libitum*. O projeto foi realizado de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) com aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da UnB (CEUA/UnB) protocolo números 23106.082680/2017- 45 e 122/2019 (Anexos I e II).

Os camundongos foram divididos de forma aleatória em dois grandes grupos com um dos seguintes regimes alimentares: dieta padrão comercial (DP) (normolipídica, 4% de lipídios) (Supralab, Supra, Itajaí, SC) (Apêndice I) ou dieta hiperlipídica (DHL) (60% das calorias provenientes de lipídeos) (Prag® solutions, Biosciences, Jaú, SP) (Anexo III) (Souza *et al.*, 2020). Este padrão dietético foi iniciado com 4 ou 5 semanas de vida dos camundongos e foi considerado com o dia experimental zero (d0). As dietas foram mantidas durante todo o período experimental.

Os animais submetidos à DP foram divididos nos seguintes subgrupos:

- Camundongos não infectados por *T. cruzi* e não submetidos ao treinamento físico (DP_NI_NT) (n = 10).
- Camundongos infectados por *T. cruzi* e não submetidos ao treinamento físico (DP_I_NT) (n = 8).
- Camundongos não infectados e submetidos ao treinamento físico (DP_NI_T) (n = 7).

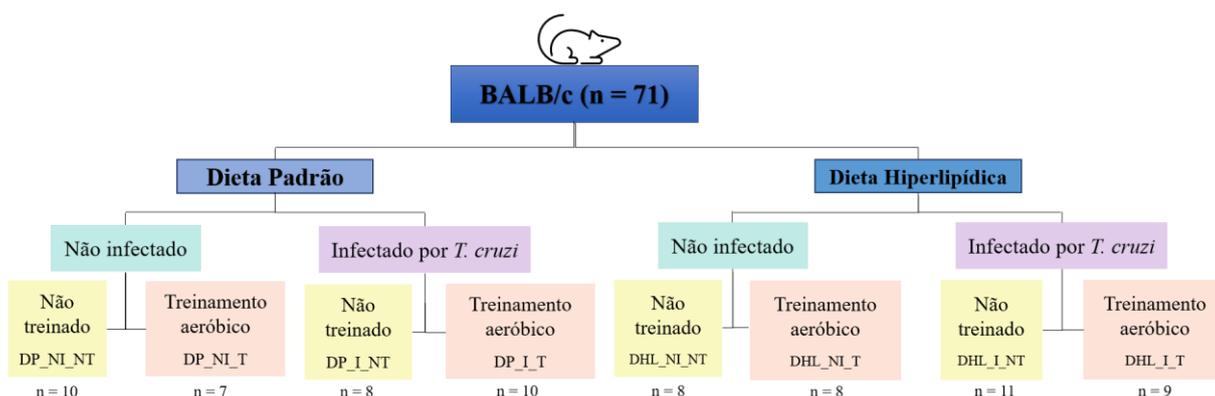
- Camundongos infectados e submetidos ao treinamento físico (DP_I_T) (n = 10).

Os animais submetidos à DHL foram divididos nos seguintes subgrupos:

- Camundongos não infectados por *T. cruzi* e não submetidos ao treinamento físico (DHL_NI_NT) (n = 8).
- Camundongos infectados por *T. cruzi* e não submetidos ao treinamento físico (DHL_I_NT) (n = 11).
- Camundongos não infectados e submetidos ao treinamento físico (DHL_NI_T) (n = 8).
- Camundongos infectados por *T. cruzi* e submetidos ao treinamento físico (DHL_I_T) (n = 10).

A Figura 10 ilustra o desenho experimental do estudo.

A



B

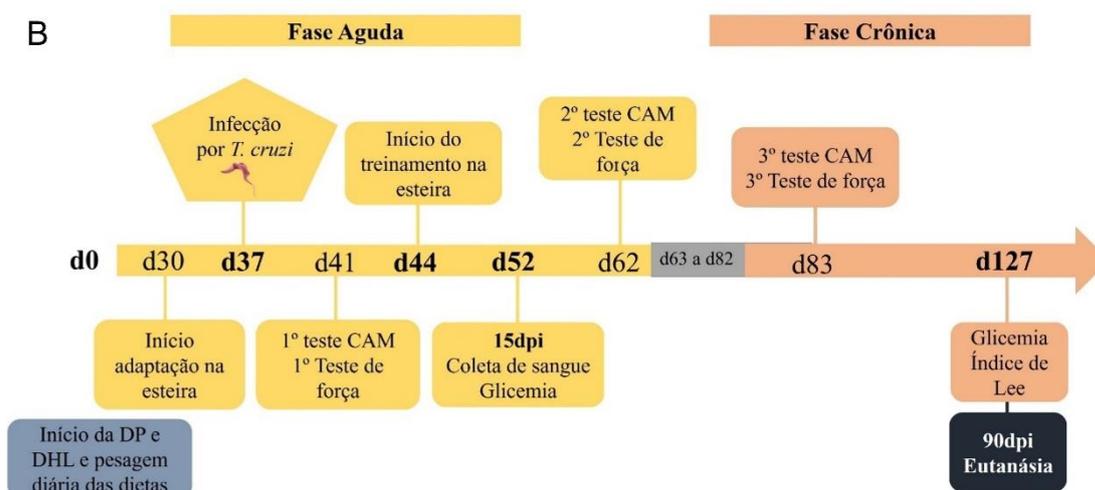


Figura 10. Desenho experimental. (A) Representação esquemática dos grupos experimentais. (B) Linha do tempo com os principais experimentos realizados. Fonte: autoria própria.

2. Infecção por *Trypanosoma cruzi*

Para a infecção dos camundongos foram utilizadas formas tripomastigotas de *T. cruzi* da cepa colombiana mantidas em cultura de células musculares esqueléticas de *Rattus norvegicus*, linhagem L6, em meio mínimo essencial (DMEM), pH 7,2 acrescido de soro fetal bovino (SFB) a 10%, 100 UI/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina sob atmosfera de CO₂ a 5% e à temperatura de 37°C, após duas passagens por camundongos C57BL/6. Os animais foram inoculados por via intraperitoneal (i.p.) com 5x10⁵ parasitas diluídos em DMEM após contagem dos parasitos em câmara de Neubauer. A

inoculação com *T. cruzi* dos camundongos dos grupos infectados ocorreu após a quinta semana de consumo de DP ou DHL (d37).

Para confirmação da infecção, a parasitemia no sangue periférico foi verificada a partir do 8º dia de infecção por meio da pesquisa a fresco de *T. cruzi*. Foi obtida uma gota de sangue pela secção da cauda do camundongo e colocada em lâmina contendo 10µL de anticoagulante (citrato de sódio; Sigma-Aldrich) coberta em seguida com lamínula. A lâmina foi observada ao microscópio óptico, em objetiva de 40X, à procura do parasito segundo metodologia descrita por Brener (1962).

3. Protocolo de treinamento físico e teste de capacidade aeróbica máxima

Os animais dos grupos DP_NI_T, DP_I_T, DHL_NI_T e DHL_I_T participaram do programa de treinamento aeróbico de intensidade moderada em esteira rolante (AVS Projetos, São Carlos, SP) (Figura 11). Para adaptação e reconhecimento, foi utilizado o protocolo adaptado de Picoli *et al* (2018) no qual os animais iniciavam caminhando a velocidade de 8 cm/s e a cada dois minutos a velocidade aumentava 1 cm/s até a velocidade final de 13 cm/s. A adaptação a esteira aconteceu durante dez dias (d30 a d40).

Imediatamente após o período de adaptação (d41), foi estimada a capacidade aeróbica máxima (CAM) através de um teste de corrida em esteira rolante com intensidade crescente até exaustão. A avaliação da CAM foi conduzida mediante o seguinte procedimento: os camundongos eram submetidos a um aquecimento de 5 min em uma velocidade inicial de 10 cm/s e depois a velocidade era aumentada em mais 9 cm/s a cada três minutos até o esgotamento, determinado quando o animal não conseguia mais manter o padrão mecânico da corrida (Picoli *et al.*, 2018).

A estimativa indireta da CAM foi possível, pois existe uma correlação positiva entre a velocidade de corrida e o consumo de oxigênio em camundongos (Fernando *et al.*, 1993; Rodrigues *et al.*, 2007). A CAM foi determinada pela seguinte fórmula: $V_{\text{peak}_K} = (V + t/T \times \text{aumento da velocidade})$, onde V_{peak_K} é a

velocidade máxima de corrida (cm/s), V é a velocidade correspondente ao último estágio completo (cm/s), t é o tempo (s) do estágio não completado e T é o tempo do estágio completo (180 s). O aumento da velocidade correspondeu a 9 cm/s (Picoli *et al.*, 2018).

Depois de determinar a CAM individualizada para cada camundongo (a partir da velocidade máxima de corrida - V_{peak_K}), os que pertenciam aos grupos treinados foram submetidos a um programa de treinamento de intensidade moderada, consistindo em sessões diárias com uma intensidade equivalente a 60% da V_{peak_K} estimada conforme descrito anteriormente. Essas sessões aconteceram cinco vezes por semana (de segunda a sexta), durante um total de seis semanas (d44 a d83). A avaliação da CAM foi repetida após três semanas de treino para ajuste da intensidade (metade do tempo de protocolo) e novamente ao término do período de treinamento. Os grupos não submetidos ao treinamento físico (DP_NI_NT, DP_I_NT, DHL_NI_NT e DHL_I_NT) também realizaram a adaptação à esteira e os testes de CAM em períodos experimentais equivalentes aos grupos treinados.

Os dias em que foram realizados os testes CAM foram considerados como uma sessão de treinamento. Todos os procedimentos foram feitos com a esteira sem inclinação (inclinação de 0%) (Picoli *et al.*, 2018).

Durante o período de adaptação, teste de CAM e treinamento foram realizadas avaliações diárias de caráter quantitativo e qualitativo sobre o desempenho de cada camundongos na esteira. Foi utilizado uma escala do tipo *Likert* de avaliação da tolerância ao esforço de 4 pontos da seguinte maneira: (1) Não treinou; (2) Treinou, mas necessitou de muito estímulo externo; (3) Treinou com um pouco de estímulo externo e (4) Treinou bem sem necessidade de estímulo. Em nenhum momento foi utilizado choque para estimular os camundongos a correrem. Os estímulos eram feitos com pipetas graduadas de plástico.



Figura 11. Esteira ergométrica utilizada nos experimentos. A. Visão global da esteira. Fonte: <https://www.avsprojetos.com.br/product-page/esteira-para-m%C3%BAltiplos-roedores>. B. Camundongo correndo na esteira. Fonte: Autoria própria.

4. Teste de preensão de membros

Para análise da força muscular dos camundongos foi realizado o teste de força de tração ou preensão de membros anteriores e posteriores (Personius *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2020). Cada teste de força foi executado algumas horas antes dos testes de CAM. Ou seja, em três momentos diferentes: 1) antes do início do treinamento físico em esteira rolante; 2) após três semanas de treinamento e (3) após seis semanas de corrida para os grupos treinados e em datas equivalentes para os animais não treinados.

Foi utilizado o *Grip Strength Meter* (Bonther, Ribeirão Preto, SP) para medida das seguintes variáveis: pico de força, pico de força relativo (normalizado pelo peso corporal), queda da força, queda da força relativa (normalizada pelo peso corporal) e tempo de preensão. Este método não invasivo se baseia na tendência natural dos camundongos em agarrar uma barra de metal horizontal quando levemente puxados pela cauda. A barra é acoplada a um transdutor de força que mede o pico de tração (em gramas-força) (Figura 12). O aparelho é conectado a um computador e através do software da empresa, os dados são registrados, assim como os gráficos (tempo versus força).



Figura 12. Teste de preensão de membros anteriores e posteriores. Fonte: acervo do autor (2023).

O medidor de força foi calibrado para 0 g após a estabilização em cada teste. Os camundongos foram posicionados horizontalmente na barra de preensão (Figura 12). Foram realizadas seis tentativas com duração de 10s cada e intervalo de cerca de 3s entre elas. Para a análise dos dados, foram excluídas as tentativas com maior e menor pico de força relativa, sendo considerada a média das outras quatro tentativas. A ordem de teste dos camundongos em cada dia foi aleatória. Todos os testes foram realizados pelo mesmo pesquisador para garantir maior reprodutibilidade.

A Figura 13 resume o protocolo de exercício e o teste de força.



Figura 13. Protocolo de treinamento físico e teste de prensão de membros. Fonte: autoria própria (2023).

5. Acompanhamento da ingestão de alimento e do peso corporal

O peso corporal de todos os animais foi acompanhado semanalmente, enquanto a ingestão alimentar de cada caixa ($n = 2$ a 4 animais por caixa) foi registrada diariamente ao longo de todo o período experimental com auxílio de uma balança de precisão (BEL *Engineering*, Piracicaba, SP). A ingestão diária foi dividida pelo número de camundongos dentro da caixa acrílica, de maneira a normalizar os resultados independentemente da quantidade de animais alojados juntos. A composição corporal no final do período experimental foi avaliada pelo Índice de Lee a partir da fórmula: $[\sqrt[3]{\text{Peso (g)}/\text{comprimento nasoanal (cm)}}]$ (Novelli *et al.*, 2007).

6. Acompanhamento glicêmico

Todos os animais tiveram seus índices glicêmicos avaliados periodicamente para controle de doenças metabólicas. Para isso, foram coletados 5 μ L de sangue da parte distal da cauda que foi colocada em fita reagente (Accu-Chek Active, Roche) conectada ao glicosímetro (Accu-Chek Performa, Roche) (limite de detecção entre 10 e 600mg/dL).

7. Colheita de sangue

Para os animais infectados, com 15 dpi (d52), foi realizada a colheita de sangue via orbital para estimativa da carga parasitária por meio de PCR em tempo real (qPCR). Os camundongos foram anestesiados com cloridrato de cetamina a 10% e cloridrato de xilazina a 2% em função do peso corporal (Nobre *et al.*, 2022). Em seguida, com auxílio de um tubo capilar heparinizado, foi feita a colheita do sangue para posterior extração de DNA.

8. Eutanásia e coleta de tecidos

Após 90 dpi (ou em período equivalente - d127 - para os animais não infectados por *T. cruzi*), os camundongos foram anestesiados com cloridrato de cetamina a 10% e cloridrato de xilazina a 2% em função do peso corporal (Nobre *et al.*, 2022). Posteriormente, utilizando uma seringa, foi realizada a colheita de sangue por meio de punção cardíaca visando a obtenção de soro e extração de DNA.

Em seguida, os camundongos foram eutanasiados com superdosagem anestésica (cetamina/xilazina). Foi efetuado um corte na região ventral para retirada de tecido adiposo branco perigonadal (TAB), coração, intestino grosso e tecido adiposo marrom escapular (TAM). Após a retirada desses tecidos, o coração, o TAB e o TAM foram pesados utilizando balança de precisão (BEL *Engineering*, Piracicaba, SP). Com relação ao coração, esse processo possibilitou a avaliação da proporção entre o peso cardíaco e o peso total do organismo. O objetivo foi discernir se havia um aumento do tamanho do coração devido a condições patológicas (ligadas à cardiomiopatia chagásica) ou devido ao treinamento aeróbico.

Uma parte dos órgãos retirados foram macerados em gelo utilizando bisturis e colocados em tubos de microcentrífuga contendo 180µL de tampão de

digestão (Invitrogen™, Massachusetts, EUA) e armazenados a -20°C para posterior extração de DNA, enquanto outra porção foi fixada em formol tamponado a 10% para análise histopatológica.

9. Extração de ácidos nucleicos

9.1 Extração de DNA total de *Trypanosoma cruzi*

Para elaboração da curva de concentração com o objetivo de realizar a quantificação absoluta dos parasitos por qPCR, foi realizada a extração do DNA de *T. cruzi*. Para isso, formas tripomastigotas do parasito foram mantidas em culturas de mioblastos L6 e em DMEM. O sobrenadante proveniente da cultura foi centrifugado a 5000 rpm por 5min e o sedimento foi ressuspensionado em 1 mL de PBS 1X (20mM Tris-HCl pH 7,2; 0,5 NaCl) e transferido para um tubo de 2 mL. Em seguida, foi centrifugado novamente a 5000 rpm por 5min e ressuspensionado em 100 µL de PBS 1X. Foi adicionado 900 µL de tampão de extração (10mM Tris-HCl, pH 8,0, 10mM NaCl, 20mM EDTA, 1% SDS e 1% DTT) e proteinase K na concentração final de 100µg/mL e, então, incubado a 37°C por 12h. Depois disso, foi seguido o protocolo descrito por Sambrook e Russel (2001) no qual foram feitas duas extrações com clorofane e uma com clorofil, respectivamente. Para a precipitação do DNA foi utilizado etanol absoluto 100% (2,5V) gelado (4°C) e, então, o DNA foi lavado duas vezes com etanol 70% gelado. Após secagem do etanol, o DNA foi ressuspensionado em tampão de eluição (TrisHCl 10mM pH 8,0; EDTA 1mM pH 8,0) e adicionado 2 µL de RNase e, então, incubado a 37°C por 12h. A quantificação do DNA obtido foi feita por meio de espectrofotometria com uso do NanoVue Plus® (GE Healthcare Life Science, UK). A qualidade e a pureza do DNA foram analisadas através da relação da absorbância da luz ultravioleta (UV) no comprimento de onda 260/280. Em seguida, o DNA foi identificado e armazenado a -20°C para posterior utilização.

9.2 Extração de DNA dos tecidos coletados

Para isolamento do DNA das amostras de sangue foi usado o kit de extração NucleoSpin Blood (Macherey-Nagel, Düren, DE) seguindo as recomendações do fabricante. Em síntese, foi utilizado 200 µL de sangue que ficou incubado em banho-maria por 30min, com duas etapas de lavagem e eluição do DNA extraído em 60 µL de tampão de eluição.

O isolamento de DNA das amostras dos outros tecidos (coração, TAB, TAM e intestino grosso) foi realizado com kit de extração PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen™, Massachusetts, EUA) conforme recomendações do fabricante. Em resumo, foi utilizado 25 mg de tecido para obtenção do DNA genômico. As amostras ficaram de quatro a seis horas no banho-maria, passaram por duas etapas de lavagem e eluição do DNA extraído em 50 µL de tampão de eluição.

Após as extrações, foi feita a quantificação da concentração do DNA por meio de espectrofotometria com uso do NanoVue Plus® (GE Healthcare Life Science, UK). Foi usado 3 µL de cada amostra. A qualidade e a pureza do DNA foram analisadas através da relação da absorbância da luz UV no comprimento de onda 260/280. Em seguida o DNA foi identificado e armazenado a -20°C para posterior utilização.

10. PCR em tempo real

10.1 Quantificação absoluta da carga parasitária

10.1.1 Curva Padrão

Para determinar o número de ciclos necessários para a detecção da fluorescência usando o sistema de detecção com corante intercalante SYBR

Green e calcular a concentração absoluta de uma amostra, é necessário criar uma curva padrão relacionando os valores do ciclo de quantificação (C_q, do inglês *quantification cycle*) e o logaritmo (log) do número inicial de cópias (que são inversamente proporcionais). O C_q representa o ciclo em que a amplificação exponencial atinge uma intensidade de fluorescência acima do limite de detecção. Dessa maneira, foi desenvolvida uma curva padrão para a quantificação absoluta do DNA de *T. cruzi* presente nos tecidos coletados dos camundongos. Para isso, foi feita uma diluição seriada (1:10) com o DNA do parasito para obter amostras contendo 10⁵ a 10⁻¹ parasitas equivalentes/mL (par. eq./mL). Então, foi realizada a qPCR com os iniciadores TcZ3 (5' TGC ACT CGG CTG ATC GTT T 3') e TcZ4 (5'-ATT CCT CCA AGC AGC GGA TA 3') que são direcionados às sequências altamente repetitivas do DNA nuclear (nDNA) de *T. cruzi*, gerando um produto de aproximadamente 168 pb (Ndao *et al.*, 2000).

A eficiência da curva padrão foi 105,3%. A curva padrão foi armazenada e utilizada para quantificação da carga parasitária através da equação da reta ($y = ax + b$; onde y é o C_q da amostra; x é a quantidade do produto amplificado a ser calculada; a é o coeficiente angular da reta e b é o coeficiente linear). Para evitar diferenças entre as placas de diferentes corridas, uma amostra de DNA total de *T. cruzi* foi incluída em cada corrida e utilizadas como calibrador, aplicando um fator de correção entre cada ensaio, de acordo com Ruijter *et al.* (2015).

10.2 Reação em cadeia da polimerase em tempo real

A carga parasitária do sangue, coração, TAB, TAM e intestino foi determinada por meio de qPCR através da quantificação absoluta do nDNA de *T. cruzi*. Utilizou-se 100 ng de DNA do camundongo; 0,2 μM de cada iniciador (TcZ3 e TcZ4) e 10 μL de Power SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific/Fermentas, CA, USA), em um volume final de 20 μL. As qPCRs foram realizadas em placas de 96 poços (Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmp®) em duplicata no termociclador StepOne Plus (Applied Biosystems, CA, USA) nas seguintes condições: 2 min a 50°C (devido a presença de dUTP no master mix), 10 min em 95°C, 15 seg em 95°C, 45 seg em 60°C e 10 seg em

72°C (esses três últimos repetidos 40 vezes). Para a formação da curva de dissociação foi utilizado o seguinte: 95°C por 15 seg; 60°C por 1 min e 95°C por 15 seg. Em todas as reações foram incluídos dois controles negativos (amostra sem DNA - branco - e amostra de camundongo sabidamente negativa para *T. cruzi*), além de uma amostra de *T. cruzi* usada na curva padrão.

11. Dosagem de citocinas

Citocinas pertencentes aos perfis Th1 (INF- γ , IL-2, TNF- α), Th2 (IL-6, IL-4, IL-10) e Th17 (IL-17) foram dosadas por citometria de fluxo nas amostras de soro coletadas no momento da eutanásia. Para isso, foi utilizado o kit comercial *Cytometry Bead Array (CBA) Mouse Th1/Th2/Th17* (BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. Resumidamente, foram utilizados 25 μ L das amostras de soro que foram adicionados a um tubo eppendorf contendo 25 μ L de solução das *beads* de captura revestidas com anticorpos monoclonais específicos para cada citocina. Em seguida, foram acrescentados 25 μ L do reagente de detecção, composto por anticorpos monoclonais específicos para as citocinas a serem testadas, conjugados com ficoeritrina. Após incubação de 2 h à temperatura ambiente, protegida da luz, adicionou-se 500 μ L de tampão de lavagem a cada amostra, seguido de centrifugação a 200g por 7 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspenso em 200 μ L de tampão de lavagem.

A quantificação em pg/mL de cada citocina foi baseada em uma curva de calibração realizada com diluições conhecidas de cada citocina (0; 20; 40; 80; 156; 312,5; 625; 1250; 2500 e 5000pg/mL). A intensidade de fluorescência em cada amostra foi capturada no citômetro de fluxo BD LRS II Fortaleza Cell Analyser (BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ, EUA) usando o programa DIVA versão 7 (BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ, EUA). Os dados de fluorescência foram processados usando o programa FCAP array versão 3 (BD Bioscience, Franklin Lakes, NJ, EUA).

12. Histopatologia

Parte dos órgãos coletados (coração, intestino grosso, TAB e TAM) foram destinados à análise histopatológica. Esses tecidos foram fixados em formaldeído tamponado a 10% e depois desidratados através de uma série de concentrações ascendentes de etanol, diafanizadas com xileno e incorporados em parafina. Três cortes seriados de 5 µm utilizando micrótomo Leica RM2125 RTS (Leica Biosystems, Nubloch, Alemanha) foram realizados. As lâminas resultantes foram submetidas à coloração com hematoxilina e eosina (HE). Posteriormente, as lâminas foram examinadas pelo mesmo pesquisador utilizando microscópio óptico Olympus CX41 modelo 3D, (TurboSquid, New Orleans, EUA) em objetiva de 40X. O ScanScope (Aperio®) foi utilizado para registro das imagens.

A avaliação da resposta tecidual envolveu uma análise detalhada tanto qualitativa quanto semi-quantitativa dos tecidos. Nesse processo, atribuiu-se uma pontuação para a intensidade de necrose e fibrose dos cardiomiócitos, infiltrado mononuclear perivascular multifocal cardíaco, infiltrado mononuclear intersticial multifocal do coração, TAB e TAM e infiltrado inflamatório mononuclear multifocal do intestino. As pontuações variaram de 0 (indicando ausência); 1 (indicando leve - correspondendo a 2 a 15% de toda a secção); 2 (indicando moderado - correspondendo a 16 a 60% de toda a secção) e 3 (indicando grave - correspondendo a mais de 60% da secção). Utilizaram-se os valores numéricos de cada um desses parâmetros em cada animal dos diferentes grupos experimentais para fins de análise estatística.

13. Análises estatísticas

O experimento seguiu um planejamento fatorial [2 dietas (DP e DHL) x 2 estados de infecção (infectado e não infectado) x 2 estados de exercício (treinado e não treinado)]. Para estas 6 combinações (2 dietas x 2 estados de

infecção x 2 estados de exercício) houve pelo menos cinco camundongos como replicata. Todas as análises estatísticas foram realizadas no SAS® (v9.4, Cary, Carolina do Norte) com nível de significância de 5%. Os dados coletados foram submetidos à análise de normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk. Aqueles que exibiram uma distribuição normal foram sujeitos à análise de variância, seguida pela comparação das médias usando o teste de Tukey. Os dados que não se apresentaram com distribuição normal foram submetidos a transformações matemáticas apropriadas, ou em alternativa, foram analisados por meio de métodos não paramétricos. Os dados não paramétricos foram analisados usando PROC GLIMMIX usando dieta, infecção e treinamento como variáveis independentes. O teste de Kruskal-Wallis ou o teste de Wilcoxon foram empregados para investigar possíveis diferenças significativas entre os grupos experimentais.

V. RESULTADOS

1. Consumo alimentar, peso e composição corporal

Todos os grupos experimentais tiveram os seguintes parâmetros corporais avaliados: consumo da dieta, peso inicial, peso final, ganho de peso relativo (peso final/peso inicial), taxa metabólica inicial (peso inicial^{0,75}) e taxa metabólica final (peso final^{0,75}). Além disso, na eutanásia o peso do coração, do TAB perigonadal e do TAM subescapular foram avaliados, assim como o peso relativo de cada um desses tecidos (peso do órgão/peso corporal final) e o índice de Lee (Tabela 1).

A ingestão alimentar foi significativamente maior ($p < 0,0001$) nos grupos submetidos à DP ($3,459 \pm 0,517$ g/dia/animal) em relação aos grupos com DHL ($1,712 \pm 0,280$ g/dia/animal). Entretanto, o peso corporal inicial e final foi similar entre os grupos. Os animais infectados apresentaram maior ganho de peso relativo que os NI, independentemente do tipo de dieta e da realização do treinamento físico ($1,337 \pm 0,261$ g e $1,223 \pm 0,198$ g, respectivamente; efeito da infecção, $p = 0,05$).

O peso corporal final foi mais elevado que o peso inicial ($p < 0,05$) em todos os grupos experimentais, com exceção dos treinados submetidos a dieta regular (DP_NI_T e DP_I_T) e do grupo DHL_NI_NT. Nesses três grupos, a diferença no peso corporal não foi significativa no início e no final do experimento. O mesmo resultado foi encontrado em relação a taxa metabólica inicial e final.

No momento da eutanásia o coração, o TAB perigonadal e o TAM subescapular de cada animal foi pesado. O peso do coração e a relação peso corporal final/peso do coração não foram diferentes entre os grupos. Já o peso do TAB foi significativamente superior nos animais submetidos a DHL comparado aos alimentados com DP ($0,610 \pm 0,582$ mg e $0,362 \pm 0,260$ mg, respectivamente; efeito da dieta, $p = 0,01$). Um efeito significativo da infecção também foi visto ($p = 0,032$), com os animais NI apresentando maior quantidade

de TAB que os I ($0,593 \pm 0,593$ mg e $0,391 \pm 0,287$ mg, respectivamente). A notar, houve uma grande variação do peso do TAB dentro dos grupos, como pode ser observado pelo desvio padrão importante. O efeito significativo da dieta ($p = 0,003$) e da infecção ($p = 0,021$) também foi encontrado ao se calcular o peso do TAB em relação ao peso corporal final (DHL $0,023 \pm 0,018$ mg e DP $0,014 \pm 0,009$ mg; efeito da dieta e I $0,015 \pm 0,010$ mg e NI $0,022 \pm 0,018$ mg; efeito da infecção).

Em relação ao peso do TAM, apenas o efeito da dieta foi significativo ($p = 0,004$). Assim como observado no TAB, os animais submetidos à DHL apresentaram maior quantidade de TAM que os submetidos à DP ($0,107 \pm 0,064$ mg e $0,066 \pm 0,069$ mg, respectivamente). A razão peso corporal final/peso TAM também apresentou efeito da dieta (DHL $0,004 \pm 0,003$ mg e DP $0,003 \pm 0,003$; $p = 0,004$).

A composição corporal foi avaliada pelo índice de Lee que serve como medida de obesidade em murinos. Não houve diferença significativa entre os grupos experimentais ($p = 0,808$). O índice de Lee abaixo $0,300$ g/cm é considerado o padrão normal para roedores (Bernardis; Patterson, 1968). No presente estudo a média geral foi de $0,307 \pm 0,017$ g/cm.

Tabela 1. Parâmetros relativos à composição corporal dos grupos experimentais coletados durante o estudo.

	DP_NI_NT	DP_I_NT	DP_NI_T	DP_I_T	DHL_NI_NT	DHL_I_NT	DHL_NI_T	DHL_I_T
Peso inicial	19,946 ±2,239	16,790 ±3,970	18,498 ±2,002	19,457 ±3,115	18,1776 ±2,815	16,852 ±1,809	19,657 ±1,740	18,741 ±2,422
Peso final	24,328 ±4,511*	23,112 ±4,593*	20,240 ±6,063	23,480 ±4,866	22,468 ±6,516	24,008 ±3,872*	26,310 ±1,239*	23,504 ±3,216*
Peso final/peso inicial	1,213 ±0,128	1,429 ±0,381	1,084 ±0,241	1,207 ±0,169	1,229 ±0,253	1,425 ±0,183	1,344 ±0,087	1,285 ±0,303
TM inicial	9,429 ±0,780	8,258 ±1,482	8,912 ±0,720	9,244 ±1,120	8,786 ±1,017	8,309 ±0,671	9,330 ±0,612	8,994 ±0,876
TM final	10,922 ±1,535**	10,507 ±1,600**	9,480 ±2,115	10,627 ±1,690	10,254 ±2,189	10,821 ±1,322**	11,615 ±0,409**	10,658 ±1,102**
Peso TAB	0,426 ±0,264	0,219 ±0,219	0,383 ±0,285	0,383 ±0,265	0,714 ±1,115	0,451 ±0,282	0,949 ±0,323	0,460 ±0,342
Peso relativo TAB	0,017 ±0,009	0,008 ±0,008	0,015 ±0,010	0,015 ±0,009	0,024 ±0,031	0,018 ±0,010	0,036 ±0,012	0,019 ±0,012
Peso TAM	0,078 ±0,025	0,060 ±0,023	0,053 ±0,023	0,053 ±0,023	0,099 ±0,143	0,085 ±0,061	0,144 ±0,071	0,098 ±0,050
Peso relativo TAM	0,003 ±0,001	0,003 ±0,001	0,002 ±0,001	0,002 ±0,001	0,004 ±0,005	0,004 ±0,002	0,006 ±0,003	0,004 ±0,002
Peso coração	0,115 ±0,026	0,112 ±0,023	0,107 ±0,040	0,124 ±0,033	0,113 ±0,018	0,115 ±0,034	0,126 ±0,042	0,137 ±0,032
Peso relativo coração	0,005 ±0,001	0,005 ±0,002	0,005 ±0,002	0,005 ±0,001	0,005 ±0,001	0,005 ±0,001	0,005 ±0,002	0,006 ±0,001
Índice de Lee	0,314 ±0,020	0,309 ±0,009	0,304 ±0,026	0,305 ±0,015	0,301 ±0,020	0,304 ±0,016	0,307 ±0,009	0,314 ±0,020

Pesos em gramas. Valores em média ± desvio padrão.

*Indica diferença estatística em comparação ao peso corporal inicial ($p < 0,05$). **Indica diferença estatística em relação a Taxa metabólica inicial ($p < 0,05$).

TM: Taxa metabólica. DP_NI_NT: grupo submetido a dieta padrão, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DP_I_NT: dieta padrão, infectado e não treinado. DP_NI_T: dieta padrão, não infectado e treinado. DP_I_T: dieta padrão, infectado e treinado. DHL_NI_NT: grupo submetido a dieta hiperlipídica, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DHL_I_NT: dieta hiperlipídica, infectado e não treinado. DHL_NI_T: dieta hiperlipídica, não infectado e treinado. DHL_I_T: dieta hiperlipídica, infectado e treinado.

2. Glicemia sanguínea

Todos os animais tiveram seus índices glicêmicos avaliados para controle de doenças metabólicas algumas vezes durante o período experimental. No momento da eutanásia foi observado um efeito significativo da dieta ($p = 0,043$), com os camundongos submetidos à DHL com valores superiores de glicemia quando comparados aos alimentados com DP ($152,543 \pm 51,221$ mg/dL e $134,571 \pm 36,797$ mg/dL, respectivamente).

3. Capacidade aeróbica máxima

A CAM foi estimada através da velocidade máxima de corrida (V_{peak_K}). O primeiro teste foi realizado após 4 semanas de DP ou DHL e em 4 dpi para os grupos infectados. Nesse momento a V_{peak_K} foi diferente entre os grupos DP_I_T e DHL_I_T ($41,405 \pm 4,296$ cm/s e $50,738 \pm 4,855$ cm/s, respectivamente; $p = 0,002$).

Após 3 semanas de treinamento aeróbico moderado em esteira rolante e em período equivalente para os grupos NT, um segundo teste incremental para determinação da CAM foi realizado. Uma interação significativa foi observada entre dieta e treinamento ($p = 0,008$), com os animais DHL_T apresentando CAM superior aos DP_NT (V_{peak_K} de $49,481 \pm 7,680$ cm/s e $44,138 \pm 6,680$ cm/s, respectivamente). Houve um efeito da dieta ($p = 0,0276$) no 2º teste CAM, com os animais submetidos à DHL apresentando valores superiores de V_{peak_K} comparados aos alimentados com DP ($47,606 \pm 10,767$ cm/s e $42,060 \pm 7,079$ cm/s, respectivamente). Ademais, como esperado, os valores encontrados para os camundongos treinados ($46,788 \pm 7,782$ cm/s) foram superiores aos NT ($43,111 \pm 10,631$ cm/s) (efeito do treinamento, $p = 0,0167$).

Já no último teste, após 6 semanas de treinamento e em período equivalente para os grupos NT, uma interação significativa entre infecção e treinamento foi encontrada ($p < 0,05$). Como era de se esperar, os camundongos NI_T tiveram V_{peak_K} significativamente superior comparados aos NI_NT ($46,774$

$\pm 6,743$ cm/s \neq $39,389 \pm 6,411$ cm/s, respectivamente). A CAM tendeu a ser mais elevada nos I_T (V_{peak_K} de $42,687 \pm 6,537$ cm/s) em relação aos I_NT (V_{peak_K} de $39,190 \pm 5,953$ cm/s) ($p = 0,058$). Mais uma vez, conforme esperado, os animais treinados mostraram CAM superior aos NT ($44,490 \pm 6,844$ cm/s e $39,287 \pm 6,094$ cm/s, respectivamente; efeito do treinamento, $p = 0,0041$).

Ao se confrontar os três testes (1º e 2º; 2º e 3º e 1º e 3º) foi encontrado um efeito significativo do treinamento físico ($p < 0,05$) em todas as comparações, mostrando que a CAM piorou ao longo do tempo nos camundongos NT (CAM Teste 1 > CAM Teste 2 > CAM Teste 3). A CAM se manteve nos valores pré-treinamento após o período de 6 semanas de corrida em esteira nos animais submetidos ao exercício.

Houve redução significativa na CAM após o período de seis semanas nos grupos DP_NI_NT ($44,327 \pm 11,057$ cm/s no 1º teste e $37,284 \pm 7,478$ cm/s no último; $p = 0,011$), DP_I_NT ($44,208 \pm 5,213$ cm/s no 1º teste e $37,763 \pm 5,714$ cm/s no último; $p = 0,005$) e DHL_I_T ($50,738 \pm 4,855$ cm/s no 1º teste e $44,532 \pm 8,808$ cm/s no último; $p = 0,019$). Nos outros grupos a CAM se manteve ao longo do tempo.

Tabela 2. Velocidades máxima de corrida obtidas nos testes incrementais para determinação da capacidade aeróbica máxima em camundongos treinados e não treinados

Grupo experimental	1º teste CAM*	2º Teste CAM*	3º Teste CAM*
DP_NI_NT	$44,327 \pm 11,057^{A,B,C,a}$	$39,010 \pm 7,362^{A,a,b}$	$37,284 \pm 7,478^{A,b}$
DP_I_NT	$44,208 \pm 5,213^{A,B,a}$	$41,548 \pm 5,882^{A,B,a,b}$	$37,763 \pm 5,714^{A,B,b}$
DP_NI_T	$48,820 \pm 11,603^{A,B,C,a}$	$42,871 \pm 6,610^{A,B,C,a}$	$44,956 \pm 4,310^{C,a}$
DP_I_T	$41,405 \pm 4,296^{A,a}$	$44,952 \pm 7,662^{A,B,C,a}$	$41,026 \pm 3,166^{A,B,C,a}$
DHL_NI_NT	$46,535 \pm 10,813^{A,B,C,a}$	$47,766 \pm 11,748^{A,B,C,a}$	$42,020 \pm 3,696^{A,C,a}$
DHL_I_NT	$45,644 \pm 14,383^{A,B,C,a}$	$44,591 \pm 14,097^{A,B,C,a}$	$40,228 \pm 6,174^{A,B,C,a}$
DHL_NI_T	$48,915 \pm 6,444^{B,C,a}$	$48,675 \pm 8,194^{B,C,a}$	$48,365 \pm 8,296^{D,a}$
DHL_I_T	$50,738 \pm 4,855^{C,a}$	$50,197 \pm 7,616^{C,a}$	$44,532 \pm 8,808^{A,C,b}$

*Valores correspondem à velocidade máxima de corrida (V_{peak_K}) em cm/s. Dados em média \pm desvio-padrão.

Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Diferentes letras minúsculas na mesma linha são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

CAM: capacidade aeróbica máxima. DP_NI_NT: grupo submetido a dieta padrão, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DP_I_NT: dieta padrão, infectado e não treinado. DP_NI_T: dieta padrão, não infectado e treinado. DP_I_T: dieta padrão, infectado e treinado. DHL_NI_NT: grupo submetido a dieta hiperlipídica, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DHL_I_NT: dieta hiperlipídica, infectado e não treinado. DHL_NI_T: dieta hiperlipídica, não infectado e treinado. DHL_I_T: dieta hiperlipídica, infectado e treinado.

4. Teste de força

Os testes de prensão manual foram realizados nos mesmos dias dos testes CAM. No primeiro teste, realizado após 4 semanas de DP ou DHL, houve um efeito significativo da dieta no pico de força ($p < 0,0001$) e no pico de força relativo ($p < 0,0001$). Em ambos os casos, os camundongos com DHL apresentaram valores mais elevados em comparação aos DP ($139,507 \pm 20,897$ gf e $109,812 \pm 25,363$ gf, respectivamente para o pico de força e $6,386 \pm 1,114$ gf e $4,969 \pm 1,479$ gf, respectivamente para o pico de força relativo).

No 3º teste, realizado após 6 semanas de EF, houve uma interação significativa da infecção x treinamento físico no pico de força ($p = 0,0215$). Nos animais NI_NT o pico de força foi maior comparado aos I_NT ($125,053 \pm 24,594$ gf e $123,974 \pm 33,240$ gf, respectivamente). Neste momento, também foi encontrado interação significativa da dieta x infecção ($p = 0,0496$). Os camundongos com DP_NI mostraram maior pico de força que os DHL_NI ($162,458 \pm 31,367$ gf e $140,375 \pm 13,676$ gf, respectivamente). Curiosamente, também foi encontrada diferença significativa nos grupos DHL_NI e DHL_I, mostrando que com este padrão dietético, os camundongos infectados possuem maior grau de força ($163,188 \pm 28,509$ gf para DHL_I x $140,375 \pm 13,676$ gf para DHL_NI; interação dieta x infecção, $p = 0,05$). Entretanto, quando avaliamos o pico de força relativa, essa mesma interação (dieta x infecção) foi significativa ($p = 0,0466$), mas a diferença encontrada foi entre DP_NI e DHL_NI, com os primeiros apresentando valores mais elevados que o segundo ($7,217 \pm 1,763$ gf e $6,118 \pm 1,091$ gf, respectivamente).

Neste mesmo momento (no 3º teste de prensão), a queda da força foi maior nos animais com DP_NI em comparação aos DHL_NI ($45,375 \pm 13,507$ gf e $33,900 \pm 6,665$ gf, respectivamente; interação dieta x infecção, $p = 0,043$).

No 1º teste, a força foi aplicada por mais tempo pelos animais submetidos à DHL ($9,621 \pm 0,279$ s e $9,288 \pm 0,876$ s para DHL e DP, respectivamente; efeito da dieta, $p = 0,0255$). No 2º teste, quando a dieta foi associada ao treinamento, os camundongos com DHL_T tiveram maior tempo de preensão que os DP_T ($9,633 \pm 0,252$ s e $8,594 \pm 1,256$ s, respectivamente; interação dieta x treinamento, $p = 0,0139$). Neste mesmo momento, uma interação infecção x treino também foi encontrada, com NI_NT com tempo de preensão maior que I_NT ($9,657 \pm 0,377$ s x $8,539 \pm 2,533$ s, respectivamente, $p = 0,05$). Já no 3º teste, houve uma interação significativa entre dieta x infecção x treinamento ($p = 0,0160$). As diferenças encontradas podem ser vistas na Tabela 3.

Tabela 3. Dados relativos à força de membros anteriores e posteriores dos camundongos obtidos através do teste de preensão realizados em três tempos distintos

Teste	Variável*	DP_NI_NT	DP_I_NT	DP_NI_T	DP_I_T	DHL_NI_NT	DHL_I_NT	DHL_NI_T	DHL_I_T
1º	Pico de força	113,475 ±22,018	101,094 ±27,313	102,310 ±15,092	118,375 ±31,711	137,917 ±21,490	140,614 ±27,263	142,906 ±13,126	136,722 ±19,968
	Pico de força relativo	5,103 ±1,302	4,537 ±1,416	5,019 ±1,800	5,147 ±1,620	6,644 ±1,412	6,351 ±1,200	6,198 ±0,807	6,337 ±19,968
	Queda de força	36,600 ±6,817	33,281 ±8,048	33,011 ±15,154	36,500 ±9,175	36,667 ±8,888	35,1 59 ±6,268	39,00 ±9,746	38,157 ±8,780
	Queda de força relativa	1,645 ±0,424	1,491 ±0,431	1,534 ±0,554	1,575 ±0,413	1,738 ±0,332	1,614 ±0,413	1,688 ±0,409	1,741 ±0,204
	Tempo de pegada	9,227 ±4,759	9,532 ±0,270	8,881 ±1,100	9,438 ±0,332	9,615 ±0,309	9,585 ±0,345	9,611 ±0,260	9,680 ±0,204
2º	Pico de força	153,500 ±29,862	120,438 ±20,30	139,857 ±12,092	131,150 ±18,796	132,067 ±17,920	126,915 ±58,431	155,344 ±18,655	153,750 ±20,513
	Pico de força relativo	6,541 ±1,520	5,375 ±0,813	6,651 ±1,889	5,641 ±0,962	6,584 ±1,716	28,250 ±45,438	6,601 ±0,7900	7,003 ±1,039
	Queda de força	50,555 ±12,860	37,969 ±12,931	46,643 ±20,610	38,000 ±11,692	39,889 ±13,450	29,508 ±16,537	43,875 ±14,716	35,528 ±12,758
	Queda de força relativa	2,133 ±0,534	1,689 ±0,522	2,139 ±0,806	1,627 ±0,496	1,928 ±0,644	10,170 ±18,210	1,876 ±0,644	1,590 ±0,448

	Tempo de pegada	9,556 ±0,412	9,334 ±0,906	8,170 ±1,385	8,891 ±1,136	9,770 ±0,320	7,903 ±3,236	9,705 ±0,278	9,570 ±0,223
	Pico de força	154,357 ±31,774	161,375 ±14,935	173,800 ±30,262	151,214 ±38,339	131,500 ±10,970	185,500 ±6,805	149,250 ±10,177	149,800 ±28,315
	Pico de força relativo	6,634 ±1,727	6,857 ±1,499	8,032 ±1,626	6,118 ±1,240	6,084 ±1,475	7,421 ±0,103	6,152 ±0,709	6,778 ±1,283
3 ^o	Queda de força	46,286 ±14,062	37,875 ±4,313	44,100 ±14,198	41,786 ±11,604	33,800 ±5,176	47,000 ±11,734	34,000 ±8,551	38,950 ±7,087
	Queda de força relativa	1,909 ±0,375	1,587 ±0,176	2,187 ±1,163	1,745 ±0,608	1,607 ±0,598	1,893 ±0,548	1,401 ±0,394	1,769 ±0,344
	Tempo de pegada	9,654 ±0,220	8,938 ±0,557	9,096 ±0,330	9,672 ±0,395	9,790 ±0,193	9,603 ±0,263	9,610 ±0,142	9,706 ±0,190

*Unidade: gramas-força (gf). Dados em média ±desvio-padrão.

Diferentes letras maiúsculas na mesma coluna são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

Diferentes letras minúsculas na mesma linha são significativamente diferentes ($p \leq 0,05$).

1^o, 2^o e 3^o testes se referem ao momento em que ele foi realizado: 1^o) antes do período de treinamento físico; 2^o) após 3 semanas de treino e 3^o) ao término do treinamento (6 semanas). DP_NI_NT: grupo submetido a dieta padrão, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DP_I_NT: dieta padrão, infectado e não treinado. DP_NI_T: dieta padrão, não infectado e treinado. DP_I_T: dieta padrão, infectado e treinado. DHL_NI_NT: grupo submetido a dieta hiperlipídica, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DHL_I_NT: dieta hiperlipídica, infectado e não treinado. DHL_NI_T: dieta hiperlipídica, não infectado e treinado. DHL_I_T: dieta hiperlipídica, infectado e treinado.

5. Carga parasitária

Houve grande variabilidade intra-grupo nos resultados das qPCRs para quantificação absoluta de *T. cruzi* nos diferentes tecidos, dificultando a observação de diferenças estatísticas.

A parasitemia foi determinada na fase aguda (15 dpi) e crônica (90 dpi) da infecção. A ressaltar, o treinamento começou aos 4 dpi (e em momento equivalente para os não infectados). Ou seja, quando o sangue foi colhido pela primeira vez, os animais dos grupos de exercício físico tinham 11 dias de treinamento.

Como esperado, a parasitemia foi significativamente maior aos 15 dpi comparado aos 90 dpi, momento em que pôde ser observado uma baixa no número de parasitos circulante ($24,192 \pm 22,362$ par. eq./100 ng DNA e $6,276 \pm 7,866$ par. eq./100 ng DNA aos 15 e 90 dpi, $p = 0,0001$). Analisando os resultados da qPCR aos 90 dpi, observou-se que o número de parasitos no sangue foi significativamente maior ($p = 0,0183$) no grupo DHL_I_T ($13,628 \pm 10,358$ par. eq./100 ng DNA) em relação ao DP_I_T ($2,506 \pm 3,190$ par. eq./100 ng DNA) (Figura 14). Nos outros grupos a parasitemia foi similar. Não houve efeito significativo da dieta ou do treinamento físico.

Com 90 dpi foi possível a detecção do nDNA de *T. cruzi* em todos os tecidos estudados. Considerando todos os grupos juntos, no sangue e no intestino a quantidade foi similar ($6,276 \pm 4,283$ par. eq./100 ng DNA e $3,124 \pm 1,826$ par. eq./100 ng DNA, respectivamente) e significativamente maior que nos outros tecidos ($p < 0,05$). A carga parasitária foi equivalente no coração e no TAB ($2,020 \pm 0,687$ par. eq./100 ng DNA e $2,064 \pm 0,519$ par. eq./100 ng DNA, respectivamente). No TAM o número de parasitos foi significativamente menor ($0,598 \pm 0,172$ par. eq./100 ng DNA, $p < 0,05$) comparado aos outros tecidos.

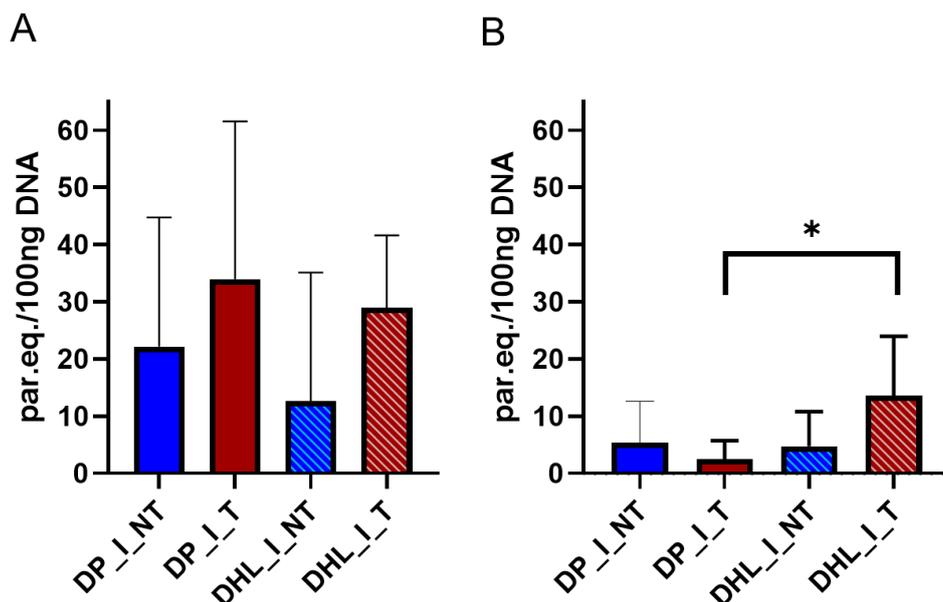


Figura 14. Parasitemia dos grupos infectados por *Trypanosoma cruzi*. Amostras de sangue obtidas 15 dias após a infecção (A) e amostras de sangue obtidas após 90 dias de infecção (B). Valores em média \pm desvio-padrão. *Diferença estatística, $p < 0,05$.

DP_NI_NT: grupo submetido a dieta padrão, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DP_I_NT: dieta padrão, infectado e não treinado. DP_NI_T: dieta padrão, não infectado e treinado. DP_I_T: dieta padrão, infectado e treinado. DHL_NI_NT: grupo submetido a dieta hiperlipídica, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DHL_I_NT: dieta hiperlipídica, infectado e não treinado. DHL_NI_T: dieta hiperlipídica, não infectado e treinado. DHL_I_T: dieta hiperlipídica, infectado e treinado.

No coração e no intestino grosso a carga parasitária não foi estatisticamente diferente entre os grupos, entretanto, observa-se uma tendência a um número menor de parasitos no tecido cardíaco do grupo DHL_I_T, com valor médio pelo menos duas vezes menor em comparação aos outros grupos (Figura 15A). No intestino, o grupo DP_I_NT tendeu a ter um maior número de parasitos comparado aos outros grupos (Figura 15B).

Houve um efeito da dieta ($p = 0,05$) na carga parasitária no TAB com os animais alimentados com DHL com um número maior de *T. cruzi* comparado aos com DP ($2,835 \pm 4,581$ par. eq./100 ng DNA e $1,244 \pm 2,664$ par. eq./100 ng DNA, respectivamente) (Figura 16A). Além disso, neste mesmo tecido, o grupo DHL_I_NT apresentou um número de parasitos significativamente maior que os outros grupos experimentais ($p = 0,044$) (Figura 15C).

Resultados semelhantes aos do TAB foram encontrados em relação ao TAM. Os camundongos submetidos à DHL tiveram maior carga parasitária que aqueles sob DP ($0,960 \pm 2,164$ par. eq./100 ng DNA e $0,236 \pm 0,509$ par. eq./100

ng DNA, respectivamente, $p = 0,0320$) (Figura 16B). Ademais, houve diferença entre os grupos DP_I_T e DHL_I_NT ($0,148 \pm 0,316$ par. eq./100 ng DNA e $1,286 \pm 2,665$ par. eq./100 ng DNA, respectivamente; $p = 0,044$) (Figura 15D).

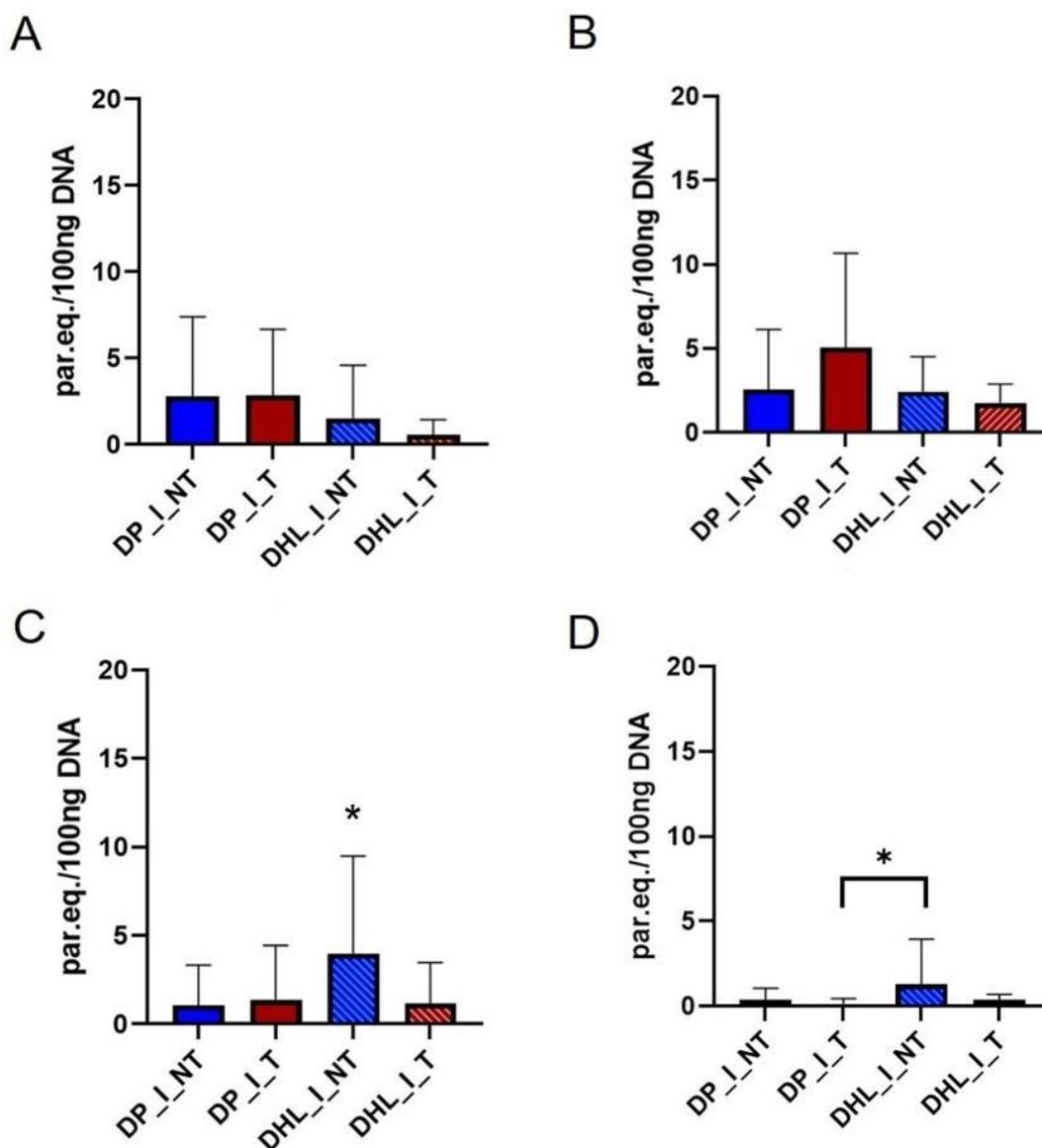


Figura 15. Carga parasitária dos grupos infectados por *Trypanosoma cruzi*. Amostras de coração (A), intestino grosso (B), tecido adiposo branco (C) e tecido adiposo marrom (D) foram obtidas 90 dias após a infecção.

Valores em média \pm desvio-padrão. *em C: Indica que a quantidade de parasitos é diferente em relação aos outros grupos. *em D: Indica que a quantidade de parasitos é diferente entre os grupos sob as linhas. $p < 0,05$.

DP_NI_NT: grupo submetido a dieta padrão, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DP_I_NT: dieta padrão, infectado e não treinado. DP_NI_T: dieta padrão, não infectado e treinado. DP_I_T: dieta padrão, infectado e treinado. DHL_NI_NT: grupo submetido a dieta hiperlipídica, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DHL_I_NT: dieta hiperlipídica, infectado e não treinado. DHL_NI_T: dieta hiperlipídica, não infectado e treinado. DHL_I_T: dieta hiperlipídica, infectado e treinado.

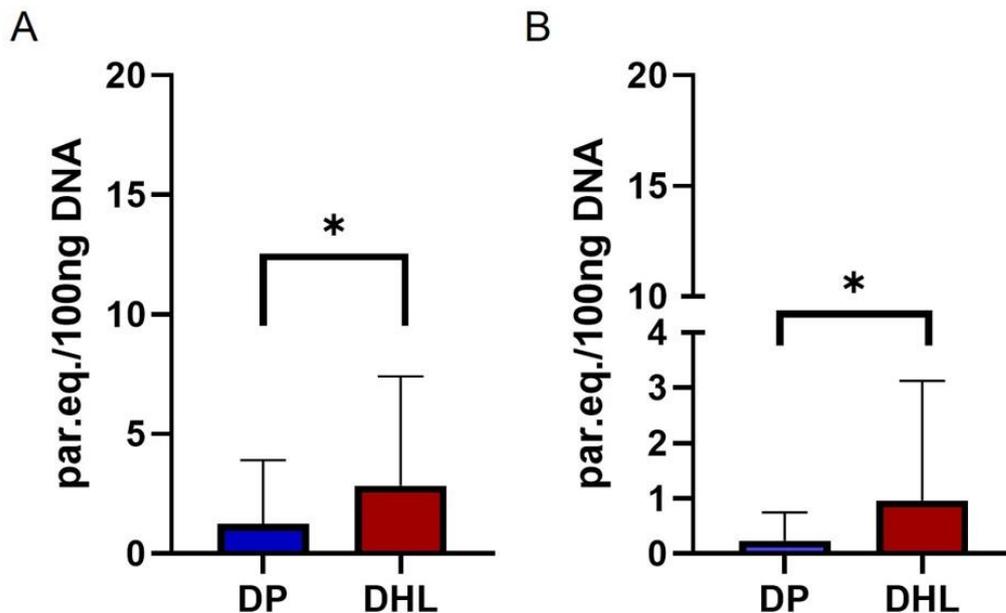


Figura 16. Efeito da dieta na carga parasitária do tecido adiposo branco (A) e do tecido adiposo marrom (B) obtidos 90 dias após a infecção.

Valores em média \pm desvio-padrão. *Indica que a quantidade de parasitos é diferente. $p < 0,05$. DP: dieta padrão. DHL: dieta hiperlipídica.

Ao verificar se havia diferença entre os tecidos dentro de cada grupo, isso só aconteceu no DHL_I_T, onde a parasitemia sanguínea foi significativamente maior que em todos os outros tecidos ($p < 0,01$). Além disso, o número de parasitos no intestino foi maior que no TAM ($p = 0,0127$) e tendeu a ser mais elevada que no coração ($p = 0,0565$).

Não foi detectado nDNA de *T. cruzi* nos animais não infectados. A destacar, em um camundongo do grupo DHL_I_T não foi encontrado parasito no tecido cardíaco. Da mesma forma, em um animal do grupo DP_I_T e em um do DHL_I_NT a carga parasitária foi ausente no TAM, assim como ela foi ausente no TAB de um animal do grupo DP_I_NT.

6. Citocinas

Os níveis séricos de citocinas foram analisados após 90 dpi e em data equivalente para os não infectados. Foi observado uma variação muito grande dentro dos grupos experimentais. Houve um efeito da infecção em citocinas do perfil Th1 (INF- γ e TNF- α) (Figura 17), Th2 (IL-4 e IL-10) (Figura 18A e 18B) e Th17 (IL-17) (Figura 18C) ($p < 0,05$). Em todas elas os níveis foram mais elevados nos animais infectados. Para a IL-4, também houve um efeito do treinamento físico, com os animais destreinados apresentando níveis séricos maiores em comparação aos treinados ($12,055 \pm 13,896$ pg/mL e $7,43 \pm 8,784$ pg/mL, respectivamente; $p = 0,05$). Não houve alterações estatísticas nos valores das citocinas de IL-6 e IL-2.

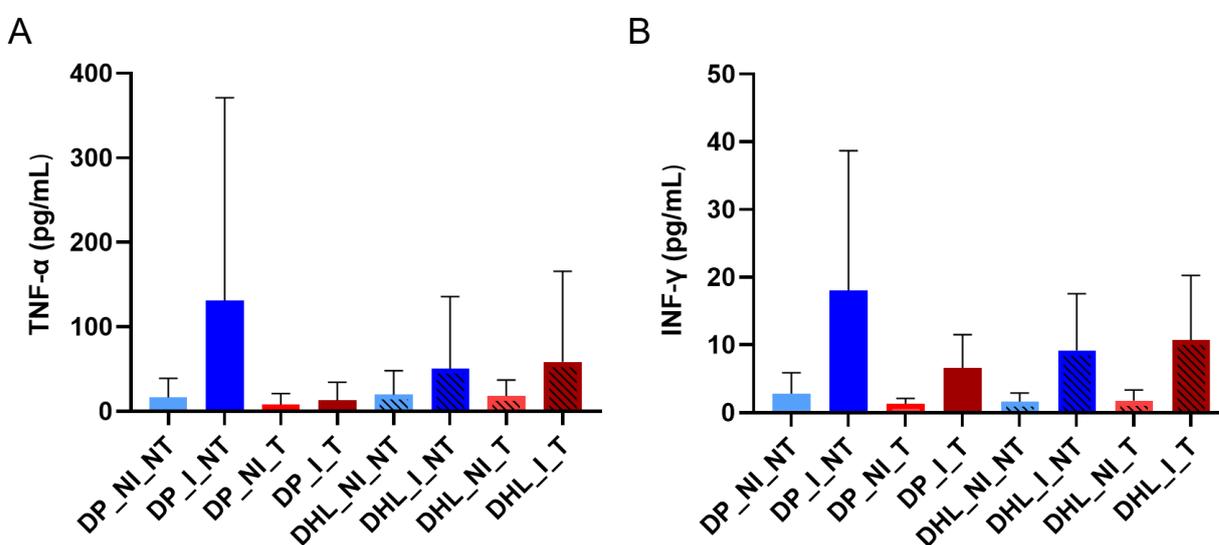


Figura 17. Dosagem de citocinas perfil Th1. Dosagem de TNF- α (A) dosagem de INF- γ (B).

Unidade: picograma/mililitro (pg/mL) Valores em média \pm desvio-padrão.

DP_NI_NT: grupo submetido a dieta padrão, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DP_I_NT:

dieta padrão, infectado e não treinado. DP_NI_T: dieta padrão, não infectado e treinado. DP_I_T:

dieta padrão, infectado e treinado. DHL_NI_NT: grupo submetido a dieta hiperlipídica, não

infectado por *T. cruzi* e não treinado. DHL_I_NT: dieta hiperlipídica, infectado e não treinado.

DHL_NI_T: dieta hiperlipídica, não infectado e treinado. DHL_I_T: dieta hiperlipídica, infectado e treinado.

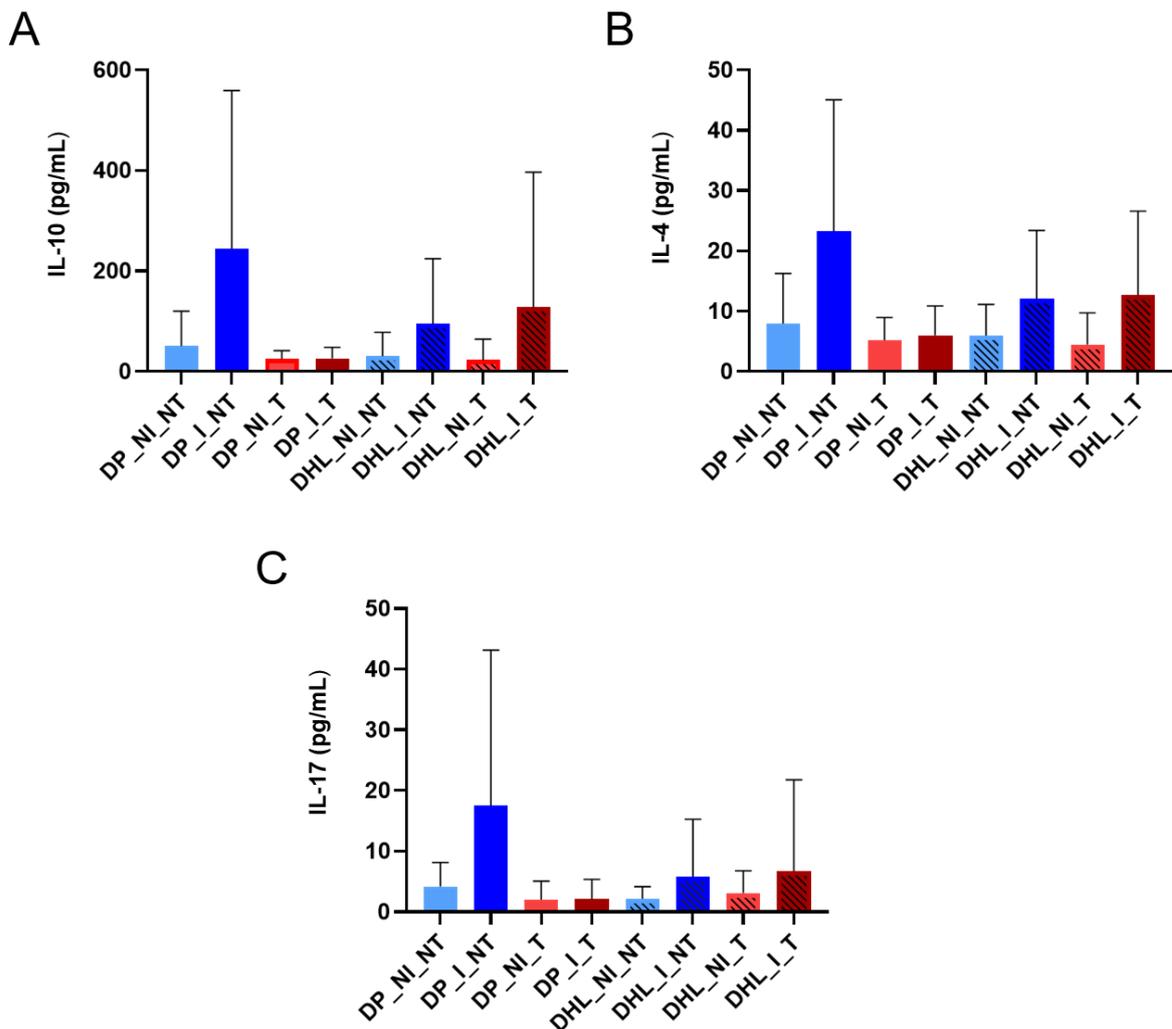


Figura 18. Dosagem de citocinas perfil Th2 e Th17. Dosagem de IL-10 (A) dosagem de IL-4 (B) Dosagem de IL-17 (C).

Unidade: picograma/mililitro (pg/mL) Valores em média \pm desvio-padrão.

DP_NI_NT: grupo submetido a dieta padrão, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DP_I_NT: dieta padrão, infectado e não treinado. DP_NI_T: dieta padrão, não infectado e treinado. DP_I_T: dieta padrão, infectado e treinado. DHL_NI_NT: grupo submetido a dieta hiperlipídica, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DHL_I_NT: dieta hiperlipídica, infectado e não treinado. DHL_NI_T: dieta hiperlipídica, não infectado e treinado. DHL_I_T: dieta hiperlipídica, infectado e treinado.

7. Análise histopatológica

No tecido cardíaco foram avaliados necrose de cardiomiócitos, infiltrado inflamatório mononuclear perivascular multifocal (IFP), infiltrado inflamatório mononuclear intersticial multifocal (IFI) e fibrose. A Figura 19 traz imagens representativas dos achados histopatológicos no coração.

Nenhum camundongo apresentou fibrose no tecido cardíaco e apenas dois apresentaram necrose (um animal do grupo DP_I_T e outro do DHL_I_NT) (Figura 19D e 19F). Foi observado presença de IFP em todos os grupos experimentais, entretanto, em um número bem menor de animais nos grupos não infectados (Tabela 4). A presença desses infiltrados na região intersticial (IFI) não foi vista somente nos grupos DP_NI_T e DHL_NI_NT. Para as duas variáveis, houve um efeito significativo da infecção ($p < 0,0001$), com os camundongos infectados apresentando mais infiltrado inflamatório comparados aos NI (score de $0,923 \pm 0,71$ e $0,152 \pm 0,364$, respectivamente para IFP e $0,846 \pm 0,540$ e $0,182 \pm 0,392$, respectivamente para IFI).

A análise estatística também mostrou efeito significativo da infecção no IFI no TAB e TAM ($p < 0,05$), com os animais infectados apresentando maior inflamação que os não infectados ($0,744 \pm 0,850$ e $0,094 \pm 0,296$, respectivamente no TAB e $0,579 \pm 0,642$ e $0,303 \pm 0,174$, respectivamente no TAM). Entre os animais submetidos à DP, somente foi visto IFI no TAM no grupo DP_I_T (40% dos camundongos), enquanto no TAB ela foi observada em todos os grupos, com exceção do DP_NI_T. Vale ressaltar que no grupo DP_NI_NT, somente dois animais (20%) apresentaram IFI de grau leve no TAB. Em relação à DHL, os infiltrados inflamatórios no TAB e TAM estavam presentes em todos os grupos, com exceção do DHL_NI_NT, que não exibiu IFI em nenhum dos dois tipos de TA (Figura 20 e Figura 21). No grupo DHL_NI_T apenas um camundongo (14%) apresentou IFI leve no TAB e TAM (Tabela 4).

O treinamento físico teve um efeito significativo no TAM ($p = 0,0379$), causando IFM (Figura 21). De fato, os camundongos treinados apresentaram maior grau de inflamação que os sedentários ($0,441 \pm 0,613$ e $0,216 \pm 0,479$, respectivamente). Além disso, houve uma interação significativa da dieta x infecção ($p = 0,0066$) na qual os animais DHL_I tiveram inflamação mais evidente ($0,857 \pm 0,655$) que os DHL_NI ($0,667 \pm 0,258$), DP_I ($0,235 \pm 0,437$) e DP_NI (ausência de IFI no TAM).

O intestino grosso de todos os grupos não infectados apresentou aparência morfológica normal (Figura 22), com exceção de um animal do grupo DHL_NI_T que apresentou grau leve de infiltrado inflamatório mononuclear

multifocal. A análise estatística indicou interação entre dieta x infecção x treinamento físico ($p = 0.05$). As diferenças podem ser observadas na Tabela 4.

Como pode ser observado na Tabela 4, de maneira geral a DHL se mostrou mais inflamatória para o TAB, TAM e intestino, principalmente quando associada a infecção.

Tabela 4. Resumo da avaliação histopatológica dos tecidos coletados após 90 de infecção por *Trypanosoma cruzi* e em períodos equivalentes para os grupos não infectados.

Grupos experimentais		Coração		TAB	TAM	Intestino grosso	
		Necrose	Infiltrado inflamatório perivascular	Infiltrado inflamatório intersticial	Infiltrado inflamatório	Infiltrado inflamatório	Infiltrado inflamatório
DP_NI_NT	Presença	0/10 (0%)	2/10 (20%)	3/10 (30%)	2/10 (20%)	0/10 (0%)	0/10 (0%)
	Quantificação*	0	0,200 ±0,422	0,300 ±0,483	0,200 ±0,422	0	0
DP_I_NT	Presença	0/8 (0%)	6/8 (75%)	4/8 (50%)	6/8 (75%)	0/8 (0%)	7/8 (87,5%)
	Quantificação*	0	0,875 ±0,641	0,750 ±0,886	1,250 ±1,04	0	1,125 ±0,641
DP_NI_T	Presença	0/8 (0%)	1/8 (12,5%)	0/8 (0%)	0/8 (0%)	0/8 (0%)	0/8 (0%)
	Quantificação*	0	0,125 ±0,354	0	0	0	0
DP_I_T	Presença	1/10 (10%)	8/10 (80%)	7/10 (70%)	4/10 (40%)	4/10 (40%)	6/10 (60%)
	Quantificação*	0,100 ±0,316	1,000 ±0,667	1,000 ±0,816	0,500 ±0,707	0,444 ±0,527	0,600 ±0,516
DHL_NI_NT	Presença	0/8 (0%)	1/8 (12,5%)	0/8 (0%)	0/8 (0%)	0/8 (0%)	0/8 (0%)
	Quantificação*	0	0,125 ±0,354	0	0	0	0
DHL_I_NT	Presença	1/11 (9,09%)	8/11 (72,73%)	10/11 (90,91%)	6/11 (54,55%)	7/11 (63,64%)	10/11 (90,91%)
	Quantificação*	0,091 ±0,302	0,728 ±0,467	0,909 ±0,302	0,636 ±0,674	0,728 ±0,0,647	0,909 ±0,302

DHL_NI_T	Presença	0/7 (0%)	2/7 (28,57%)	2/7 (28,57%)	1/7 (14,29%)	1/7 (14,29%)	1/7 (14,29%)
	Quantificação*	0	0,286 ±0,488	0,286 ±0,488	0,143 ±0,378	0,143 ±0,378	0,143 ±0,378
DHL_I_T	Presença	0/10 (10%)	8/10 (80%)	7/10 (70%)	5/10 (50%)	8/10 (80%)	10/10 (100%)
	Quantificação*	0,100 ±0,316	0,800 ±0,422	1,000 ±0,816	0,700 ±0,949	1,00 ±0,667	1,200 ±0,422

*total de alterações quantificadas/n

TAB: tecido adiposo branco. TAM: tecido adiposo marrom. DP_NI_NT: grupo submetido a dieta padrão, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DP_I_NT: dieta padrão, infectado e não treinado. DP_NI_T: dieta padrão, não infectado e treinado. DP_I_T: dieta padrão, infectado e treinado. DHL_NI_NT: grupo submetido a dieta hiperlipídica, não infectado por *T. cruzi* e não treinado. DHL_I_NT: dieta hiperlipídica, infectado e não treinado. DHL_NI_T: dieta hiperlipídica, não infectado e treinado. DHL_I_T: dieta hiperlipídica, infectado e treinado.

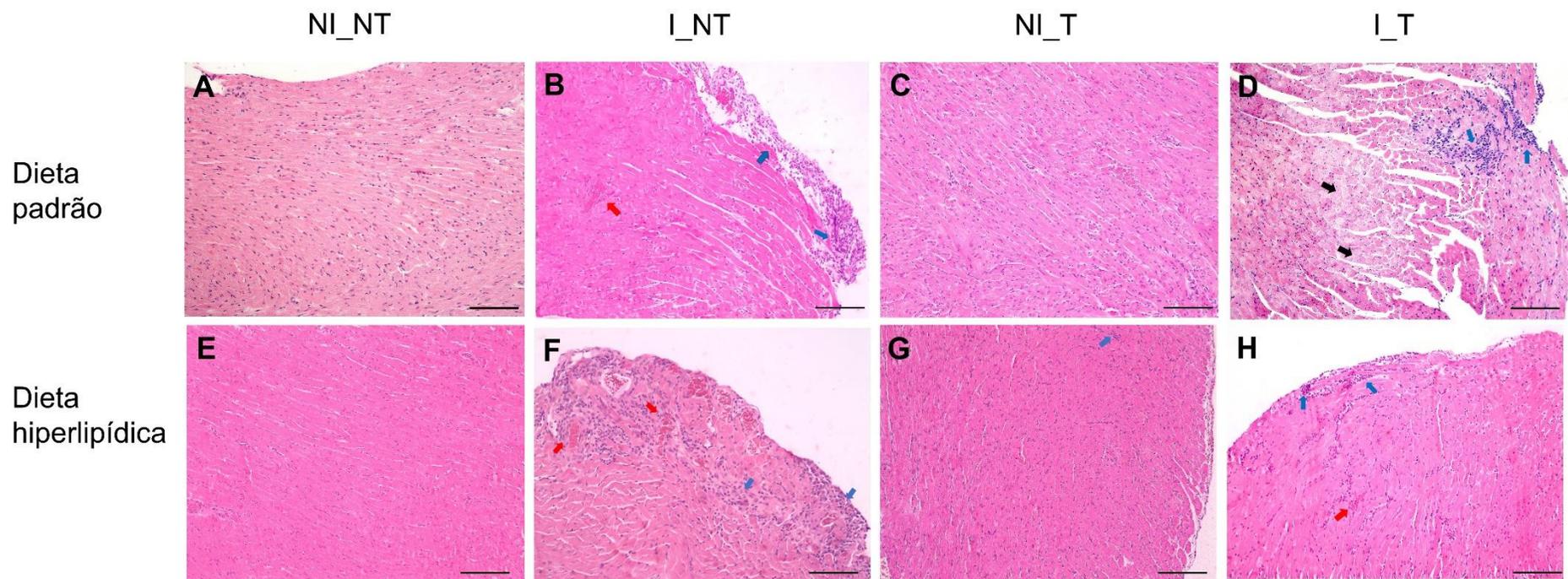


Figura 19. Cortes histológicos do tecido cardíaco com imagens representativas dos diferentes grupos experimentais. No painel superior observam-se imagens do tecido cardíaco de animais submetidos a dieta padrão: 19A: Camundongo do grupo DP_NI_NT mostrando tecido sem alterações; 19B: Camundongo do grupo DP_I_NT com infiltrado inflamatório multifocal na região perivascular (seta vermelha) e intersticial (setas azuis); 19C: Camundongo do grupo DP_NI_T com aspecto tecidual normal e 19D: Camundongo do grupo DP_I_T com necrose (setas pretas) e infiltrado inflamatório multifocal na região intersticial (setas azuis). No painel inferior, são observados tecidos cardíacos de animais submetidos a dieta hiperlipídica: 19E: Camundongo do grupo DHL_NI_NT mostrando tecido sem alteração; 19F: Camundongo do grupo DHL_I_NT com infiltrado inflamatório perivascular (setas vermelhas) e intersticial (setas azuis); 19G: Camundongo do grupo DHL_NI_T mostrando infiltrado inflamatório multifocal na região intersticial (seta azul) 19H: Camundongo do grupo DHL_I_T mostrando infiltrados inflamatórios multifocais nas regiões perivascular (seta vermelha) e intersticial (setas azuis). HE. Barra: 100 μ m.

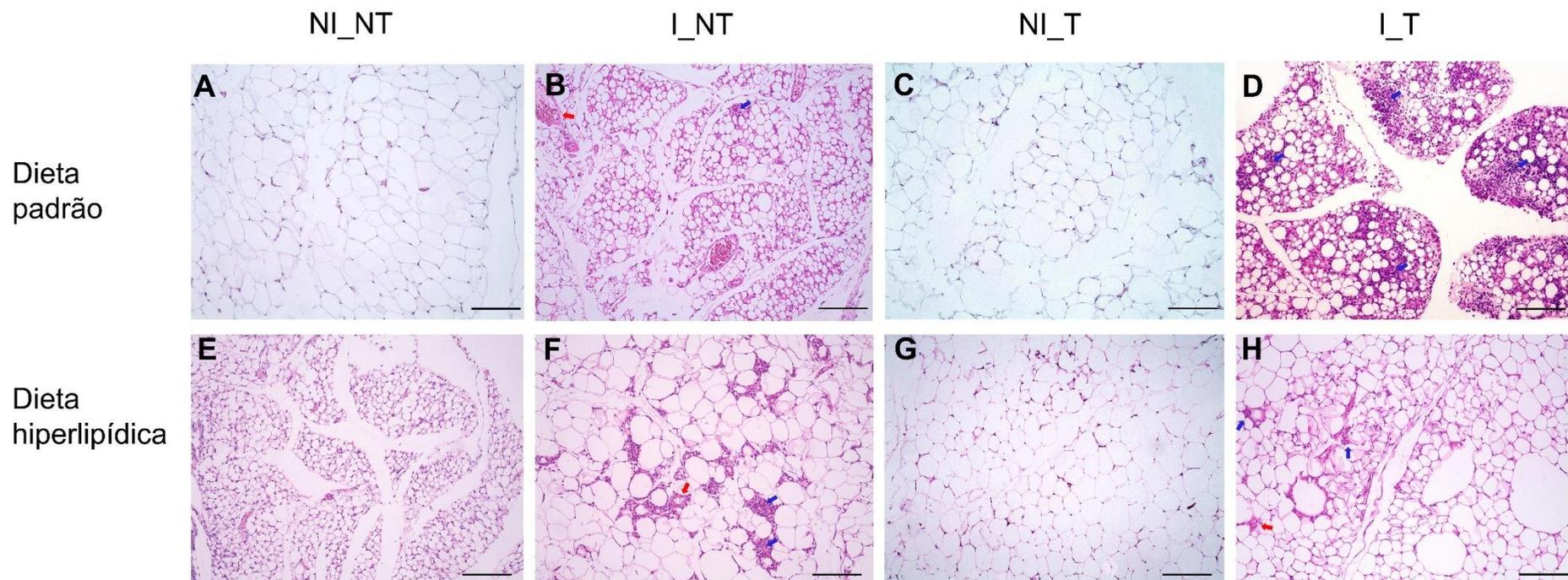


Figura 20. Cortes histológicos do tecido adiposo branco com imagens representativas dos diferentes grupos experimentais. No painel superior observam-se imagens do tecido adiposo branco (TAB) de animais submetidos a dieta padrão: 20A: Camundongo do grupo DP_NI_NT mostrando tecido sem alterações; 20B: Camundongo do grupo DP_I_NT com infiltrado inflamatório na região perivascular (seta vermelha) e intersticial (seta azul); 20C: Camundongo do grupo DP_NI_T com aspecto tecidual normal e 20D: Camundongo do grupo DP_I_T com múltiplos infiltrados inflamatórios na região intersticial (setas azuis). No painel inferior, são observados TAB de animais submetidos a dieta hiperlipídica: 20E: Camundongo do grupo DHL_NI_NT mostrando tecido sem alteração; 20F: Camundongo do grupo DHL_I_NT com infiltrado inflamatório perivascular (seta vermelhas) e intersticial (setas azuis); 20G: Camundongo do grupo DHL_NI_T mostrando tecido com aspecto normal. 20H: Camundongo do grupo DHL_I_T mostrando infiltrado inflamatório multifocal perivascular (seta vermelha) e intersticial (setas azuis). HE. Barra: 100 µm.

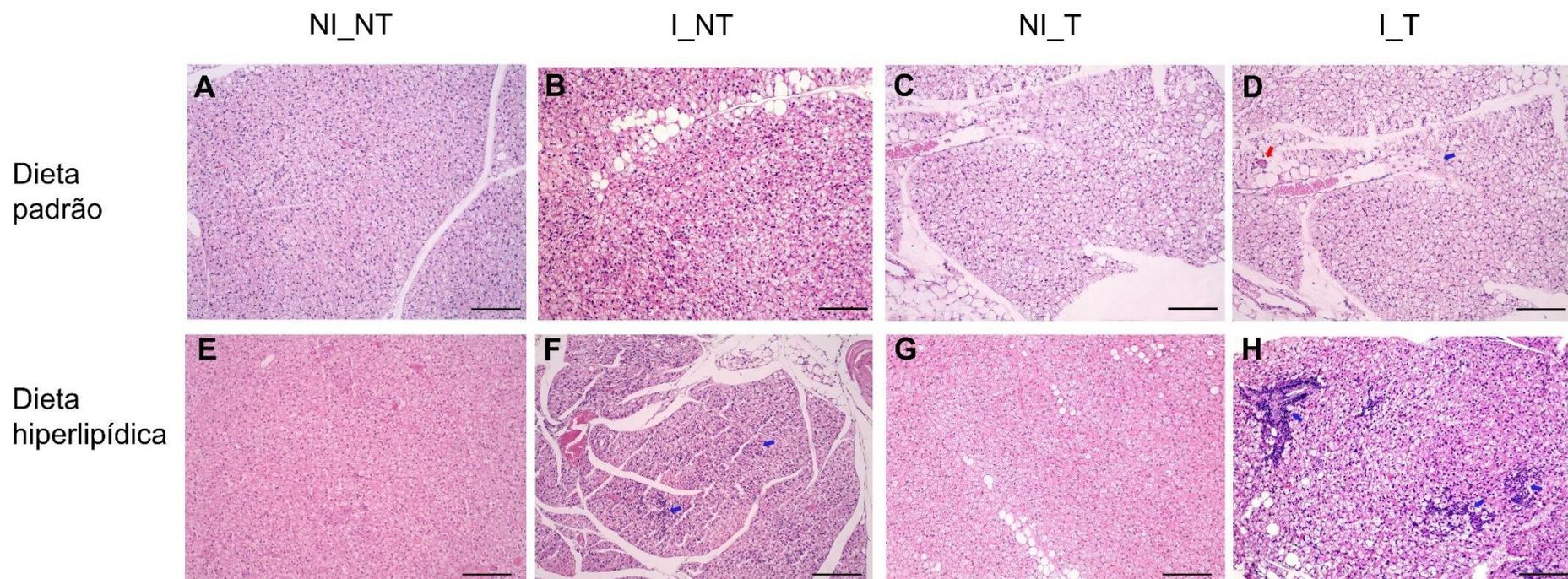


Figura 21. Cortes histológicos do tecido adiposo marrom com imagens representativas dos diferentes grupos experimentais. No painel superior observam-se imagens do tecido adiposo marrom (TAM) de animais submetidos a dieta padrão: 21A: Camundongo do grupo DP_NI_NT mostrando tecido sem alterações; 21B: Camundongo do grupo DP_I_NT sem alteração tecidual; 21C: Camundongo do grupo DP_NI_T com aspecto tecidual normal e 21D: Camundongo do grupo DP_I_T infiltrado inflamatório perivascular (seta vermelha) e intersticial (seta azul). No painel inferior, são observados TAM de animais submetidos a dieta hiperlipídica: 21E: Camundongo do grupo DHL_NI_NT mostrando tecido sem alteração; 21F: Camundongo do grupo DHL_I_NT com infiltrado inflamatório intersticial (setas azuis); 21G: Camundongo do grupo DHL_NI_T mostrando tecido com aspecto normal. 21H: Camundongo do grupo DHL_I_T mostrando infiltrados inflamatórios multifocais intersticial (setas azuis). HE. Barra: 100 µm.

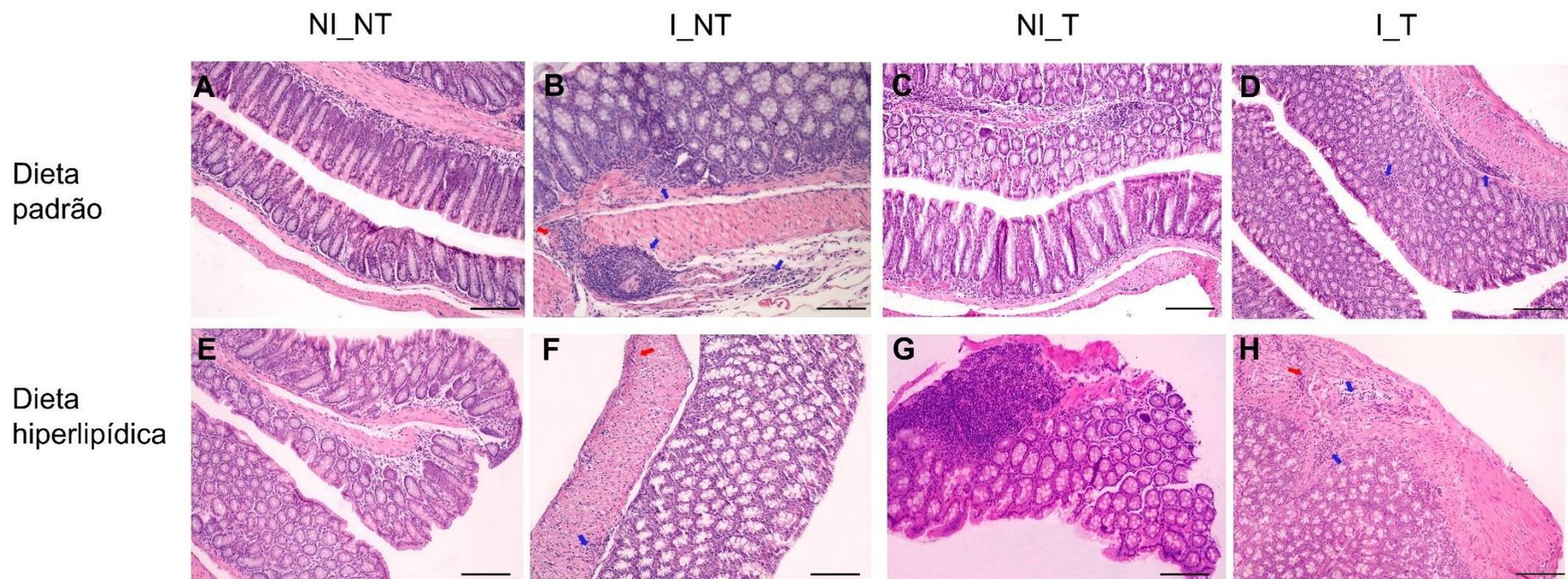


Figura 22. Cortes histológicos do intestino grosso com imagens representativas dos diferentes grupos experimentais. No painel superior observam-se imagens do intestino de animais submetidos a dieta padrão: 22A: Camundongo do grupo DP_NI_NT mostrando tecido sem alterações; 22B: Camundongo do grupo DP_I_NT T infiltrado inflamatório perivascular (seta vermelha) e intersticial (setas azuis); 22C: Camundongo do grupo DP_NI_T com aspecto tecidual normal e 22D: Camundongo do grupo DP_I_T infiltrado inflamatório intersticial (setas azuis). No painel inferior, são observados intestinos de animais submetidos a dieta hiperlipídica: 17E: Camundongo do grupo DHL_NI_NT mostrando tecido sem alteração; 22F: Camundongo do grupo DHL_I_NT com infiltrado inflamatório perivascular (seta vermelha) e intersticial (seta azul); 22G: Camundongo do grupo DHL_NI_T mostrando tecido com aspecto normal. 22H: Camundongo do grupo DHL_I_T mostrando infiltrado inflamatório multifocal perivascular (seta vermelha) e intersticial (setas azuis). HE. Barra: 100 µm.

VI. DISCUSSÃO

Apesar de décadas de pesquisa dedicada à DC, subsistem lacunas no entendimento abrangente da sua patogênese. O reconhecimento de que modificações no TA podem impactar a infecção, influenciando tanto o metabolismo quanto a resposta imunológica do hospedeiro, encorajou investigações sobre a interação entre a dieta rica em gordura e o prognóstico da DC (Fonseca *et al.*, 2020). O atual padrão alimentar, caracterizado pelo consumo elevado de calorias oriundas de alimentos ultraprocessados, suscitou este estudo para examinar os efeitos da DHL no curso da infecção por *T. cruzi* e propiciar uma compreensão mais profunda do papel do TA na DC, considerando também o TAM, pouco estudado neste contexto.

Considerando a carência de tratamentos medicamentosos efetivos para a DC, especialmente em sua fase crônica (Ribeiro *et al.*, 2020), estratégias não farmacológicas, como o EF, destacam-se como alternativas terapêuticas auxiliares para melhorar a qualidade de vida dos pacientes. O EF, ao reduzir a carga parasitária e modular a resposta imune, emerge como uma abordagem essencial (Moreira, Zanoni, *et al.*, 2014). Apesar de diversos estudos já terem demonstrado os efeitos benéficos do EF antes da infecção na DC experimental (Soares *et al.*, 2010; Moreira *et al.*, 2014a; Lucchetti *et al.*, 2017), a literatura investigada revelou apenas um estudo abordando o efeito pós-infecção com implicações para a fase crônica da doença (Pedra-Rezende *et al.*, 2021). Diante desse cenário, o segundo objetivo deste trabalho consistiu em verificar a capacidade de treinamento físico após a infecção por *T. cruzi* e seus efeitos a longo prazo.

Por serem bons modelos para estudo sobre a DC, camundongos (*Mus musculus*) da linhagem BALB/c foram selecionados. Apesar de apresentarem uma suscetibilidade intermediária à infecção, aumentando o risco de óbito durante o período experimental (Costa *et al.*, 2002), esses animais são conhecidos por sua facilidade de manipulação. Dada a necessidade de

submetê-los ao treinamento físico diário, a escolha dessa linhagem foi estratégica, considerando a maior capacidade aeróbica quando comparados a outras linhagens, apresentando facilidade em realizar atividade física em esteira rolante (Lightfoot *et al.*, 2001). Optou-se por trabalhar com fêmeas, reconhecidas por sua maior resistência à infecção por *T. cruzi* (Trischmann; Bloom, 1982; de Souza, *et al.*, 2001), o que contribuiu para uma taxa de sobrevivência mais elevada durante os 90 dpi. Vale destacar que, devido à variação no grau de resistência em relação à cepa do parasita, a cepa Colombiana (classificada como TcI) foi utilizada para a inoculação dos animais devido à sua alta infectividade (Zingales *et al.*, 2009). Pelo modelo “BALB/c + cepa Colombiana” já ter sido utilizado anteriormente (Araújo *et al.*, 2014; Silva, *et al.*, 2018; Gonçalves *et al.*, 2022), foi considerado uma boa opção.

No que diz respeito à DHL, é relevante mencionar que vários estudos empregaram esse tipo de dieta com diferentes quantidades de gordura em sua formulação (Nagajyothi *et al.*, 2014; Figueiredo *et al.*, 2018; Lizardo *et al.*, 2019; Zaki *et al.*, 2020; Souza *et al.*, 2021). No presente estudo, foi utilizada dieta comercial contendo 60% de lipídios, uma abordagem já documentada na literatura (de Souza, *et al.*, 2020) e mantida constante ao longo de todo o período experimental (125 dias no total). Além de investigar os efeitos dessa dieta no curso da doença, ela foi adotada com o objetivo de elevar a gordura corporal dos animais, permitindo, assim, melhor avaliação do papel do TA na DC.

Contrariamente ao esperado e observado em estudos anteriores (Li *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2018), o peso corporal final e o ganho de peso relativo (razão peso corporal final/peso corporal inicial) foi similar em todos os nossos grupos experimentais, porém, os estoques de TAB e TAM foram maiores nos grupos submetidos à DHL. Foi observado um aumento significativo no ganho de peso relativo nos camundongos infectados, independentemente do tipo de dieta e da presença ou não do treinamento físico. Este achado contrasta com as descobertas documentadas na literatura nas quais animais infectados,

mesmo com DHL, apresentaram diminuição no peso corporal (Nagajyothi *et al.*, 2014; Lizardo *et al.*, 2019).

Vale ressaltar que os animais submetidos à DHL tiveram uma notável redução no consumo alimentar em comparação aos grupos que seguiram a DP. Isso já foi relatado em estudos anteriores (Fernandes *et al.*; 2012; Pereira *et al.*, 2018). Tal fenômeno pode ser atribuído à maior densidade energética da DHL em relação à DP (White *et al.*, 2013).

No momento da eutanásia, a observação macroscópica do coração não indicou diferenças morfológicas entre os grupos experimentais. Não foi constatado hipertrofia cardíaca conforme indicado pela relação peso corporal final/peso do coração, que foi similar entre os animais controles comparados aos infectados e/ou treinados. O treinamento físico provoca modificações anatômicas e fisiológicas no coração. A hipertrofia cardíaca não patológica induzida pelo EF melhora a função miocárdica e reduz o risco de doenças cardiovasculares. Entretanto, esse remodelamento é perdido, sem consequências negativas para o organismo, caso o treinamento físico não seja mantido (para revisão, Seo *et al.*, 2019). Como a eutanásia foi realizada 44 dias após o final do treinamento, não era esperado hipertrofia cardíaca decorrente do treinamento.

A cardiomegalia é um sinal clínico associado a CCC (Ribeiro *et al.*, 2012), com aumento tanto do ventrículo esquerdo como do direito, além de ambos os átrios (Simões *et al.*, 2018). Assim como no presente estudo, cardiomegalia também não foi vista em camundongos infectados com a cepa colombiana de *T. cruzi* por Nobre *et al.* (2022) após 180 dpi. Esses resultados reforçam que apesar de murinos serem um bom modelo para estudo da DC e apesar de alguns estudos reportarem a presença de hipertrofia cardíaca em camundongos infectados (Rossi; Gonçalves; Ribeiro, 1984; Rossi; Carobrez, 1985), eles não costumam ter o mesmo grau de comprometimento no coração em relação ao homem, que apresenta cardiomegalia em aproximadamente 30% dos casos de DC crônica sintomática (Rassi; Rassi; Marin-Neto, 2010). É relevante notar que o período pós-infecção no presente estudo foi de 90

dias, o que pode não ter sido suficiente para evidenciar alterações cardíacas importantes, pois esse tempo de infecção pode ser considerado como fase crônica indeterminada (Lizardo *et al.*, 2021).

Apesar disso, em todos os animais infectados, o parasito foi detectado no coração por meio de qPCR. Embora a carga parasitária tenha sido semelhante em todos os grupos, notou-se uma tendência para um menor número de parasitos no tecido cardíaco do grupo DHL_I_T. O valor médio nesse grupo foi pelo menos duas vezes menor em comparação com os demais, sugerindo potencial proteção conferida pela DHL associada ao treinamento físico. Já foi observado anteriormente menor carga parasitária no coração de camundongos submetidos à DHL (Nagajyothi *et al.*, 2014).

Foi encontrado infiltrado inflamatório intersticial (IFI) e perivascular (IFP) no tecido cardíaco em todos os grupos infectados por *T. cruzi*, treinados ou não e sob qualquer padrão alimentar (DP ou DHL). De fato, o IFP foi visto em 77% dos animais infectados e o IFI variou entre 50 a 91% dos camundongos em função do grupo experimental. Notavelmente, dois animais apresentaram infiltrado inflamatório associado à necrose de cardiomiócitos. Essa observação é consistente com relatos na literatura com infecção com cepa colombiana (Andrade *et al.*, 1985).

A análise do peso do TAM e da razão peso do TAM/peso corporal no momento da eutanásia revelou que com a DHL essas variáveis foram significativamente maiores em comparação aos grupos que seguiram a DP. De acordo com Alcalá *et al.* (2019), camundongos submetidos à DHL por 20 semanas apresentaram hipertrofia do TAM, além de elevada atividade mitocondrial e inflamatória. Esses efeitos foram atribuído à dieta. Outros estudos também destacam que a DHL induz uma maior atividade termogênica no TAM, aumentando seu estoque (Calderon-Dominguez *et al.*, 2016; Perez *et al.*, 2021; Régnier *et al.*, 2023).

No que diz respeito aos animais infectados, foi observado uma intensificação do infiltrado inflamatório nas lâminas histológicas do TAM, com

significância estatística. Sabe-se que a fase crônica da DC desencadeia uma resposta inflamatória tanto no TAB quanto no TAM, resultando no aumento dos níveis de citocinas inflamatórias, incluindo IL-1 β , que é um marcador essencial na indução da resposta inflamatória (Burke *et al.*, 2014). Também já foi evidenciado aumento significativo nos níveis de TNF- α e IFN- γ no TAM durante a infecção crônica (Nagajyothi; Weiss, 2019), corroborando com nossos achados histopatológicos que indicaram mais infiltrado inflamatório nesse tecido nos camundongos infectados. Neste estudo não foi verificada a expressão de citocinas nos diferentes tecidos, entretanto, os níveis séricos de TNF- α e IFN- γ foram mais elevados com a infecção por *T. cruzi*.

Embora a análise histopatológica tenha mostrado que os animais treinados apresentaram maior inflamação no TAM, este resultado contrapõe outras descobertas que indicam um efeito benéfico do EF nesse tecido, promovendo melhorias em sua função endócrina, atenuação de distúrbios metabólicos e disfunção vascular induzidos por dietas ricas em gordura, os quais estão associados à inflamação (Xu *et al.*, 2011; Mendez-Gutierrez *et al.*, 2023). O treinamento físico aumenta o TAM, podendo aumentar a capacidade muscular para execução do EF (Kong *et al.*, 2018). Contudo, a maioria dos estudos que mostram os benefícios do EF no TAM fazem as análises logo após o período de treinamento (para revisão, Sanchez-Delgado *et al.*, 2015), contrariamente ao nosso trabalho que realizou a avaliação histológica cerca de 45 dias após a finalização dos treinos.

Grande parte dos trabalhos que averiguam carga parasitária no TA, o fizeram no TAB, embora já na década de 70 o TAM tenha sido identificado como alvo de *T. cruzi* (Shoemaker *et al.*, 1970). Neste estudo, o número de parasitos foi significativamente menor no TAM em comparação aos outros tecidos, mas ele se mostrou como um órgão parasitado na fase crônica da DC. Com exceção de dois animais, um do grupo DP_I_T e outro do DHL_I_NT, nos quais não foi encontrado nDNA de *T. cruzi*, todos os outros camundongos infectados apresentaram parasitos no TAM, com carga parasitária variando de 0,001 a 9,211 par. eq/100 ng DNA.

Em relação ao TAB, os animais submetidos à DHL apresentaram maior estoque em comparação com os que receberam a DP. Isso pôde ser verificado através do peso bruto e relativo do TAB no momento da eutanásia. Esses resultados eram esperados e estão amplamente documentados na literatura devido à maior quantidade de gordura presente nesse tipo de dieta, o que resulta em aumento nos estoques do TAB (Shi *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Cheng *et al.*, 2023). Em termos de carga parasitária, a alimentação com DHL fez com que um número maior de parasitos fosse encontrado no TAB em comparação a DP. Esse resultado já foi visto na fase aguda da DC experimental (Nagajyothi *et al.*, 2014; Souza *et al.*, 2021). A destacar, o grupo que apresentou maior carga parasitária no TAB foi o DHL_I_NT.

Não houve efeito significativo da dieta no índice de Lee, indicador do aumento da porcentagem de gordura corporal em roedores (Araújo *et al.*, 2017; Figueiredo *et al.*, 2018). Resultado semelhante já foi anteriormente observado em camundongos alimentados com DHL por 12 semanas (Higa *et al.*, 2014). Vale ressaltar que o TAB avaliado foi apenas o perigonadal e não o tecido abdominal completo. Isso pode reduzir a precisão das informações mencionadas.

A infecção crônica por *T. cruzi* pode alterar a morfologia do TAB e induzir a morte dos adipócitos por apoptose e necrose. De fato, foi sugerido que a persistência do parasito e de células imunes infiltradas no TA promovem alterações na fisiologia desse tecido, causando um desequilíbrio entre adipogênese e lipólise. Também foi visto a presença de adipócitos com gotículas lipídicas multiloculares e células imunes infiltradas no tecido adiposo aos 90 dpi (Lizardo *et al.*, 2021), resultado que também foi evidenciado em nossas lâminas histológicas do TAB. Ademais, os animais infectados, independentemente do tipo de dieta, apresentaram um volume de TAB inferior em comparação com os não infectados.

Embora todos os grupos infectados tenham demonstrado a presença de infiltrado inflamatório no TAB, essa condição foi mais intensa nos grupos que utilizavam a DHL e estavam infectados por *T. cruzi*. Essa observação

reforça a associação do fator inflamatório das dietas ricas em gordura com a presença do parasito, destacando a complexidade da interação entre dieta e infecção (Nagajyothi, F. *et al.*, 2012; Souza, de *et al.*, 2020; Lizardo *et al.*, 2021).

O protozoário *T. cruzi* apresenta tropismo pelo intestino (Lewis *et al.*, 2014; Silveira, da *et al.*, 2007) e um dos sintomas que podem aparecer na fase crônica da DC é o megacólon (Prata, 2001; Matsuda; Miller; Evora, 2009; Pérez-Molina; Molina, 2018) que está associado a lesões inflamatórias no sistema nervoso entérico (Da-Silveira *et al.*, 2007). Ainda há lacunas a respeito da interação entre *T. cruzi* e o trato gastrointestinal (GI) faltando conhecimento sobre, por exemplo, os efeitos da DHL nesta associação; a influência do parasito na microbiota e possíveis consequências; a contribuição da persistência parasitária no intestino para o desenvolvimento dos sintomas cardíacos, entre outros. De fato, o organismo do hospedeiro, o *T. cruzi* e a microbiota estão em complexa associação no trato GI podendo afetar a patogênese da DC (Hossain *et al.*, 2020). Por essa razão, foi realizada qPCR para determinação da carga parasitária no intestino e análises histopatológicas neste tecido.

Aos 90 dpi, o número de parasitos foi similar no intestino e no sangue, sendo mais elevado que nos outros tecidos. Este é um fato curioso, pois a fase crônica é caracterizada pela parasitemia sanguínea extremamente baixa ou até mesmo ausente (Bern, 2015). Com exceção de um animal não infectado pertencente ao grupo DHL_NI_T, infiltrado inflamatório nas diferentes camadas do intestino (mucosa, submucosa, muscular ou serosa) foi observado em todos os grupos de camundongos infectados. Além disso, verificou-se uma maior incidência de inflamação nos grupos que adotaram DHL, em comparação com os animais infectados que se alimentaram com DP e realizaram treinamento. Esses resultados reforçam a associação do fator inflamatório das dietas ricas em gordura com a presença do parasito. De fato, a DHL está relacionada a modificações na microbiota e à inflamação (para revisão, Malesza *et al.*, 2021).

No contexto experimental, amostras de sangue desempenham um papel crucial, permitindo a quantificação de diversos fatores, como proteínas, enzimas e hormônios (Lee; Goosens, 2015). Em 90 dpi, o sangue foi colhido e o soro recuperado para dosagem de citocinas. Elas desempenham papel fundamental estimulando a resposta imune inata e adaptativa do organismo (Abbas, 2019). O balanço entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias produzidas parece estar implicado na evolução e desfecho da DC. Essas moléculas podem participar do controle do parasitismo ou, ao contrário, favorecer o parasitismo tecidual, ou seja, possuem papel de destaque na patogênese da doença podendo estar diretamente relacionadas à intensidade da inflamação e às lesões teciduais (Acevedo, Girard; Gómez, 2018; Cristovão-Silva *et al.*, 2021; Braga *et al.*, 2022).

Na fase crônica da DC foi verificado um perfil de citocinas do tipo Th1 (IFN- γ , TNF, IL-2, IL-6, IL-9, IL-12) com baixos níveis de um perfil Th2 (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13) em pacientes com manifestações cardíacas e digestivas. No entanto, em concordância com nossos achados, foi observado o oposto na forma indeterminada da DC, indicando que o equilíbrio dessas citocinas (IL-10, IL-17, TNF- α , IFN- γ e IL-4) pode desempenhar um papel fundamental no desenvolvimento da doença (Cristovão-Silva *et al.*, 2021).

No entanto, o aumento do perfil anti-inflamatório na fase crônica indeterminada em relação ao perfil pró-inflamatório na fase crônica e CCC ainda não é totalmente compreendido (Acevedo; Girard; Gómez, 2018). A análise das citocinas em 90 dpi mostrou forte efeito da infecção, com níveis aumentados de IL-10, IL-17, TNF- α , IFN- γ e IL-4. Entretanto, não foi possível determinar se a dieta ou o treinamento físico influenciaram o perfil imunológico. A prática regular de EF tem o potencial de fortalecer o sistema imunológico e salvaguardar os órgãos, ao reduzir a produção anormal de citocinas inflamatórias e fomentar o desenvolvimento de agentes anti-infecciosos e antioxidantes (Guo *et al.*, 2020). No nosso estudo não foi possível observar o efeito do EF na resposta anti-inflamatória, visto que foi realizado no início da fase aguda e a coleta do soro foi feita na fase crônica

(90 dpi). O efeito do treinamento foi visto apenas nos níveis de IL-4. Esta citocina é menos caracterizada na literatura em comparação aos mediadores-chave do EF (Moldoveanu; Shephard; Shek, 2001; Docherty *et al.*, 2022).

Visto que o TA é um tecido bastante heterogêneo, com a presença de inúmeras células imunológicas (macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, células dendríticas e linfócitos) com fenótipos variáveis em função da quantidade de adipócitos e um órgão endócrino bastante dinâmico, seu estudo no contexto da DC é bastante complexo (Ray *et al.*, 2023). De fato, o *T. cruzi* no TA pode estar no interior dos adipócitos ou de macrófagos, por exemplo, e isso pode ter implicações diferentes. Para melhor compreensão do seu papel na patogênese da DC, a verificação da expressão de genes inflamatórios e de citocinas no TAB e TAM tem grande interesse. Isso será futuramente realizado (a extração de RNA e a reação de transcrição reversa já foram feitas).

O EF melhora a aptidão física e a composição corporal e tem sido usado como prevenção e até tratamento de certas doenças. Fatores como tipo, tempo, frequência e intensidade do treinamento influenciam de maneira diferente os efeitos do EF em diversas condições patológicas (para revisão, Guo *et al.*, 2020). No presente estudo foi realizado treinamento aeróbico de intensidade moderada em esteira ergométrica.

A velocidade máxima de corrida obtida durante um teste incremental em esteira rolante (V_{peak_K}) permite a estimativa da CAM em roedores com custo acessível. A utilização do VO_2 máximo é mais dispendiosa demandando equipamento para análise dos gases respiratórios. Com isso a utilização da V_{peak_K} torna-se uma alternativa viável para determinar o desempenho e prescrever protocolos de treinamento aeróbico sistematizados para camundongos (Picoli *et al.*, 2018). Diante desse cenário, optamos por utilizar esse método para avaliar a CAM dos animais e ajustar a intensidade de treinamento (60% da CAM).

Embora diversos estudos tenham explorado os efeitos do treinamento pré-infecção por *T. cruzi* em modelo murino, até onde sabemos, apenas um

abordou o treinamento pós-infecção (Pedra-Rezende *et al.*, 2021). Desta forma, este trabalho é inovador e apresenta grande relevância, pois faltam dados na literatura sobre os possíveis benefícios do treinamento físico realizado após a infecção por *T. cruzi*, situação que pode se aproximar mais da realidade dos pacientes com DC.

Assim, como visto por Pedra-Rezende *et al.* (2021), a infecção aguda por *T. cruzi* não impediu a realização do EF regular, contrariamente ao que aconteceu no trabalho de Lucchetti *et al.* (2017), no qual não foi possível realizar treinamento físico aeróbico pós-infecção em camundongos, pois eles se apresentavam debilitados. Apesar de não ter sido observado melhora da CAM nos grupos infectados (ela até diminuiu nos grupos DP_I_NT e DHL_I_T), o fato da presença de *T. cruzi* no organismo permitir o treinamento físico aeróbico a 60% da CAM pode trazer implicações positivas para os portadores da DC, já que o EF regular traz inúmeros benefícios para a saúde física e mental. Então, mesmo que não apresente vantagens diretamente relacionadas à DC, o EF regular pode melhorar a qualidade de vida dos pacientes (Fossati *et al.*, 2021).

O Colégio Americano de Medicina Esportiva (ACSM, do inglês *American College of Sports Medicine*) recomenda que adultos saudáveis entre os 18 e 65 anos façam atividade física aeróbica de intensidade moderada durante pelo menos 30 minutos, cinco dias por semana, para o desenvolvimento e a manutenção da aptidão cardiorrespiratória (Haskell *et al.*, 2007). Em nosso estudo, a CAM se manteve similar ao longo do tempo nos animais submetidos ao treinamento físico, porém, ela diminuiu nos sedentários. Com esses resultados, conclui-se que, contrariamente ao esperado, o protocolo de exercício em esteira utilizado neste estudo não permitiu a melhora do desempenho físico dos camundongos treinados.

No primeiro teste CAM, realizado antes do período de treinamento e após 4 semanas de alimentação diferenciada, o grupo DHL_I_T apresentou maior V_{peak_K} que os DP_I_T. Isso sugere influência do padrão alimentar na CAM dos animais infectados, embora essa diferença não tenha sido

observada entre os grupos DHL_I_NT e DP_I_NT. Esse efeito da dieta foi de fato significativo no 2º teste CAM, com os camundongos alimentados há 7 semanas com DHL com valores superiores de capacidade aeróbica em comparação aos alimentados com DP. Dietas ricas em gordura e pobres em carboidratos têm sido propostas para aumentar a capacidade aeróbica de atletas. Contudo, apesar de elas aumentarem a utilização de gordura como substrato energético pelos músculos, não há consenso de que isso melhore a performance (Burke, 2015). Esta questão está bem discutida na revisão de Cao *et al.* (2021). Não foi constatado esse efeito da dieta no último teste CAM.

Apesar da escolha de uma linhagem de camundongos (BALB/c) que apresenta maior capacidade aeróbica quando comparada a outras linhagens, apresentando facilidade em realizar EF em esteira rolante (Lightfoot *et al.*, 2001), a aderência ao treinamento físico sofreu variações. Alguns animais precisaram ser estimulados a correr (toques suaves na parte traseira - não foi usado choque elétrico) e outros apresentaram resistência ao exercício, adotando comportamentos como girar e ir no sentido oposto à corrida, buscando sair da esteira antes de adotarem um padrão de corrida normal. Isso causa um desgaste físico adicional podendo prejudicar a performance no teste CAM ou no treinamento (Copp *et al.*, 2009), afetando os resultados.

Ao se realizar protocolos na esteira ergométrica em modelo animal, uma série de recomendações devem ser observadas para resultados fidedignos (Copp *et al.*, 2009; Booth; Laye; Spangenburg, 2010). É necessário realizar adaptação à esteira; considerar o comportamento individualizado dos animais, por exemplo, nas alterações de velocidade da corrida; verificar as características que indicam a fadiga do animal (mudança no padrão da marcha e alterações no posicionamento corporal, como queda da cauda e elevação do focinho); observar a eventual falta de vontade de correr; entre outros. Esses diferentes fatores podem fazer com o que o animal encerre o EF, e, principalmente, testes de capacidade aeróbica por outros motivos que não a fadiga (Copp *et al.*, 2009). Todos esses detalhes foram cuidadosamente observados durante a execução deste trabalho prezando pelo bem-estar e

segurança do animal, mas também visando a obtenção de resultados confiáveis. Ainda assim, tanto a performance nos testes CAM quanto os efeitos do treinamento físico devem ser interpretados com cautela.

Da mesma forma como ocorre em humanos, os animais apresentaram diferenças em relação ao esforço físico e, por isso, foi observado a individualização da intensidade do treinamento e monitorado o empenho na corrida através da escala de esforço (descrita na seção Métodos da dissertação). Outra limitação é a impossibilidade de fornecer orientações para execução da tarefa e/ou estímulos verbais para os camundongos.

Algumas semanas de treinamento físico já são suficientes para aumentar a massa muscular e a força. O fato de que os exercícios mais usados no tratamento de camundongos com atrofia muscular são a corrida em esteira rolante e a corrida voluntária na roda de exercício para roedores sugerem benefícios do exercício aeróbico para ganho de massa e função muscular. Na realidade, o treinamento de força não é comum em murinos, principalmente porque necessita manipulação complexa dos animais (para revisão, Guo *et al.*, 2020). Em estudos com modelos experimentais, o teste de força (preensão manual dos membros) é usado para avaliar a variação da função muscular (Ge *et al.*, 2016; Castro; Kuang, 2017).

Aqui estes testes foram conduzidos nos mesmos dias que os testes CAM. Após 4 semanas de DP ou DHL e antes de se iniciar o período de treinamento, foi observado um efeito significativo da dieta tanto no pico de força quanto no pico de força relativo. Os camundongos que consumiram DHL apresentaram valores mais elevados em comparação aos grupos com DP. Em estudo anterior, o pico de força de preensão após 6 semanas de DHL não foi alterado em camundongos fêmeas ou machos. Entretanto, ao normalizar os parâmetros de força pelo peso corporal, as fêmeas submetidas à DHL apresentaram maior força que os machos (Munier *et al.*, 2022).

Dez semanas após o início da DHL ou DP, os animais NI_NT exibiram pico de força superior aos I_NT, independentemente do padrão alimentar

seguido. Como não houve diferença significativa entre NI_T e I_T, isso sugere que o treinamento aeróbico realizado durante 6 semanas permite a manutenção da força apesar da infecção por *T. cruzi*.

Após o período de treinamento (seis semanas) com padrão dietético mantido a 10 semanas, também foi notado que camundongos com DP_NI tiveram maior pico de força que os DHL_NI. Trabalho anterior já havia mostrado que a DHL prejudica a função muscular, com camundongos alimentados com DHL também por 10 semanas apresentando força de preensão duas vezes menor que aqueles sob DP (Tam *et al.*, 2015).

VII. CONCLUSÃO

A presente pesquisa representa um marco ao abordar de maneira integrada as três variáveis – infecção por *T. cruzi*, padrão alimentar e treinamento físico aeróbico pós-infecção. Assim, concluímos que:

- A infecção aguda por *T. cruzi* não impede a execução do treinamento físico diário a 60% da CAM durante 30 min. Embora não se tenha observado uma melhora na CAM após 6 semanas de treinamento com a infecção, a capacidade de realização de EF aeróbicos pode ter implicações benéficas para os portadores da DC (composição corporal, saúde mental e em outros sistemas fisiológicos).
- A infecção por *T. cruzi* prejudica a força muscular caso não seja realizado EF regular. Isso reforça a importância dos EF regulares para os portadores da DC.
- Adesão ao exercício físico varia entre os camundongos da linhagem BALB/c.
- Mesmo na ausência de infecção, a DHL prejudica a função muscular, reforçando a importância de uma dieta bem equilibrada para manutenção da massa magra e da força.
- O treinamento físico aeróbico moderado pós-infecção realizado na fase aguda não influenciou a carga parasitária na fase crônica em nenhum dos tecidos estudados.
- A DHL influenciou a carga parasitária no TAB e TAM, com número maior de parasitos comparado à DP. Isso confirma a ideia de que o TA é reservatório de *T. cruzi* na fase crônica da infecção e reforça o tropismo do parasito também pelo TAM.
- O *T. cruzi*, além de parasitar tecidos classicamente estudados, como coração e intestino, também possui tropismo pelo TAB e TAM. Aos 90 dpi, a carga parasitária no TAM < TAB = coração < sangue e intestino.

- A DHL se mostrou mais inflamatória para o TAB, TAM e intestino, principalmente quando associada à infecção.
- Nos achados histopatológicos só houve efeito crônico do treinamento no TAM, com maior grau de inflamação no treinados comparados aos sedentários.

Considerando a importância clínica que o EF possa ter, ressaltamos a importância de se considerar o volume, a intensidade, a frequência e o tipo de exercício, bem como possíveis contraindicações, para se obter os melhores resultados do exercício como agente terapêutico não farmacológico auxiliar no tratamento da DC. É essencial aprofundar a investigação do treinamento físico pós-infecção por *T. cruzi*, especialmente na fase crônica tardia. O uso de técnicas mais avançadas, como a eletromiografia, para observação do comportamento muscular e determinação se alterações no perfil de força resultam do recrutamento diferenciado de unidades motoras seria esclarecedor. Além disso, a mensuração das citocinas e expressão de genes inflamatórios no TAB e TAM podem fornecer uma compreensão mais refinada do papel do TA na fisiopatologia da DC. O estudo das subpopulações de adipócitos e das diferentes células imunológicas presentes no TA também pode contribuir para esse entendimento, reforçando a necessidade de pesquisas com abordagens mais amplas para entender o papel do TA na DC.

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD-FRANCH, F.; MONTEIRO, F. A. Molecular research and the control of Chagas disease vectors. v. 77, n. 3, p. 437–454, 2005.

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular**. v. 9. 2019

ABEL, L. C. J. *et al.* T cell epitope characterization in tandemly repetitive *Trypanosoma cruzi* B13 protein. **Microbes and Infection**, v. 7, n. 11–12, p. 1184–1195, ago. 2005.

ACEVEDO, G. R.; GIRARD, M. C.; GÓMEZ, K. A. The Unsolved Jigsaw Puzzle of the Immune Response in Chagas Disease. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 24 ago. 2018.

AGUILERA, E. *et al.* Polypharmacology in the Treatment of Chagas Disease. **Current Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 23, p. 4476–4489, 10 out. 2019.

ALBERCA, L. N. *et al.* Discovery of novel polyamine analogs with anti-protozoal activity by computer guided drug repositioning. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 30, n. 4, p. 305–321, 18 abr. 2016.

ALCALÁ, M. *et al.* Mechanisms of Impaired Brown Adipose Tissue Recruitment in Obesity. **Frontiers in Physiology**, v. 10, 13 fev. 2019.

ALTCLAS, J. *et al.* Chagas disease in bone marrow transplantation: an approach to preemptive therapy. **Bone Marrow Transplantation**, v. 36, n. 2, p. 123–129, 1 jul. 2005.

ALVES, R. *et al.* Peak oxygen uptake during the incremental shuttle walk test in a predominantly female population with Chagas heart disease. **European journal of physical and rehabilitation medicine**, v. 52, n. 1, p. 20–7, fev. 2016.

ANDRADE, V. *et al.* Avaliação do comportamento de diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi* na infecção de seis linhagens isogênicas de camundongos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 18, n. 3, p. 143–154, set. 1985.

ANDRADE, Z. A.; SILVA, H. R. R. Parasitism of adipocytes by *Trypanosoma cruzi*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, n. 4, p. 521–522, ago. 1995.

ANKER, S. D.; COATS, A. J. S. Cardiac Cachexia. **Chest**, v. 115, n. 3, p. 836–847, mar. 1999.

ANTINORI, S. *et al.* Chagas disease in Europe: A review for the internist in the globalized world. **European Journal of Internal Medicine**. Elsevier B.V., 1 set. 2017.

AOKI, M. P. *et al.* Cruzipain, a major *Trypanosoma cruzi* antigen, promotes arginase-2 expression and survival of neonatal mouse cardiomyocytes. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 286, n. 2, p. C206–C212, fev. 2004.

ARAÚJO, A. F. *et al.* Genetic Vaccination against Experimental Infection with Myotropic Parasite Strains of *Trypanosoma cruzi*. **Mediators of Inflammation**, v. 2014, p. 1–13, 2014.

ARAÚJO, P. F. *et al.* Sexual transmission of American trypanosomiasis in humans: a new potential pandemic route for Chagas parasites. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 6, p. 437–446, jun. 2017.

AYARI, A. *et al.* Influenza infection rewires energy metabolism and induces browning features in adipose cells and tissues. **Communications Biology**, v. 3, n. 1, p. 237, 14 maio 2020.

BARBOSA MARCON, G. E. *et al.* *Trypanosoma cruzi*: parasite persistence in tissues in chronic chagasic Brazilian patients. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 1, p. 85–91, 2011.

BASSO, C. *et al.* Myocarditis and Dilated Cardiomyopathy in Athletes: Diagnosis, Management, and Recommendations for Sport Activity. **Cardiology Clinics**, v. 25, n. 3, p. 423–429, ago. 2007.

BECHAH, Y. *et al.* Adipose Tissue Serves as a Reservoir for Recrudescence *Rickettsia prowazekii* Infection in a Mouse Model. **PLoS ONE**, v. 5, n. 1, p. e8547, 1 jan. 2010.

BENVENUTI, L. A. *et al.* Chronic American trypanosomiasis: parasite persistence in endomyocardial biopsies is associated with high-grade myocarditis. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 102, n. 6, p. 481–487, 18 set. 2008.

BERBÉE, J. F. P. *et al.* Brown fat activation reduces hypercholesterolaemia and protects from atherosclerosis development. **Nature Communications**, v. 6, n. 1, p. 6356, 10 mar. 2015.

BERN, C. Chagas' Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 5, p. 456–466, 30 jul. 2015.

BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. Correlation between 'lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. **Journal of Endocrinology**, v.40, n.4, p.527-528, 1968.

BLAIN, H. *et al.* The preventive effects of physical activity in the elderly. **Presse medicale** (Paris, France: 1983), v. 29, n. 22, p. 1240–8, 24 jun. 2000.

BLÜHER, M.; MANTZOROS, C. S. From leptin to other adipokines in health and disease: Facts and expectations at the beginning of the 21st century. **Metabolism**, v. 64, n. 1, p. 131–145, jan. 2015.

DE BONA, E. *et al.* Autoimmunity in Chronic Chagas Disease: A Road of Multiple Pathways to Cardiomyopathy? **Frontiers in Immunology**, v. 9, 6 ago. 2018.

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

BONNEY, K. M. *et al.* Pathology and Pathogenesis of Chagas Heart Disease Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease **Annual Reviews Inc.**, 2019.

BOOTH, F. W.; LAYE, M. J.; SPANGENBURG, E. E. Gold standards for scientists who are conducting animal-based exercise studies. **Journal of Applied Physiology**, v. 108, n. 1, p. 219–221, jan. 2010.

BORGES, D. C. *et al.* Different parasite inocula determine the modulation of the immune response and outcome of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. **Immunology**, v. 138, n. 2, p. 145–156, 16 fev. 2013.

BOURGEOIS, C. *et al.* Specific Biological Features of Adipose Tissue, and Their Impact on HIV Persistence. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 17 dez. 2019.

BRAGA, Y. L. L. *et al.* Interleukin-32 γ in the Control of Acute Experimental Chagas Disease. **Journal of Immunology Research**, v. 2022, p. 1–9, 20 jan. 2022.

BRASIL, M. DA S. **Guia de vigilância em saúde ministério da saúde** 3ª edição. 2019.

BRASIL. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE; MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico Territorialização e vulnerabilidade para doença de Chagas crônica**. 2022.

BRENER, Z. *Trypanosoma cruzi*: morfologia e Ciclo evolutivo. **SciELO Books**, p. 25–31, 1997.

BRENER, Z. **THERAPEUTIC ACTIVITY ANO CRITERION OF CURE ON MICE EXPERIMENTALLY INFECTED WITH TRYPANOSOMA CRUZ**, 1962.

BRUNETO, E. G. *et al.* Case-fatality from Orally-transmitted Acute Chagas Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 72, n. 6, p. 1084–1092, 15 mar. 2021.

BURKE, L. M. Re-Examining High-Fat Diets for Sports Performance: Did We Call the 'Nail in the Coffin' Too Soon? **Sports Medicine**, v. 45, n. S1, p. 33–49, 9 nov. 2015.

BURKE, S. *et al.* Adipocytes in both brown and white adipose tissue of adult mice are functionally connected via gap junctions: implications for Chagas disease. **Microbes and Infection**, v. 16, n. 11, p. 893–901, nov. 2014.

- CALDERON-DOMINGUEZ, M. *et al.* Fatty acid metabolism and the basis of brown adipose tissue function. **Adipocyte**, v. 5, n. 2, p. 98–118, 2 abr. 2016.
- CAMANDAROBA, E. L. P. Análise fenotípica e genotípica de clones da cepa Colombiana do *Trypanosoma cruzi*, isolados na fase aguda, precoce e avançada da infecção. **Investigação da resposta à quimioterapia**. Salvador: 2005.
- CAMANDAROBA, E. *et al.* *Trypanosoma cruzi*: clones isolated from the Colombian strain, reproduce the parental strain characteristics, with ubiquitous histotropism. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 87, n. 3, p. 209–217, 18 jun. 2006.
- CANNON, M. J.; SCHMID, D. S.; HYDE, T. B. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. **Reviews in Medical Virology**, v. 20, n. 4, p. 202–213, jul. 2010.
- CAO, J. *et al.* The Effect of a Ketogenic Low-Carbohydrate, High-Fat Diet on Aerobic Capacity and Exercise Performance in Endurance Athletes: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Nutrients**, v. 13, n. 8, p. 2896, 23 ago. 2021.
- CARDOSO, R. N. *et al.* Chagas cardiomyopathy is associated with higher incidence of stroke: A meta-analysis of observational studies. **Journal of Cardiac Failure**, v. 20, n. 12, p. 931–938, 1 dez. 2014.
- CARLIER, Y.; TRUYENS, C. Maternal–Fetal Transmission of *Trypanosoma cruzi*. *Em: American Trypanosomiasis*. [s.l.] Elsevier, 2010. p. 539–581.
- CARLOS, J.; DIAS, P.; NETO, V. A. **Prevenção referente às modalidades alternativas de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil**. 2011
- DIAS, J. *et al.* II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 25, p. 7–86, 2016.
- CAROD-ARTAL, F. J. Policy implications of the changing epidemiology of chagas disease and stroke. **Stroke**, v. 44, n. 8, p. 2356–2360, ago. 2013.
- CASTRO, B.; KUANG, S. Evaluation of Muscle Performance in Mice by Treadmill Exhaustion Test and Whole-limb Grip Strength Assay. **BIO-PROTOCOL**, v. 7, n. 8, 2017.
- NOBRE, A. C. *et al.* Insights from the use of erythropoietin in experimental Chagas disease. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 19, p. 65–80, 1 ago. 2022.
- CAVA, A. LA. Regulatory immune cell subsets in autoimmunity. **Autoimmunity**, v. 44, n. 1, p. 1–2, 29 fev. 2011.
- CEVALLOS, A. M.; HERNÁNDEZ, R. Chagas' Disease: Pregnancy and Congenital Transmission. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–10, 2014.

CHAGAS, C. New human trypanosomiasis. Morphology and life cycle of *Schyzotrypanum cruzi*, the cause of a new human disease. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 47, n. 1, p. 159–218, 1909.

CHENG, L. *et al.* Brown and beige adipose tissue: a novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes mellitus. **Adipocyte**, v. 10, n. 1, p. 48–65, 1 jan. 2021.

CHENG, S. *et al.* Hyperoside prevents high-fat diet-induced obesity by increasing white fat browning and lipophagy via CDK6-TFEB pathway. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 307, p. 116259, maio 2023.

CLAES, F. *et al.* Bioluminescent Imaging of *Trypanosoma brucei* Shows Preferential Testis Dissemination Which May Hamper Drug Efficacy in Sleeping Sickness. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 7, p. e486, 21 jul. 2009.

COELHO, M.; OLIVEIRA, T.; FERNANDES, R. **Biochemistry of adipose tissue: An endocrine organ***Archives of Medical Science*, abr. 2013.

COMBS, T. P. *et al.* The Adipocyte as an Important Target Cell for *Trypanosoma cruzi* Infection. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 25, p. 24085–24094, jun. 2005.

CONTEH, L.; ENGELS, T.; MOLYNEUX, D. H. **Socioeconomic aspects of neglected tropical diseases***The Lancet*Elsevier B.V., , 2010.

CONTRERAS, N. A. *et al.* Life-long control of cytomegalovirus (CMV) by T resident memory cells in the adipose tissue results in inflammation and hyperglycemia. **PLOS Pathogens**, v. 15, n. 6, p. e1007890, 20 jun. 2019.

COPP, S. W. *et al.* Reproducibility of endurance capacity and $\dot{V}O_{2peak}$ in male Sprague-Dawley rats. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, n. 4, p. 1072–1078, abr. 2009.

CRISTOVÃO-SILVA, A. C. *et al.* Chagas disease: Immunology of the disease at a glance. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 62, p. 15–22, dez. 2021.

DEMPERSMIER, J. *et al.* Cold-Inducible Zfp516 Activates UCP1 Transcription to Promote Browning of White Fat and Development of Brown Fat. **Molecular Cell**, v. 57, n. 2, p. 235–246, jan. 2015.

DHIMAN, M. *et al.* Mice Control Myocardial Inflammatory and Oxidative Stress and Remodeling Responses Elicited in Chronic Chagas Disease. **Journal of the American Heart Association**, v. 2, n. 5, 26 set. 2013.

DIAS, J. C. P. The indeterminate form of human chronic chagas' disease a clinical epidemiological review. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 22, n. 3, p. 147–156, 1989.

_____. Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bio-ecológicas, como agente de enfermidades transmitidas por alimentos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 4, p. 370–375, 2006.

- DIAS, J C. P. Doença de Chagas e transfusão de sangue no Brasil: vigilância e desafios. **Rev. bras. hematol. hemoter.**, v. 28, n. 2, p. 81–87, 2006.
- DIAS, J. C. P.; AMATO NETO, V.; LUNA, E. J. DE A. Mecanismos alternativos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil e sugestões para sua prevenção. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 375–379, 27 maio 2011.
- DOCHERTY, S. *et al.* The effect of exercise on cytokines: implications for musculoskeletal health: a narrative review. **BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation**, v. 14, n. 1, p. 5, 6 dez. 2022.
- ELASED, K.; PLAYFAIR, J. H. Hypoglycemia and hyperinsulinemia in rodent models of severe malaria infection. **Infection and Immunity**, v. 62, n. 11, p. 5157–5160, nov. 1994.
- ESPER, L. *et al.* Molecular mechanisms of myocarditis caused by *Trypanosoma cruzi*. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 28, n. 3, p. 246–252, jun. 2015.
- FALUTZ, J. HIV infection, body composition changes and related metabolic complications: contributing factors and evolving management strategies. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 14, n. 3, p. 255–260, maio 2011.
- FASSHAUER, M.; BLÜHER, M. Adipokines in health and disease. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 36, n. 7, p. 461–470, jul. 2015.
- FERNANDES, S. A. T. *et al.* Dieta hiperlipídica e ácido linoleico conjugado: efeitos nos lipídios séricos, peso e composição corporal de camundongos Apo E(-/-) exercitados. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 20, n. 1, p. 47–55, 2012.
- FERNANDO, P.; BONEN, A.; HOFFMAN-GOETZ, L. Predicting submaximal oxygen consumption during treadmill running in mice. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 71, n. 10–11, p. 854–857, 1 out. 1993.
- FERREIRA, A. V. M. *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, nov. 2011.
- FERREIRA, H. O. DE. [Acute form of Chagas' disease treated by nitrofurazone]. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 3, p. 287–9, 1961.
- FIALHO, P. H. *et al.* Effects of an exercise program on the functional capacity of patients with chronic Chagas' heart disease, evaluated by cardiopulmonary testing. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 2, p. 220–224, abr. 2012.

- FIGUEIREDO, V. P. *et al.* High fat diet modulates inflammatory parameters in the heart and liver during acute *Trypanosoma cruzi* infection. **International Immunopharmacology**, v. 64, p. 192–200, nov. 2018.
- FONSECA, G. W. P. *et al.* Muscle mass, muscle strength, and functional capacity in patients with heart failure of Chagas disease and other aetiologies. **ESC Heart Failure**, v. 7, n. 5, p. 3086–3094, 28 out. 2020.
- ALANIZ, F. *et al.* O Tecido Adiposo Como Centro Regulador do Metabolismo. **Arq Bras Endocrinol Metab.** 2006.
- ALANIZ, F. M. H.; *et al.* Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. **Jornal de Pediatria**, v. 0, n. 0, 6 nov. 2007.
- FOSSATI, C. *et al.* Physical Exercise and Mental Health: The Routes of a Reciprocal Relation. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 23, p. 12364, 24 nov. 2021.
- FRANKE-FAYARD, B. *et al.* Murine malaria parasite sequestration: CD36 is the major receptor, but cerebral pathology is unlinked to sequestration. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 32, p. 11468–11473, 9 ago. 2005.
- FRIGOLET, M. E.; GUTIÉRREZ-AGUILAR, R. The colors of adipose tissue. **Gaceta Medica de Mexico**, v. 156, n. 2, p. 142–149, 2020.
- GABRIEL, B. M.; ZIERATH, J. R. The Limits of Exercise Physiology: From Performance to Health. **Cell Metabolism**, v. 25, n. 5, p. 1000–1011, maio 2017.
- GE, X. *et al.* Grip strength is potentially an early indicator of age-related decline in mice. **Pathobiology of Aging & Age-related Diseases**, v. 6, n. 1, 1 jan. 2016.
- GESTA, S.; TSENG, Y.-H.; KAHN, C. R. Developmental Origin of Fat: Tracking Obesity to Its Source. **Cell**, v. 131, n. 2, p. 242–256, out. 2007.
- GHORBANI, M.; HIMMS-HAGEN, J. Appearance of brown adipocytes in white adipose tissue during CL 316,243-induced reversal of obesity and diabetes in Zucker fa/fa rats. **International Journal of Obesity**, v. 21, n. 6, p. 465–475, 18 jun. 1997.
- GIRALT, M.; CEREIJO, R.; VILLARROYA, F. Adipokines and the Endocrine Role of Adipose Tissues. *Em*: [s.l: s.n.]. p. 265–282.
- GIRONÈS, N.; CUERVO, H.; FRESNO, M. *Trypanosoma cruzi*-Induced Molecular Mimicry and Chagas' Disease. *Em*: **Molecular Mimicry: Infection-Inducing Autoimmune Disease**. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, [s.d.]. p. 89–123.
- GÓES COSTA, E. DE *et al.* Acute Chagas Disease in the Brazilian Amazon: Epidemiological and clinical features. **International Journal of Cardiology**, v. 235, p. 176–178, 15 maio 2017.

- GOMES, C.L. *et al.* American trypanosomiasis and Chagas disease: Sexual transmission. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 81, p. 81–84, abr. 2019.
- DA COSTA, G. S. C. *et al.* *Trypanosoma cruzi*: infection patterns in intact and athymic mice of susceptible and resistant genotypes. **Histology and histopathology**, v. 17, n. 3, p. 837–44, 2002.
- GONÇALVES, K. R. *et al.* The entrance route: Oral, mucous, cutaneous, or systemic has a marked influence on the outcome of *Trypanosoma cruzi* experimental infection. **Acta Tropica**, v. 234, p. 106581, out. 2022.
- GRAF, C.; FERRARI, N. Metabolic Health—The Role of Adipo-Myokines. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 24, p. 6159, 6 dez. 2019.
- GRANT, R. W.; DIXIT, V. D. Adipose tissue as an immunological organ. **Obesity**, v. 23, n. 3, p. 512–518, 22 mar. 2015.
- GU, X.; WANG, L.; LIU, S.; SHAN, T. Adipose tissue adipokines and lipokines: Functions and regulatory mechanism in skeletal muscle development and homeostasis. **Metabolism**, v. 139, p. 155379, fev. 2023.
- GUIMARO, M. C. *et al.* Inhibition of Autoimmune Chagas-Like Heart Disease by Bone Marrow Transplantation. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 12, p. e3384, 18 dez. 2014.
- GUO, S. *et al.* Impacts of exercise interventions on different diseases and organ functions in mice. **Journal of Sport and Health Science**, v. 9, n. 1, p. 53–73, jan. 2020.
- GUTIERREZ, F. R. S. *et al.* The role of parasite persistence in pathogenesis of Chagas heart disease. **Parasite Immunology**, v. 31, n. 11, p. 673–685, 7 nov. 2009.
- HAGSTRÖM, L. *et al.* The use of qPCR in human Chagas disease: a systematic review. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, v. 19, n. 10, p. 875–894, 3 out. 2019.
- HARMS, M.; SEALE, P. Brown and beige fat: Development, function and therapeutic potential. **Nature Medicine**, out. 2013.
- HASKELL, W. L. *et al.* Physical Activity and Public Health. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 39, n. 8, p. 1423–1434, ago. 2007.
- HAZAN, U. *et al.* Human adipose cells express CD4, CXCR4, and CCR5 receptors: a new target cell type for the immunodeficiency virus-1? **The FASEB Journal**, v. 16, n. 10, p. 1254–1256, 21 ago. 2002.
- HECHT, M. M. *et al.* Inheritance of DNA Transferred from American Trypanosomes to Human Hosts. **PLoS ONE**, v. 5, n. 2, p. e9181, 12 fev. 2010.

- HERZ, C. T.; KIEFER, F. W. Adipose tissue browning in mice and humans. **Journal of Endocrinology**, v. 241, n. 3, p. R97–R109, jun. 2019.
- HIGA, T. S. *et al.* Comparison between cafeteria and high-fat diets in the induction of metabolic dysfunction in mice. **International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology**, v. 6, n. 1, p. 47–54, 2014.
- HIGUCHI, M. DE L. *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, abr. 1993.
- HIGUCHI, M. L. DE *et al.* The Role of active myocarditis in the development of heart failure in chronic chagas' disease: A study based on endomyocardial biopsies. **Clinical Cardiology**, v. 10, n. 11, p. 665–670, 5 nov. 1987.
- HOPEWELL, P. C.; JASMER, R. M. Overview of Clinical Tuberculosis. *Em: Tuberculosis and the Tubercle Bacillus*. [s.l.] Wiley, 2004. p. 13–31.
- HOSSAIN, E. *et al.* Mapping of host-parasite-microbiome interactions reveals metabolic determinants of tropism and tolerance in Chagas disease. **Science Advances**, v. 6, n. 30, 24 jul. 2020.
- HOTEZ, P. J.; FUJIWARA, R. T. Brazil's neglected tropical diseases: an overview and a report card. **Microbes and Infection**, v. 16, n. 8, p. 601–606, ago. 2014.
- HYLAND, K. V. *et al.* Modulation of Autoimmunity by Treatment of an Infectious Disease. **Infection and Immunity**, v. 75, n. 7, p. 3641–3650, jul. 2007.
- IRVING, B. A.; STILL, C. D.; ARGYROPOULOS, G. Does IRISIN Have a BRITE Future as a Therapeutic Agent in Humans? **Current obesity reports**, v. 3, n. 2, p. 235–41, 2014.
- KENNEDY, P. G. Clinical features, diagnosis, and treatment of human African trypanosomiasis (sleeping sickness). **The Lancet Neurology**, v. 12, n. 2, p. 186–194, fev. 2013.
- KONG, X. *et al.* Brown Adipose Tissue Controls Skeletal Muscle Function via the Secretion of Myostatin. **Cell Metabolism**, v. 28, n. 4, p. 631- 643.e3, out. 2018.
- LABBÉ, S. M. *et al.* Interscapular brown adipose tissue denervation does not promote the oxidative activity of inguinal white adipose tissue in male mice. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 315, n. 5, p. E815–E824, 1 nov. 2018.
- LAURA SBARAGLINI, M. *et al.* Neglected Tropical Protozoan Diseases: Drug Repositioning as a Rational Option. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 19, p. 2201–2222, 30 maio 2016.
- LEE G; GOOSENS K.A. **Sampling Blood from the lateral tail vein of the rat**. *J. Vis.* v.99, p.e52766, 2015.

- LEON, J. S.; ENGMAN, D. M. Autoimmunity in Chagas heart disease. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 5–6, p. 555–561, maio 2001.
- LEWIS, M. D. *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, 2014.
- LI, J. *et al.* High fat diet induced obesity model using four strains of mice: Kunming, C57BL/6, BALB/c and ICR. **Experimental Animals**, v. 69, n. 3, p. 326–335, 2020.
- LICHTENBELT, W. D. V. M. *et al.* Cold-Activated Brown Adipose Tissue in Healthy Men. **New England Journal of medicine**, v. 360, n. 15, p. 1500–1508, 9 abr. 2009.
- LIDANI, K. C. F. *et al.* Chagas Disease: From Discovery to a Worldwide Health Problem. **Frontiers in Public Health**, v. 7, 2 jul. 2019.
- LIGHTFOOT, J. T. *et al.* Interstrain variation in murine aerobic capacity. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 33, n. 12, p. 2053–2057, dez. 2001.
- LIMA, M. M. O. *et al.* A randomized trial of the effects of exercise training in Chagas cardiomyopathy. **European Journal of Heart Failure**, v. 12, n. 8, p. 866–873, 13 ago. 2010.
- LIZARDO, K. *et al.* High fat diet aggravates cardiomyopathy in murine chronic Chagas disease. **Microbes and Infection**, v. 21, n. 1, p. 63–71, jan. 2019.
- LIZARDO, K. *et al.* Fat tissue regulates the pathogenesis and severity of cardiomyopathy in murine chagas disease. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 4, p. e0008964, 7 abr. 2021.
- LIZCANO, F.; ARROYAVE, F. Control of Adipose Cell Browning and Its Therapeutic Potential. **Metabolites**, v. 10, n. 11, p. 471, 19 nov. 2020.
- LUCCHETTI, B. F. C. *et al.* Moderate Treadmill Exercise Training Improves Cardiovascular and Nitrergic Response and Resistance to *Trypanosoma cruzi* Infection in Mice. **Frontiers in Physiology**, v. 8, 18 maio 2017.
- LUONG, Q.; HUANG, J.; LEE, K. Y. Deciphering White Adipose Tissue Heterogeneity. **Biology**, v. 8, n. 2, p. 23, 11 abr. 2019.
- MAGALHÃES-SANTOS, Í. F. Transmissão oral da Doença de Chagas: breve revisão Oral. **Rev. Ciênc. Méd. Biol**, n. 2, p. 226–235, 2014.
- MALESZA, I. J. *et al.* High-Fat, Western-Style Diet, Systemic Inflammation, and Gut Microbiota: A Narrative Review. **Cells**, v. 10, n. 11, p. 3164, 14 nov. 2021.
- MARTINEZ, F. *et al.* Chagas Disease and Heart Failure: An Expanding Issue Worldwide. **European Cardiology Review**, v. 14, n. 2, p. 82–88, 11 jul. 2019.

- MARTINS-MELO, F. R. *et al.* Mortalité due aux maladies tropicales négligées au Brésil sur la période 2000–2011. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 94, n. 2, p. 103–110, 1 fev. 2016.
- MATSUDA, N. M. *et al.* The Chronic Gastrointestinal Manifestations of Chagas Disease. **Clinics**, v. 64, n. 12, p. 1219–1224, dez. 2009.
- MENDES, M. DE F. A. *et al.* Exercício físico aeróbico em mulheres com doença de Chagas. **Fisioterapia em Movimento**, v. 24, n. 4, p. 591–601, dez. 2011.
- MENDEZ-GUTIERREZ, A. *et al.* Exercise-induced changes on exerkines that might influence brown adipose tissue metabolism in young sedentary adults. **European Journal of Sport Science**, v. 23, n. 4, p. 625–636, 3 abr. 2023.
- MILNER, D. A. *et al.* Quantitative Assessment of Multiorgan Sequestration of Parasites in Fatal Pediatric Cerebral Malaria. **Journal of Infectious Diseases**, v. 212, n. 8, p. 1317–1321, 15 out. 2015.
- MILNER, D. A. *et al.* The systemic pathology of cerebral malaria in African children. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 4, 21 ago. 2014.
- MOLDOVEANU, A. I.; SHEPHARD, R. J.; SHEK, P. N. The Cytokine Response to Physical Activity and Training. **Sports Medicine**, v. 31, n. 2, p. 115–144, 2001.
- MORAIS, A. S. **Elucidação dos mecanismos de integração de minicírculos de kDNA de *Trypanosoma cruzi* no genoma do hospedeiro.** Brasília: Universidade de Brasília, 2022.
- MOREIRA, N. M. *et al.* Moderate Physical Exercise Protects Myenteric Metabolically More Active Neurons in Mice Infected with *Trypanosoma cruzi*. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 59, n. 2, p. 307–314, 2 fev. 2014a.
- MOREIRA, N. M. *et al.* Physical exercise protects myenteric neurons and reduces parasitemia in *Trypanosoma cruzi* infection. **Experimental Parasitology**, v. 141, p. 68–74, jun. 2014b.
- MORILLO, C. A. *et al.* Randomized Trial of Benznidazole for Chronic Chagas' Cardiomyopathy. **New England Journal of medicine**, v. 373, n. 14, p. 1295–1306, out. 2015.
- MUNIER, J. J. *et al.* Simultaneous monitoring of mouse grip strength, force profile, and cumulative force profile distinguishes muscle physiology following surgical, pharmacologic and diet interventions. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 16428, 30 set. 2022.
- NAGAJYOTHI, F. *et al.* Response of Adipose Tissue to Early Infection With *Trypanosoma cruzi* (Brazil Strain). **Journal of Infectious Diseases**, v. 205, n. 5, p. 830–840, 1 mar. 2012.

- NAGAJYOTHI, F. *et al.* Mechanisms of *Trypanosoma cruzi* persistence in Chagas disease. **Cellular Microbiology**, maio 2012.
- NAGAJYOTHI, F. *et al.* High Fat Diet Modulates *Trypanosoma cruzi* Infection Associated Myocarditis. **PLoS Negl Trop Dis.**, v. 8, n. 10, 2014.
- NAGAJYOTHI, J. F.; WEISS, L. M. Advances in understanding the role of adipose tissue and mitochondrial oxidative stress in *Trypanosoma cruzi* infection. **F1000Research**, v. 8, p. 1152, 22 jul. 2019.
- NAKAMURA, Y.; NAKAMURA, K. Central regulation of brown adipose tissue thermogenesis and energy homeostasis dependent on food availability. **Pflügers Archiv - European Journal of Physiology**, v. 470, n. 5, p. 823–837, 5 maio 2018.
- NASCIMENTO, B. R. *et al.* Effects of Exercise Training on Heart Rate Variability in Chagas Heart Disease. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2014.
- NEDERGAARD, J.; CANNON, B. How brown is brown fat? It depends where you look. **Nature Medicine**, v. 19, n. 5, p. 540–541, 7 maio 2013.
- NEYROLLES, O. *et al.* Is Adipose Tissue a Place for Mycobacterium tuberculosis Persistence? **PLoS ONE**, v. 1, n. 1, p. e43, 20 dez. 2006.
- NIELSEN, T. S. *et al.* Dissecting adipose tissue lipolysis: molecular regulation and implications for metabolic disease. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 52, n. 3, p. R199–R222, jun. 2014.
- NITZ, N. *et al.* Heritable Integration of kDNA Minicircle Sequences from *Trypanosoma cruzi* into the Avian Genome: Insights into Human Chagas Disease. **Cell**, v. 118, n. 2, p. 175–186, jul. 2004.
- NOBRE, T. *et al.* Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* in pregnant women in Midwest Brazil: An evaluation of congenital transmission. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 63, p. 1–7, 2021.
- NOVELLI, E. L. B. *et al.* Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. <http://dx.doi.org/10.1258/002367707779399518>, v. 41, n. 1, p. 111–119, 1 jan. 2007.
- NUNES, M. C. P. *et al.* Ischemic cerebrovascular events in patients with Chagas cardiomyopathy: A prospective follow-up study. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 278, n. 1–2, p. 96–101, 15 mar. 2009.
- NYATANYI, T. *et al.* A Mixed Outbreak of Epidemic Typhus Fever and Trench Fever in a Youth Rehabilitation Center: Risk Factors for Illness from a Case-Control Study, Rwanda, 2012. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 2, p. 452–456, 3 ago. 2016.
- OPAS, O. P.-A. DE S. **Guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas disease**. Washington, D.C: 2023.

- OZURU, R. *et al.* Adipose tissue is the first colonization site of *Leptospira interrogans* in subcutaneously infected hamsters. **PLOS ONE**, v. 12, n. 2, p. e0172973, 28 fev. 2017.
- PEDERSEN, B. K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the Immune System: Regulation, Integration, and Adaptation. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 3, p. 1055–1081, 1 jul. 2000.
- PEDRA-REZENDE, Y. *et al.* Physical Exercise Promotes a Reduction in Cardiac Fibrosis in the Chronic Indeterminate Form of Experimental Chagas Disease. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 4 nov. 2021.
- PEREIRA, J. L. *et al.* Ganho de peso e alterações metabólicas em camundongos submetidos à dieta hiperlipídica. **Ciência & Saúde**, v. 11, n. 1, p. 51, 17 abr. 2018.
- PEREZ, G. S. *et al.* Does a high-fat diet-induced obesity model brown adipose tissue thermogenesis? A systematic review. **Archives of Medical Science**, v. 17, n. 3, p. 596–602, 6 maio 2021.
- PÉREZ-AYALA, A. *et al.* Gastro-intestinal Chagas disease in migrants to Spain: prevalence and methods for early diagnosis. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 105, n. 1, p. 25, jan. 2011.
- PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. **The Lancet**. Lancet Publishing Group, 6 jan. 2018.
- PERONE, D. *et al.* *Trypanosoma cruzi*: identification and characterization of a novel ribosomal protein L27 (TcrL27) that cross-reacts with an affinity-purified anti-Sm antibody. **Parasitology**, v. 126, n. Pt 6, p. 577–83, jun. 2003.
- PERSONIUS, K. E. *et al.* contractile properties, and voluntary wheel running after postdevelopmental myostatin depletion in mice. **Journal of Applied Physiology**, v. 109, n. 3, p. 886–894, set. 2010.
- PICARDEAU, M. *Leptospira* and Leptospirosis. *Em*: [s.l: s.n.]. p. 271–275.
- PICOLI, C. DE C. *et al.* Peak velocity as an alternative method for training prescription in mice. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n. FEB, 6 fev. 2018.
- PINAZO, M. J. *et al.* Diagnosis, management and treatment of chronic Chagas' gastrointestinal disease in areas where *Trypanosoma cruzi* infection is not endemic. **Gastroenterología y Hepatología**, v. 33, n. 3, p. 191–200, mar. 2010.
- PINTO, A. Y. D. N. *et al.* Fase aguda da doença de Chagas na Amazônia brasileira: estudo de 233 casos do Pará, Amapá e Maranhão observados entre 1988 e 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 602–614, nov. 2008.
- PONTES, V. M. O. DE. *et al.* Reações adversas em pacientes com doença de Chagas tratados com benzonidazol, no Estado do Ceará. **Revista da**

Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 43, n. 2, p. 182–187, abr. 2010.

PRATA, A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 1, n. 2, p. 92–100, set. 2001.

RAMÍREZ-TOLOZA, G.; FERREIRA, A. *Trypanosoma cruzi* evades the complement system as an efficient strategy to survive in the mammalian host: The specific roles of host/parasite molecules and *Trypanosoma cruzi* calreticulin. **Frontiers in Microbiology**. Frontiers Media S.A., 1 set. 2017.

RAOULT, D.; MARRIE, T.; MEGE, J. Natural history and pathophysiology of Q fever. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 5, n. 4, p. 219–226, abr. 2005.

RASSI, A.; RASSI, A.; MARCONDES DE REZENDE, J. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 275–291, 1 jun. 2012.

RASSI, A.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J. A. Chagas disease. **The Lancet**. Elsevier B.V., 2010.

RASSI JR, A.; RASSI, S. G.; RASSI, A. Sudden Death in Chagas' Disease. **Arq Bras Cardiol**, v. 76, n. 1, p. 86–96, 2001.

RAY, A. *et al.* Infections and immunity: associations with obesity and related metabolic disorders. **Journal of Pathology and Translational Medicine**, v. 57, n. 1, p. 28–42, 15 jan. 2023.

RÉGNIER, M. *et al.* Inulin increases the beneficial effects of rhubarb supplementation on high-fat high-sugar diet-induced metabolic disorders in mice: impact on energy expenditure, brown adipose tissue activity, and microbiota. **Gut Microbes**, v. 15, n. 1, 31 dez. 2023.

REIS, S. A. DOS R. DOS. **O PAPEL DO TECIDO ADIPOSEO PARA A IMUNOPATOLOGIA DA HANSENÍASE**. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 2021.

RIBEIRO, A. L. *et al.* Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy. **Nature Reviews Cardiology**, v. 9, n. 10, p. 576–589, 31 out. 2012.

RIBEIRO, M. *et al.* Sexual transmission of *Trypanosoma cruzi* in murine model. **Experimental Parasitology**, v. 162, p. 1–6, 1 mar. 2016.

RIBEIRO, V. *et al.* Current trends in the pharmacological management of Chagas disease. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 12, p. 7–17, abr. 2020.

RICQUIER, D.; BOUILLAUD, F. The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. **The Biochemical journal**, v. 345 Pt 2, n. Pt 2, p. 161–79, 15 jan. 2000.

RODRIGUES, B. *et al.* Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. **Cardiovascular Diabetology**, v. 6, n. 1, p. 38, 13 dez. 2007.

RODRÍGUEZ, A. *et al.* Revisiting the adipocyte: a model for integration of cytokine signaling in the regulation of energy metabolism. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 309, n. 8, p. E691–E714, 15 out. 2015.

ROQUE, A. L. R.; JANSEN, A. M. **Reservatórios do *Trypanosoma cruzi* e sua relação com os vetores**. Curitiba: [s.n.]. Disponível em: <<https://books.scielo.org/id/mw58j/pdf/galvao-9788598203096-07.pdf>>. Acesso em: 26 set. 2023.

ROSSI, M. A. The pattern of myocardial fibrosis in chronic Chagas' heart disease. **International Journal of Cardiology**, v. 30, n. 3, p. 335–340, 1 mar. 1991.

ROSSI, M. A.; CAROBREZ, S. G. Experimental *Trypanosoma cruzi* cardiomyopathy in BALB/c mice: histochemical evidence of hypoxic changes in the myocardium. **British journal of experimental pathology**, v. 66, n. 2, p. 155–60, abr. 1985.

ROSSI, M. A.; GONÇALVES, S.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, R. Experimental *Trypanosoma cruzi* cardiomyopathy in BALB/c mice. The potential role of intravascular platelet aggregation in its genesis. **The American journal of pathology**, v. 114, n. 2, p. 209–16, fev. 1984.

RUIJTER, J. M. *et al.* Removal of between-run variation in a multi-plate qPCR experiment. **Biomolecular Detection and Quantification**, v. 5, p. 10–14, set. 2015.

SAELY, C. H.; GEIGER, K.; DREXEL, H. Brown versus White Adipose Tissue: A Mini-Review. **Gerontology**, v. 58, n. 1, p. 15–23, 2012.

SAITO, M. *et al.* High Incidence of Metabolically Active Brown Adipose Tissue in Healthy Adult Humans. **Diabetes**, v. 58, n. 7, p. 1526–1531, 1 jul. 2009.

SAMARAS, K. *et al.* Prevalence of Metabolic Syndrome in HIV-Infected Patients Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy Using International Diabetes Foundation and Adult Treatment Panel III Criteria. **Diabetes Care**, v. 30, n. 1, p. 113–119, 1 jan. 2007.

SAMBROOK, J.; RUSSEL, D. W. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 3ª ed. 2001.

SANCHEZ-DELGADO, G. *et al.* Role of Exercise in the Activation of Brown Adipose Tissue. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 67, n. 1, p. 21–32, 2015.

- SÁNCHEZ-VALDÉZ, R. L. *et al.* Spontaneous dormancy protects *Trypanosoma cruzi* during extended drug exposure. **eLife**, v. 7, 26 mares. 2018.
- SANTANA, K. H. *et al.* Epidemiology of Chagas disease in pregnant women and congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Americas: systematic review and meta-analysis. **Tropical Medicine and International Health**, v. 25, n. 7, p. 752–763, 1 jul. 2020.
- SANTOS-BUCH, C. A.; TEIXEIRA, A. R. L. The immunology of experimental chagas' disease iii. Rejection of allogeneic heart cells in vitro. **Journal of Experimental Medicine**, v. 140, n. 1, p. 38–53, 1 jul. 1974.
- SCHEBELESKI-SOARES, C. *et al.* Preinfection aerobic treadmill training improves resistance against *Trypanosoma cruzi* infection in mice. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 34, n. 4, p. 659–665, ago. 2009.
- SCHEJA, L.; HEEREN, J. The endocrine function of adipose tissues in health and cardiometabolic disease. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, n. 9, p. 507–524, 11 set. 2019.
- SEYDEL, K. B. *et al.* The Distribution and Intensity of Parasite Sequestration in Comatose Malawian Children. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 194, n. 2, p. 208–205, 15 jul. 2006.
- SHI, X. *et al.* Allicin Improves Metabolism in High-Fat Diet-Induced Obese Mice by Modulating the Gut Microbiota. **Nutrients**, v. 11, n. 12, p. 2909, 2 dez. 2019.
- SHIKANAI-YASUDA, M. A.; CARVALHO, N. B. Oral Transmission of Chagas Disease. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, n. 6, p. 845–852, 2012.
- SHOEMAKER, J. P.; HOFFMAN, R. V.; HUFFMAN, D. G. *Trypanosoma cruzi*: Preference for brown adipose tissue in mice by the Tulahuen strain. **Experimental Parasitology**, v. 27, n. 3, p. 403–407, jun. 1970.
- SILBERSTEIN, E. *et al.* A novel nanoluciferase-based system to monitor *Trypanosoma cruzi* infection in mice by bioluminescence imaging. **PLOS ONE**, v. 13, n. 4, p. e0195879, 1 abr. 2018.
- SILVA, M. V. DA *et al.* Upregulation of Cardiac IL-10 and Downregulation of IFN- γ in Balb/c IL-4^{-/-} in Acute Chagasic Myocarditis due to Colombian Strain of *Trypanosoma cruzi*. **Mediators of Inflammation**, v. 2018, p. 1–9, 28 nov. 2018.
- SILVEIRA, A. B. M. *et al.* Megacolon in Chagas disease: a study of inflammatory cells, enteric nerves, and glial cells. **Human Pathology**, v. 38, n. 8, p. 1256–1264, ago. 2007.
- SIMÕES, M. V. *et al.* Chagas Disease Cardiomyopathy. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, 2018.

SIMÕES-BARBOSA, A. *et al.* Hitchhiking *Trypanosoma cruzi* minicircle DNA affects gene expression in human host cells via LINE-1 retrotransposon. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 8, p. 833–843, dez. 2006.

SOARES, C. S. *et al.* Produção de fator de necrose tumoral-alfa e peróxido de hidrogênio na infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em camundongos submetidos ao exercício. **Acta Scientiarum. Health Science**, v. 32, n. 1, 1 jan. 2010.

SOARES, R. C. O. *et al.* Infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi* em camundongos: influência do exercício físico versus linhagens e sexos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 18, n. 1, p. 51–57, fev. 2012.

SOUZA, D. M. S. DE *et al.* A High-Fat Diet Exacerbates the Course of Experimental *Trypanosoma cruzi* Infection That Can Be Mitigated by Treatment with Simvastatin. **BioMed Research International**, v. 2020, p. 1–14, 8 jun. 2020.

SOUZA, D. M. S. DE *et al.* Diet Rich in Lard Promotes a Metabolic Environment Favorable to *Trypanosoma cruzi* Growth. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 8, 25 maio 2021.

SOUZA, E. *et al.* Modulation induced by estradiol in the acute phase of *Trypanosoma cruzi* infection in mice. **Parasitology Research**, v. 87, n. 7, p. 513–520, 19 jun. 2001.

SPALDING, K. L. *et al.* Dynamics of fat cell turnover in humans. **Nature**, v. 453, n. 7196, p. 783–787, 4 jun. 2008.

TAM, C. S. *et al.* The effects of high-fat feeding on physical function and skeletal muscle extracellular matrix. **Nutrition & Diabetes**, v. 5, n. 12, p. e187–e187, 14 dez. 2015.

TANOWITZ, H. B. *et al.* Adipose Tissue: A Safe Haven for Parasites? **Trends in Parasitology**. Elsevier Ltd, , 1 abr. 2017.

TEIXEIRA, A. *et al.* Prevention and Control of Chagas Disease – An Overview. **International STD Research & Reviews**, v. 7, n. 2, p. 1–15, 24 jul. 2018.

TEIXEIRA, A. R. L. *et al.* *Trypanosoma cruzi* in the Chicken Model: Chagas-Like Heart Disease in the Absence of Parasitism. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 3, p. e1000, 29 mar. 2011.

TEIXEIRA, A.R.L. *et al.* Pathogenesis of chagas' disease: Parasite persistence and autoimmunity. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 3, p. 592–630, jul. 2011.

TEIXEIRA, A. R. L. *et al.* Chagas disease. **Post graduate Medical Journal**, dez. 2006.

TEIXEIRA, D. E. *et al.* Interactive Multimedia to Teach the Life Cycle of *Trypanosoma cruzi*, the Causative Agent of Chagas Disease. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 8, ago. 2012.

- TEIXEIRA, M. M.; GAZZINELLI, R. T.; SILVA, J. S. Chemokines, inflammation and *Trypanosoma cruzi* infection. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 6, p. 262–265, jun. 2002.
- TRINDADE, S. *et al.* *Trypanosoma brucei* Parasites Occupy and Functionally Adapt to the Adipose Tissue in Mice. **Cell Host & Microbe**, v. 19, n. 6, p. 837–848, jun. 2016.
- TRISCHMANN, T. M.; BLOOM, B. R. Genetics of murine resistance to *Trypanosoma cruzi*. **Infection and Immunity**, v. 35, n. 2, p. 546–551, fev. 1982.
- TROTTA, R. *et al.* Transmissão oral da doença de Chagas pelo consumo de açaí: um desafio para a Vigilância Sanitária Oral transmission of Chagas disease by consumption of açaí: a challenge for Health Surveillance. **Vig Sanit Debate**, v. 2, n. 04, p. 4–11, 2014.
- VIEIRA, C. B. *et al.* Triatomines: Trypanosomatids, Bacteria, and Viruses Potential Vectors? **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. Frontiers Media S.A., , 16 nov. 2018.
- VINA, J. *et al.* Exercise acts as a drug; the pharmacological benefits of exercise. **British Journal of Pharmacology**, v. 167, n. 1, p. 1–12, 3 set. 2012.
- VIOTTI, R. J. *et al.* Value of echocardiography for diagnosis and prognosis of chronic Chagas disease cardiomyopathy without heart failure. **Heart (British Cardiac Society)**, v. 90, n. 6, p. 655–660, 2004.
- VOORHIS, W. C. *et al.* FL-160 proteins of *Trypanosoma cruzi* are expressed from a multigene family and contain two distinct epitopes that mimic nervous tissues. **The Journal of experimental medicine**, v. 178, n. 2, p. 681–694, 1 ago. 1993.
- WANG, Q. A. *et al.* Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. **Nature Medicine**, v. 19, n. 10, p. 1338–1344, 1 out. 2013.
- WARBURTON, D. E. R.; BREDIN, S. S. D. Reflections on Physical Activity and Health: What Should We Recommend? **Canadian Journal of Cardiology**, v. 32, n. 4, p. 495–504, abr. 2016.
- WEN, J.-J. *et al.* Tissue-specific oxidative imbalance and mitochondrial dysfunction during *Trypanosoma cruzi* infection in mice. **Microbes and Infection**, v. 10, n. 10–11, p. 1201–1209, ago. 2008.
- WEN, J.-J. *et al.* Markers of oxidative stress in adipose tissue during *Trypanosoma cruzi* infection. **Parasitology Research**, v. 113, n. 9, p. 3159–3165, 20 set. 2014.
- WEN, J.-J.; VYATKINA, G.; GARG, N. Oxidative damage during chagasic cardiomyopathy development: role of mitochondrial oxidant release and

inefficient antioxidant defense. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, n. 11, p. 1821–1833, dez. 2004.

WESLEY, M. *et al.* Correlation of Parasite Burden, kDNA Integration, Autoreactive Antibodies, and Cytokine Pattern in the Pathophysiology of Chagas Disease. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 21 ago. 2019.

WHITE, P. A. S. *et al.* Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância à glicose. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 57, n. 5, p. 339–345, jul. 2013.

WHO. **Menos de 10% das pessoas com Chagas recebem um diagnóstico - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde**. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/noticias/13-4-2023-menos-10-das-pessoas-com-chagas-recebem-um-diagnostico>>. Acesso em: 25 set. 2023.

XU, X. *et al.* Exercise ameliorates high-fat diet-induced metabolic and vascular dysfunction, and increases adipocyte progenitor cell population in brown adipose tissue. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 300, n. 5, p. R1115–R1125, maio 2011.

YU, L. *et al.* Obesity and COVID-19: Mechanistic Insights From Adipose Tissue. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 107, n. 7, p. 1799–1811, 16 jun. 2022.

ZAKI, P. *et al.* The role of fat on cardiomyopathy outcome in mouse models of chronic *Trypanosoma cruzi* infection. **Parasitology Research**, v. 119, n. 6, p. 1829–1843, 24 jun. 2020.

ZHANG, L.; TARLETON, R. L. Characterization of cytokine production in murine *Trypanosoma cruzi* infection by *in situ* immunocytochemistry: Lack of association between susceptibility and type 2 cytokine production. **European Journal of Immunology**, v. 26, n. 1, p. 102–109, jan. 1996.

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

ZHAO, Y.; SHEN, F.; GONG, M.; JIN, L.; REN, X.; LIU, K.; LU, J. Lifelong treadmill training improves muscle function detected by a modified grip strength test during aging in BALB/c mice. **Life Sciences**, v. 251, p. 117603, jun. 2020.

ZINGALES, B. *et al.* A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 7, p. 1051–1054, nov. 2009.

ZINGALES, B. *et al.* The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. **Infection, Genetics and Evolution**, mar. 2012.

ZINGALES, B. *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: Something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity. **Acta Tropica**, v. 184, p. 38–52, ago. 2018.

ZREIN, M. *et al.* A novel antibody surrogate biomarker to monitor parasite persistence in *Trypanosoma cruzi*-infected patients. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 2, p. e0006226, 9 fev. 2018.

ZWICK, R. K. *et al.* **Anatomical, Physiological, and Functional Diversity of Adipose Tissue Cell Metabolism** Cell Press., 9 jan. 2018.

APÊNDICE

APÊNDICE I

Composição da dieta padrão Supralab (Supra, Itajaí, SC).

Informações disponíveis em <https://www.alisul.com.br/produtos/supralab/>

Composição: Milho Moído*, Farelo de Trigo, Farelo de Arroz, Farelo de Soja**, Feno Moído de Alfafa, Calcário Calcítico, Cloreto de Sódio, DL-Metionina, Bentonita, Vitamina A, Vitamina C, Vitamina D3, Vitamina E, Vitamina K3, Vitamina B1, Vitamina B2, Niacina (Ácido Nicotínico), D-Pantotenato de Cálcio, Vitamina B6, Biotina, Ácido Fólico, Vitamina B12, Cloreto de Colina, Sulfato de Cobre, Sulfato de Ferro, Iodato de Cálcio, Sulfato de Manganês, Selenito de Sódio, Óxido de Zinco, Etoxiquin, Propionato de Cálcio, Sorbato de Potássio, Caulim. – Espécies doadoras de genes: **Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Brevibacillus laterosporus*, *Diabrotica virgifera*, *Dicossoma* sp., *Escherichia coli*, *Sphingobium herbicidovorans*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptomyces viridochromogenes*, *Thermococcales* spp., *Zea mays*. ***Agrobacterium tumefaciens*, *Arabidopsis thaliana*, *Bacillus thuringiensis*, *Delftia acidovorans*, *Glycine max*, *Helianthus annuus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptomyces hygroscopicus*, *Streptomyces viridochromogenes*, *Zea mays*.

Informações técnicas: Umidade (máx) 100g/kg (10%), Proteína Bruta (mín) 220g/kg (22%), Extrato Etéreo (mín) 40g/kg (4%), Matéria Fibrosa (máx) 70g/kg (7%), Matéria Mineral (máx) 100g/kg (10%), Cálcio (mín) 8000mg/kg (0.8%), Cálcio (máx) 12g/kg (1.2%), Fósforo (mín) 4000mg/kg (0.4%), Metionina (mín) 4200mg/kg, Lisina (mín) 10g/kg, Vitamina A (mín) 12800UI/kg, Vitamina C (mín) 150mg/kg, Vitamina D3 (mín) 2800UI/kg,

Vitamina E (mín) 48UI/kg, Vitamina K3 (mín) 4.8mg/kg, Vitamina B1 (mín) 2mg/kg, Vitamina B2 (mín) 6.4mg/kg, Vitamina B3 (mín) 56mg/kg, Vitamina B5 (mín) 12mg/kg, Vitamina B6 (mín) 3.2mg/kg, Vitamina H (Vitamina B7) (mín) 0.2mg/kg, Vitamina B9 (mín) 2mg/kg, Vitamina B12 (mín) 32mcg/kg, Colina (mín) 1500mg/kg, Cobre (mín) 9.6mg/kg, Ferro (mín) 35mg/kg, Iodo (mín) 1.2mg/kg, Manganês (mín) 96mg/kg, Selênio (mín) 0.36mg/kg, Zinco (mín) 84mg/kg.

ANEXOS

Anexo I



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 08 de agosto de 2017.

DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado "EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO E DA REDUÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO NA DOENÇA DE CHAGAS.", Protocolo n.º 76/2017, sob responsabilidade da Professora Luciana Hagstrom Bex foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília. Este projeto foi aprovado para utilização de: *Mus musculus* (48 fêmeas). A presente aprovação é válida pelo período de: 1º/9/2017 a 1º/9/2019.



Profa. Dra. Paula Diniz Galera
Coordenadora da CEUA – UnB



*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.

Anexo II



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 11 de dezembro de 2019.

DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado "EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO E DA REDUÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO NA DOENÇA DE CHAGAS", Protocolo n.º 122/2019, sob responsabilidade do Profa. Luciana Hagstrom Bex, foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília. Este projeto foi aprovado para utilização de: *Mus musculus* (80 fêmeas BALB/c). A presente aprovação é válida pelo período de 15/01/2020 a 15/01/2024.



Dr. José Luiz Jivago de Paula Rôlo
Coordenador da CEUA - UnB



*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.

Anexo III



Quantidades produzidas de cada substância na fórmula

Pedido
 Cliente Luciana Hagström-Bex UNB
 Data 15/02/23
 Validade 14/08/23 Ao receber mantenha o produto **CONGELADO**
 Manipulador
 Formula Dieta HF 19% Caseína 32% Banha BAN (COD 251)
 Dose (g ou ml) 1.000 Vezes: 1 X
 Dose (Kg ou L) 1,00

Produto	Quantidade prescrita	Fornecedor	Fator correção	Lote	Validade	Quantidade prod. (g/ml)	Pesados prod. (g/ml) qsp	KCAL	% da Kcal
AMIDO DE MILHO	17,07000%		1			170,700	170,700	682,8	12,5%
CASEINA	19,00000%		1			190,000	190,000	760	13,9%
AMIDO DEXTRINIZADO	8,00000%		1			80,000	80,000	320	5,9%
SACAROSE	10,00000%		1			100,000	100,000	400	7,3%
OLEO DE SOJA	4,00000%		1			40,000	40,000	360	6,6%
CELULOSE MICROCRISTALINA	5,00000%		1			50,000	50,000	0	0,0%
MIX MINERAL AIN 93 M	3,50000%		1			35,000	35,000	0	0,0%
MIX VIT AIN 93	1,00000%		1			10,000	10,000	40	0,7%
L CISTINA	0,1800%		1			1,800	1,800	7,2	0,1%
BITARTARATO DE COLINA	0,2500%		1			2,500	2,500	0	0,0%
BANHA	32,0000%		1			320,000	320,000	2880	52,8%
BHT	0,0008%		1			0,008	0,008	0	0,0%
	100,00080%					1.000	1.000	5.450,0	100,0%

diluições: 1/0000 em sacarose

26,5%	% Kcal de CHO
14,1%	% Kcal de proteína
59,4%	% Kcal de gorduras

Pathogenesis of Chagas disease: does adipose tissue matter?

Vitória França dos Santos Pessoa^a, Luciana Hagström^{a,b,*}

^aInterdisciplinary Laboratory of Biosciences, Faculty of Medicine, University of Brasília, Brasília, Brazil

^bFaculty of Physical Education, University of Brasília, Brasília, Brazil

*hagstrom@unb.br

Abstract

Chagas disease (CD), caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, is a serious health public problem with high morbidity and mortality rates. About 7 million people are infected with the parasite, mostly in Latin America. The pathogenesis is multifactorial and not well understood, particularly regarding the role of adipose tissue (AT). The objective of this review is to explore the complex relationship between *T. cruzi* and AT focusing on the possible role of this tissue in the CD. *T. cruzi* exhibits a tropism for AT, residing within adipocytes and influencing their function. Chronic infection leads to alterations in adipose physiology, contributing to systemic inflammation and metabolic disturbances. Adipokines such as adiponectin are dysregulated, while markers of inflammation and oxidative stress increase within AT during CD. Besides, the immune response as well as clinical aspects of CD could be influenced by the host's diet. High-fat diets (HFD) influence parasite burden and cardiac pathology in murine models. The complex interaction among *T. cruzi* infection, AT dysfunction, and dietary factors underscores the complexity of CD pathogenesis. Despite accumulating evidence suggesting the role of AT in CD, further research is warranted to elucidate its clinical implications. Understanding the bidirectional relationship between AT and *T. cruzi* infection may offer insights into disease progression and potential therapeutic targets, highlighting the importance of considering adipose physiology in CD management strategies.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*, adipocytes, high-fat diet

Introduction

Chagas disease (CD), is endemic in Latin America, however, affects about 6 to 7 million people worldwide. Mainly due to the migration of infected people, this neglected tropical disease is found, for example, in countries of Europe, Africa, and the United States of America (Who, 2023). CD is caused by the flagellated protozoan *Trypanosoma cruzi*, an obligate intracellular parasite characterized by its capacity to persist in mammalian hosts indefinitely after the initial infection (Nagajyothi *et al.*, 2012a). Thus, CD is a life-threatening illness with acute and chronic phases with very different characteristics. The parasitemia

in the acute phase, which lasts 4 to 8 weeks after *T. cruzi* infection, is elevated. On the contrary, during the chronic phase, parasitemia is absent or very low. Most patients will remain asymptomatic for a lifetime. Around 30% of infected people will develop cardiac symptoms about 30 years after the initial infection (for review, see De Bona *et al.*, 2018). One in ten chronically infected will present digestive, neurological, or mixed symptoms (Who, 2023).

The CD pathogenesis is multifactorial. Factors such as parasite strain, immunological characteristics of infected people, and persistence of *T. cruzi* in different host tissues influence the evolution of the disease (for review, see De Bona *et al.*, 2018). Lewis and Kelly (2016) affirm that a deeper comprehension of parasite persistence is important to understanding the contribution of *T. cruzi* to the pathogenesis of CD. The fact that some patients remain asymptomatic, and others evolve into symptomatic forms of CD is not fully understood (De Bona *et al.*, 2018).

Different parasites can be found in adipose tissue (AT) and the interaction between them has been the subject of several studies (Dhurandhar, 2011; Hegde; Dhurandhar, 2013; Lizardo *et al.*, 2021; Ray *et al.*, 2023). Various works even report that the infection with some parasites and other microbes might cause obesity (for review, see Pasarica; Dhurandhar, 2001; Dhurandhar, 2011), showing that the physiological state of AT might be an important factor for diseases.

T. cruzi accumulates in the cytoplasm of adipocytes (Shoemaker *et al.*, 1970) suggesting that AT may participate in the pathogenesis of the disease (Lizardo *et al.*, 2021). Actually, the literature presents a paradox indicating a bidirectional interaction between the AT and *T. cruzi*. First, some studies suggest that since *T. cruzi* resides in AT, it would be protecting the heart. In effect, adipocytes are a source of easy access to nutrients for parasites, besides the long half-life of adipocytes both in men and in mice, allowing the parasites to remain in a quiescent state in this tissue for long periods (Combs *et al.*, 2005; Oishi; Manabe, 2016) evading the host's immune response. On the other hand, even though the dormant forms of *T. cruzi* in AT could have a minor role in disease progression, they sustain the parasite persistence in the host organism (Lewis; Kelly, 2016; Tanowitz *et al.*, 2011). Some works suggest that *T. cruzi* infection implies body fat loss and this also would contribute to the pathogenesis of chronic Chagas cardiomyopathy (CCC) (Lizardo *et al.*, 2021) since the loss in adipocytes

allows the translocation of parasites to other tissues and may induce pro-inflammatory response with the infiltration of immune cells (Combs *et al.*, 2005).

Since the parasite persistence in the host organism is invoked to explain the symptoms of CD, it is important to better clarify the role of different tissues in the course of the disease. With *T. cruzi* infection, fat loss, and a rise in inflammatory response, the physiology of AT changes both in the acute (Nagajyothi *et al.*, 2012b; Nagajyothi *et al.*, 2019; Santamaría *et al.*, 2021) and chronic phases of the disease (Nagajyothi *et al.*, 2019; Lizardo *et al.*, 2021). Indeed, AT function may be compromised by *T. cruzi* infection and may worsen the prognosis of CD. Because AT is an extremely heterogeneous organ, with several components and different functions (McGown; Birerdinc; Younossi, 2014), understanding its role in CD is complex. The appropriate comprehension of the relationship between *T. cruzi* and the AT and their interaction would help to improve knowledge of the pathogenesis of CD. Thus, this work aims to review the literature on the possible role of AT in the acute and chronic phases of CD to better understand its influence on the pathogenesis of the disease.

1. Complexity of adipose tissue: structure and function

AT is a multicellular organ extremely complex with remarkable biological variability depending on the depot level, body location, and metabolic state. It has a wide range of actions throughout the body influencing, for example, immunity and inflammation (for review, see Lizcano; Arroyave, 2020). Actually, beyond the adipocytes, many cell types are present interacting spatially and functionally (Michailidou; Gomez-Salazar; Alexaki, 2022): vascular components, nerve tissue, immune cells, endothelial cells, fibroblasts, and other adipocyte precursors (Hegde; Dhurandhar, 2013; Rutkowski; Stern; Scherer, 2015). The immune cells (e.g. macrophages, neutrophils, eosinophils, dendritic cells, and lymphocytes) are an important part of adipose tissue that secrete various pro-inflammatory cytokines that might alter organism's physiological state (for review, see Ray *et al.*, 2023). Indeed, due to the many immune cells infiltrated in the AT, adipogenic cells, and their precursors, this tissue may help fight infections (Hegde; Dhurandhar, 2013).

White adipose tissue (WAT) and brown adipose tissue (BAT) are the main types of AT, now regarded as an endocrine organ (Rutkowski; Stern; Scherer, 2015). The WAT is the most abundant in mammals (McGown; Bierdinc; Younossi 2014). Its primary function is storing and releasing lipids collaborating for energy homeostasis. However, it also releases many products, such as peptides (e.g. adipokines) (Recinella *et al.*, 2020), proteins (Scherer *et al.*, 2016), and miRNAs (Thomou *et al.*, 2017), which affect systemic metabolism. The principal cell type of WAT is the adipocytes which contain a large lipid vacuole that allows a lot of storage (for review, see Lizcano; Arroyave, 2020).

Although BAT is found in human adults in small depots localized in specific areas, it is mainly present in little mammals (e.g. mice) and human newborns (for review, see Lizcano; Arroyave, 2020). It is more metabolically active than WAT playing a role in thermogenesis (non-shivering heat generation and dissipation of energy) and the secretion of adipokines (Kajimura; Spiegelman; Seale, 2015; Lizcano; Arroyave, 2020; Michailidou; Gomez-Salazar; Alexaki, 2022). In contrast to WAT, brown adipocytes contain several cytoplasmic lipid droplets of different sizes and numerous mitochondria. The high iron and cytochrome content resulting from the high mitochondrial density, as well as the dense vascularization, are responsible for the brown coloration (Oelkrug; Polymeropoulos; Jastroch, 2015).

Another type of AT is the beige or brite (brown-like in white) adipocytes. It has appeared in WAT depots due to external signals, such as during prolonged cold exposure in response to sympathetic activation (Oelkrug *et al.*, 2015; Lizcano; Arroyave, 2020). Phenotypically, beige adipocyte has intermediate characteristics between WAT and BAT. Like WAT, it is unilocular (a simple lipid droplet), but functionally it resembles BAT. Her role in thermogenesis and the regulation of insulin resistance and obesity has been studied. The beige adipocytes also have secretory capacity with endocrine and paracrine effects (for review, see Lizcano; Arroyave, 2020).

1. Pathogens in white adipose tissue

Various infectious agents accumulate in different sites within the AT, a tissue with great longevity and rich in nutrients. In fact, these characteristics allow

the persistence of pathogens in the host organism during chronic infections (Tanowitz *et al.*, 2017). Noteworthy, the immune system's response to the presence of foreign microorganisms will depend on the site within the AT where they are located (Tanowitz *et al.*, 2017).

The relationship between pathogens, host AT, accumulation or lack of host fat, and pathogenesis of infections is complex and not yet fully understood. Indeed, microorganisms can compromise the normal functioning of AT (Tanowitz *et al.*, 2017) and the accumulation or deficiency of fat in different organs impairs their normal functioning (Rajala; Scherer, 2003). Actually, whether the AT is dysregulated, other systems will be impaired (Rajala; Scherer, 2003).

Many species persist in AT during infection, such as *Mycobacterium tuberculosis* (Ayyappan *et al.*, 2019; Beigier-Bompadre *et al.*, 2017), *Plasmodium berghei* (Franke-Fayard *et al.*, 2005; Mejia *et al.*, 2021), *Trypanosoma brucei* (Machado *et al.*, 2021; Trindade *et al.*, 2016), and *T. cruzi* (Lizardo *et al.*, 2021; Matos Ferreira *et al.*, 2011). Regarding the latter, AT is an early target of the parasite, as well as a reservoir during chronic infection (Combs *et al.*, 2005; Nagajyothi, F. *et al.*, 2012a; Nagajyothi *et al.*, 2012b)

1. Consequences of *Trypanosoma cruzi* tropism by adipose tissue

Many works reinforce the importance of AT as a target for *T. cruzi* infection (Combs *et al.*, 2005; Chevillard *et al.*, 2018; Tanowitz *et al.*, 2011). Indeed, the presence of the parasite in fat cells alters the function of AT which in turn contributes to systemic inflammation, causes metabolic abnormalities, and may change heart physiology, aggravating the CD (Ayyappan *et al.*, 2019; Lizardo *et al.*, 2019, 2021; Nagajyothi *et al.*, 2014; Tanowitz *et al.*, 2011). In fact, the involvement of epicardial and pericardial AT in Chagasic cardiomyopathy is suggested by Nagajyothi *et al.* (2012). Different mechanisms may be involved. Undeniably, various pathways are altered in acute infection and continue to exhibit changes in the chronic phase (Tanowitz *et al.*, 2011).

The tropism of *T. cruzi* for AT could be observed in cell culture (Combs *et al.*, 2005; Nagajyothi *et al.*, 2008) and in murine model (Chevillard *et al.*, 2018; Tanowitz *et al.*, 2011; Zaki *et al.*, 2020). The use of bioluminescence imaging that allows the recognition of regions that retain parasites confirms the *T. cruzi*

tropism for the adipose tissue (Lewis *et al.*, 2014, 2016). In mice, Combs *et al.* (2005) showed that the cardiac parasitism was lower than the WAT and BAT with 15 dpi. Likewise, Zaki *et al.* (2020) showed in the early stage of infection that the parasite burden in epididymal fat was higher than in the heart. The preference or high affinity of *T. cruzi* for AT in the acute phase may explain the reduced cardiac damage observed in this period (Nagajyothi *et al.*, 2014). Combs *et al.* (2005) propose that *T. cruzi* tends to choose lipid-rich adipose cells over cardiomyocytes as a host cellular environment.

In the acute phase of *T. cruzi* infection alterations are observed in the transcriptional program of adipocytes (Combs *et al.*, 2005) consequently, there is a pro/anti-inflammatory imbalance in AT and lipolysis is impaired (Chevallard *et al.*, 2018; Tanowitz *et al.*, 2011; Santamaría; Corral, 2021). Indeed, an upregulation in markers of inflammation can be seen in AT with *T. cruzi* infection (Combs *et al.*, 2005; Nagajyothi *et al.*, 2008, 2010, 2012a,b) [e.g. tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin 1-beta (IL-1 β), and interleukin-6 (IL-6)] (Combs *et al.*, 2005; Chevallard *et al.*, 2018; Tanowitz *et al.*, 2011).

Fifteen days post-infection with *T. cruzi* mice, there is macrophage infiltration into AT. This phenomenon persists into the chronic phase, concomitant with the persistence of parasites (Tanowitz *et al.*, 2011). Additionally, the animals showed a significant reduction in body fat, and this may contribute to the pathogenesis of chagasic cardiomyopathy (Combs *et al.*, 2005). With the ablation of fat cells in mice in the indeterminate form of the chronic phase (90 dpi), Lizardo *et al.* (2021) demonstrated an increase in cardiac pathology suggesting that adipocytes participate in the progression of CCC. It was observed in the heart a higher infiltration of immune cells, more histological changes, and an increase in the number of parasites compared to infected fat-unablated mice. Several signaling pathways might be implicated (Lizardo *et al.*, 2021). Actually, Lizardo *et al.* (2021) showed the parasite persistence in AT in chronically infected mice and suggested that the presence of *T. cruzi* and inflammatory infiltrates changes the physiology of AT (i.e. imbalance between adipogenesis and lipolysis).

Adiponectin (AD), which has anti-inflammatory and cardioprotective actions (Ouchi; Shibata; Walsh, 2006) and roles in energy regulation, glucose, and lipid metabolism (Scheja; Heeren, 2019) is reduced with *T. cruzi* infection (Combs *et al.*, 2005; Nagajyothi *et al.*, 2008; Santamaría; Corral, 2021). Indeed,

Santamaría and Corral (2021) observed lower levels of AD in murine plasma and no AD protein expression in WAT in the acute phase of CD. Activating transcription factor-7 (ATF-7) protein, another regulator of adipogenesis, was unchanged whereas peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ) was also suppressed (Santamaría; Corral, 2021). Conversely, Nagajyothi *et al.* (2012a) showed elevated PPAR- γ levels in WAT but reduced levels in BAT at 15 dpi, indicating different responses in these tissues because of *T. cruzi* infection.

Markers of oxidative stress, that have been associated with heart disease, also show increased levels in both WAT and BAT in CD. Simultaneously, the antioxidant response in these tissues is impaired in *T. cruzi*-infected mice. Thus, chagasic cardiomyopathy has been associated with a high degree of inflammation and oxidative stress within AT (Wen *et al.*, 2014).

While several studies illustrate the persistence of *T. cruzi* in both WAT and BAT, limited attention has been directed towards the different consequences of parasitism in each of them. The impact of infection on these ATs differs due to variations in adipogenesis, lipolysis, and levels of adipokines and cytokines.

2. Effects of a high-fat diet on Chagas disease

Human health is closely tied to the diet consumed. Most of the global population follows Western diets, characterized by high calorie and fat intake. This dietary pattern is becoming prevalent in Latin America, an endemic region for Chagas disease (Zhao *et al.*, 2016), often leading to issues such as overweight and obesity, which may have effects on the interaction of *T. cruzi* and the human host (Nagajyothi *et al.*, 2014). Indeed, more than half of the female population in Latin America is either overweight or obese (Popkin; Reardon, 2018). Geraix *et al.* (2007) showed that among a cohort of 66 patients with chronic Chagas disease in Brazil, 83% exhibited a sedentary lifestyle, and 94% were in a state of overweight or obesity. However, there is still no consensus that *T. cruzi* infection causes obesity, that obese individuals are more susceptible to poor prognosis of CD or that the parasite load is higher in cases of overweight (Combs *et al.*, 2005b; Matos Ferreira *et al.*, 2011; Nagajyothi, F. *et al.*, 2012), but it is known that the high-fat diet (HFD) is pro-inflammatory in adipose tissue (Zaki *et al.*, 2020).

T. cruzi infected mice fed with a high-fat diet (HFD) show decreased levels of parasitemia, heart parasite load, and mortality in both acute and chronic phases of the CD (Nagajyothi *et al.* 2014; Lizardo *et al.*, 2019). It seems these effects depend on the body fat mass (Lizardo *et al.*, 2019). The lowest number of parasites in the acute phase of *T. cruzi* infection was also observed by Zaki *et al.* (2020). Conversely, cardiac tissue damage was higher with HFD associated with infection.

In the acute phase, mice fed with HFD presented an increased survival rate, decreased parasitemia, and reduced parasite burden in the heart, but enhanced parasite load in WAT. (Nagajyothi *et al.* 2014; Lizardo *et al.*, 2019). It seems these effects depend on the body fat mass (Lizardo *et al.*, 2019). The lowest number of parasites in the acute phase of *T. cruzi* infection was also observed by Zaki *et al.* (2020). With infection, HFD promotes adipogenesis and cardiac lipidopathy, which may change the course of the acute phase. Indeed, Nagajyothi *et al.* (2014) state that HFD has a protective action against myocardial damage during the acute phase of *T. cruzi* infection, likely due to these effects. Besides, infected HFD-fed mice had only a 20% fat loss compared to uninfected HFD-fed mice, while infected standard diet (SD)-fed mice displayed significant lipolysis (Nagajyothi *et al.*, 2014).

On the contrary, Figueiredo *et al.* (2018) demonstrated an increase in parasitemia from 17 days post-infection (dpi) in mice subjected to HFD and infected (Figueiredo *et al.*, 2018). Although Souza *et al.* (2021) did not observe an elevation in the number of parasites in the blood of infected mice fed with HFD compared to SD, at 30 dpi the parasitic load in the heart and AT increased with HFD. These findings suggest that HFD induces metabolic changes that help the growth and proliferation of *T. cruzi* in the early stages of infection (Souza *et al.*, 2021).

In the chronic phase of infection, Zaki *et al.* (2020) suggested a connection between the consumption of HFD, inflammatory status in the AT, and the progression and severity of CD. The presence of cardiac inflammatory infiltrate was higher in the heart, as well as serum levels of TNF- α in mice fed with HFD and infected with *T. cruzi*. On the other hand, the ablation of WAT in mice did not increase in the number of parasites, but there was a redistribution of *T. cruzi* in different tissues, with a decrease in parasitic load in the epididymal WAT. The

cardiac inflammatory infiltrate was higher in these animals compared to infected wild-type mice. In other words, fat ablation may enhance the inflammatory response during *T. cruzi* infection, potentially intensifying cardiac damage and Chagas cardiomyopathy (Zaki *et al.*, 2020).

According to Lizardo *et al.* (2019), mice subjected to HFD and infected with *T. cruzi* are more susceptible to cardiac alterations in the late chronic phase (160 dpi), both in the left and right ventricular function and tissue damage (increased inflammation and hypertrophy). Furthermore, HFD exacerbates mitochondrial stress. The authors suggest that this may contribute to the pathogenesis of Chagas cardiomyopathy (CCC) (Lizardo *et al.*, 2019).

Altogether, these results suggest that dietary lipid content plays a role in the progression of CD having an impact on the immune response, inflammation, and lipid metabolism.

Conclusions

Despite the evidence, little attention has been paid to the clinical importance and function of AT in the progression of CD. This review supports the role of AT in the pathogenesis of CD, since it is a complex organ that secretes an important number of adipokines that are involved in inflammatory processes, in addition to acting as a reservoir for *T. cruzi*. The association between the heart and AT deserves to be better studied since both are altered with *T. cruzi* infection. The influence of normal and dysfunctional AT on the severity of CD is not clear and should be further investigated, especially the role of myocardial fat.

- Ayyappan, J. P. *et al.* Adipose Tissue Regulates Pulmonary Pathology during TB Infection. **mBio**, v. 10, n. 2, 30 abr. 2019.
- Beigier-Bompadre, M. *et al.* *Mycobacterium tuberculosis* infection modulates adipose tissue biology. **PLOS Pathogens**, v. 13, n. 10, p. e1006676, 17 out. 2017.
- Bona, E. DE *et al.* Autoimmunity in Chronic Chagas Disease: A Road of Multiple Pathways to Cardiomyopathy? **Frontiers in Immunology**, v. 9, 6 ago. 2018.
- Chevillard, C. *et al.* Disease Tolerance and Pathogen Resistance Genes May Underlie *Trypanosoma cruzi* Persistence and Differential Progression to Chagas Disease Cardiomyopathy. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 3 dez. 2018.
- Combs, T. P. *et al.* The Adipocyte as an Important Target Cell for *Trypanosoma cruzi* Infection. **Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 25, p. 24085–24094, jun. 2005a.
- Dhurandhar, N. V. Infectobesity: Obesity of Infectious Origin. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 10, p. 2794S-2797S, out. 2001.
- Dhurandhar, N. V. A framework for identification of infections that contribute to human obesity. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 11, n. 12, p. 963–969, dez. 2011.
- Ferreira, A. V. *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, nov. 2011.
- Figueiredo, V. P. *et al.* High fat diet modulates inflammatory parameters in the heart and liver during acute *Trypanosoma cruzi* infection. **International Immunopharmacology**, v. 64, p. 192–200, nov. 2018.
- Franke-Fayard, B. *et al.* Murine malaria parasite sequestration: CD36 is the major receptor, but cerebral pathology is unlinked to sequestration. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 32, p. 11468–11473, 9 ago. 2005.
- Geraix, J. *et al.* M. Clinical and nutritional profile of individuals with chagas disease. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 11, n. 4, p. 411–414, ago. 2007.
- Hegde, V.; Dhurandhar, N. V. Microbes and obesity—interrelationship between infection, adipose tissue and the immune system. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 19, n. 4, p. 314–320, abr. 2013.
- Kajimura, S.; Spiegelman, B. M.; Seale, P. Brown and Beige Fat: Physiological Roles beyond Heat Generation. **Cell Metabolism**, v. 22, n. 4, p. 546–559, out. 2015.
- Lewis, M. D. *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, 2014.

- Lewis, M. D. *et al.* Host and parasite genetics shape a link between *Trypanosoma cruzi* infection dynamics and chronic cardiomyopathy. **Cellular Microbiology**, v. 18, n. 10, p. 1429–1443, 25 out. 2016.
- Lewis, M. D.; Kelly, J. M. Putting Infection Dynamics at the Heart of Chagas Disease. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 11, p. 899–911, nov. 2016.
- Lizardo, K. *et al.* High fat diet aggravates cardiomyopathy in murine chronic Chagas disease. **Microbes and Infection**, v. 21, n. 1, p. 63–71, jan. 2019.
- Lizardo, K. *et al.* Fat tissue regulates the pathogenesis and severity of cardiomyopathy in murine chagas disease. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 4, p. e0008964, 7 abr. 2021.
- Lizcano, F.; Arroyave, F. Control of Adipose Cell Browning and Its Therapeutic Potential. **Metabolites**, v. 10, n. 11, p. 471, 19 nov. 2020.
- Machado, H. *et al.* *Trypanosoma brucei* triggers a broad immune response in the adipose tissue. **PLoS pathogens**, v. 17, n. 9, p. e1009933, set. 2021.
- McGown, C.; Biredinc, A.; Younossi, Z. M. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. **Clinics in Liver Disease**, v. 18, n. 1, p. 41–58, fev. 2014.
- Mejia, P. *et al.* Adipose tissue parasite sequestration drives leptin production in mice and correlates with human cerebral malaria. **Science Advances**, v. 7, n. 13, 26 mar. 2021.
- Michailidou, Z.; Gomez-Salazar, M.; Alexaki, V. I. Innate Immune Cells in the Adipose Tissue in Health and Metabolic Disease. **Journal of Innate Immunity**, v. 14, n. 1, p. 4–30, 2022.
- Nagajyothi, F. *et al.* Crucial Role of the Central Leptin Receptor in Murine *Trypanosoma cruzi* (Brazil Strain) Infection. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 202, n. 7, p. 1104–1113, out. 2010.
- Nagajyothi, F. *et al.* Response of Adipose Tissue to Early Infection With *Trypanosoma cruzi* (Brazil Strain). **Journal of Infectious Diseases**, v. 205, n. 5, p. 830–840, 1 mar. 2012a.
- Nagajyothi, F. *et al.* *Trypanosoma cruzi* Infection of Cultured Adipocytes Results in an Inflammatory Phenotype. **Obesity**, v. 16, n. 9, p. 1992–1997, 6 set. 2008.
- Nagajyothi, F. *et al.* Mechanisms of *Trypanosoma cruzi* persistence in Chagas disease. **Cellular Microbiology**, v. 14, n. 5, p. 634–643, maio 2012b.
- Nagajyothi, F. *et al.* High Fat Diet Modulates *Trypanosoma cruzi* Infection Associated Myocarditis. **PLoS Negl Trop Dis.**, v. 8, n. 10, 2014.
- Nagajyothi, J. F.; Weiss, L. M. Advances in understanding the role of adipose tissue and mitochondrial oxidative stress in *Trypanosoma cruzi* infection. **F1000Research**, v. 8, p. 1152, 22 jul. 2019.
- Oelkrug, R.; Polymeropoulos, E. T.; Jastroch, M. Brown adipose tissue: physiological function and evolutionary significance. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 185, n. 6, p. 587–606, 13 ago. 2015.

- Oishi, Y.; Manabe, I. Integrated regulation of the cellular metabolism and function of immune cells in adipose tissue. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 43, n. 3, p. 294–303, 17 mar. 2016.
- Ouchi, N.; Shibata, R.; Walsh, K. Targeting adiponectin for cardioprotection. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 10, n. 4, p. 573–581, 18 ago. 2006.
- Popkin, B. M.; Reardon, T. Obesity and the food system transformation in Latin America. **Obesity Reviews**, v. 19, n. 8, p. 1028–1064, 24 ago. 2018.
- Rajala, M. W.; Scherer, P. E. Minireview: The Adipocyte—At the Crossroads of Energy Homeostasis, Inflammation, and Atherosclerosis. **Endocrinology**, v. 144, n. 9, p. 3765–3773, 1 set. 2003.
- RAY, A. *et al.* Infections and immunity: associations with obesity and related metabolic disorders. **Journal of Pathology and Translational Medicine**, v. 57, n. 1, p. 28–42, 15 jan. 2023.
- Recinella, L. *et al.* Adipokines: New Potential Therapeutic Target for Obesity and Metabolic, Rheumatic, and Cardiovascular Diseases. **Frontiers in Physiology**, v. 11, 30 out. 2020.
- Rutkowski, J. M.; Stern, J. H.; Scherer, P. E. The cell biology of fat expansion. **Journal of Cell Biology**, v. 208, n. 5, p. 501–512, 2 mar. 2015.
- Santamaría, M. H.; Ríos, L. D.; Corral, R. S. *Trypanosoma cruzi* down-regulates adiponectin expression in mouse adipocytes via the NFAT signaling pathway. **Microbes and Infection**, v. 23, n. 1, p. 104757, jan. 2021.
- Scheja, L.; Heeren, J. The endocrine function of adipose tissues in health and cardiometabolic disease. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, n. 9, p. 507–524, 11 set. 2019.
- Scherer, T. *et al.* Insulin Regulates Hepatic Triglyceride Secretion and Lipid Content via Signaling in the Brain. **Diabetes**, v. 65, n. 6, p. 1511–1520, 1 jun. 2016.
- Shoemaker, J. P. *et al.* *Trypanosoma cruzi*: Preference for brown adipose tissue in mice by the Tulahuen strain. **Experimental Parasitology**, v. 27, n. 3, p. 403–407, jun. 1970.
- Souza, D. M. S. DE *et al.* Diet Rich in Lard Promotes a Metabolic Environment Favorable to *Trypanosoma cruzi* Growth. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 8, 25 maio 2021.
- Tanowitz, H. B. *et al.* Adipose Tissue: A Safe Haven for Parasites? **Trends in Parasitology**. Elsevier Ltd, 1 abr. 2017.
- Tanowitz, H. B. *et al.* Chagas Disease Has Now Gone Global. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 4, p. e1136, 26 abr. 2011.
- Thomou, T. *et al.* Adipose-derived circulating miRNAs regulate gene expression in other tissues. **Nature**, v. 542, n. 7642, p. 450–455, 23 fev. 2017.

Trindade, S. *et al.* *Trypanosoma brucei* Parasites Occupy and Functionally Adapt to the Adipose Tissue in Mice. **Cell Host & Microbe**, v. 19, n. 6, p. 837–848, jun. 2016.

Wen, J.-J. *et al.* Markers of oxidative stress in adipose tissue during *Trypanosoma cruzi* infection. **Parasitology Research**, v. 113, n. 9, p. 3159–3165, 20 set. 2014.

Who, W. H. O. **Chagas disease (also known as American trypanosomiasis)**. Disponível em: <[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))>. Acesso em: 25 set. 2023.

Zaki, P. *et al.* The role of fat on cardiomyopathy outcome in mouse models of chronic *Trypanosoma cruzi* infection. **Parasitology Research**, v. 119, n. 6, p. 1829–1843, 24 jun. 2020.

Zhao, L. *et al.* Fructose and glucose combined with free fatty acids induce metabolic disorders in HepG2 cell: A new model to study the impacts of high-fructose/sucrose and high-fat diets in vitro. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 60, n. 4, p. 909–921, 2 abr. 2016.