

**CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO**

**Curso de Biomedicina**

**Julia Sant'Anna**

**Rafael de Almeida Parravano**

***TRYPANOSOMA CRUZI*, A INTERAÇÃO ENTRE O PARASITA E A  
CÉLULA HOSPEDEIRA**

**São Paulo**

**2022**

**Julia Sant'Anna - RA: SPGR009967**

**Rafael de Almeida Parravano - RA:SPGR008899**

***Trypanosoma cruzi*, a interação entre o parasita e a célula hospedeira**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pela Profa. Dra. Marjorie Mendes Marini e Souza, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

**São Paulo**

**2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Inocente Radrizzani**

Santanna, Julia

*Trypanosoma cruzi*, a interação entre o parasita e a célula hospedeira / Julia Santanna, Rafael de Almeida Parravano. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2022.

40 p.

Orientação de Marjorie Mendes Marini e Souza.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação),  
Centro Universitário São Camilo, 2022.

1. Doença de Chagas 2. Interações hospedeiro-parasita 3.  
Trypanosoma cruzi 4. Vacúolos I. Parravano, Rafael de Almeida II.  
Souza, Marjorie Mendes Marini e III. Centro Universitário São Camilo IV.  
Título

CDD: 616.96

**Julia Sant'Anna**  
**Rafael de Almeida Parravano**

**TRYPANOSOMA CRUZI, A INTERAÇÃO ENTRE O PARASITA E A  
CÉLULA HOSPEDEIRA**

São Paulo, 17 de maio de 2022

---

**Professor orientador**

---

**Professor examinador**

**São Paulo**  
**2022**

## RESUMO

A doença de Chagas é uma infecção parasitária causada pelo *Trypanosoma cruzi*, um protozoário flagelado microscópico da ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae. Seu ciclo evolutivo apresenta três fases distintas, necessitando de dois hospedeiros, um vertebrado e um invertebrado. O *T. cruzi* tem como hospedeiro intermediário o triatomíneo, um inseto hemíptero pertencente à família Reduviidae e subfamília Triatominae popularmente conhecido como barbeiro. A relação parasita-hospedeiro é o fator mais importante para determinar se uma infecção é bem-sucedida ou resolvida pelo hospedeiro. Vários mecanismos estão envolvidos nesta complexa interação, e aspectos do hospedeiro e do parasita são essenciais. O *T. cruzi* tem uma variedade de moléculas superficiais e secretadas (microvesículas) que se ligam e entram nas células de mamíferos. Várias dessas moléculas estão envolvidas no desencadeamento de vias de sinalização específicas essenciais para a entrada do parasita e sobrevivência intracelular. Foi descoberto que existem diferenças nos mecanismos de invasão envolvidos pelas distintas formas infecciosas do parasita. Múltiplas interações entre as moléculas do parasita e do hospedeiro levam a internalização do parasita e a um aumento do cálcio citosólico nas células hospedeiras e no parasita durante a invasão. O aumento deste íon está associado à formação de vacúolos parasitóforos, um compartimento intracelular formado após a internalização do parasita na célula hospedeira e também à evasão do parasita destes vacúolos, além da infecção bem-sucedida. A compreensão sobre os mecanismos de interação que envolvem o *T. cruzi* e as células hospedeiras serve de base para os estudos e o desenvolvimento de novas possíveis estratégias de tratamento para a regulação e controle do parasita. Sendo assim, esta revisão bibliográfica permite essa tal compreensão, uma vez que descrevem com clareza os processos que envolvem a interação.

**Palavras-chave:** *Trypanosoma cruzi*. Doença de Chagas. Interação parasita-hospedeiro.

## ABSTRACT

Chagas disease is a parasitic infection caused by *Trypanosoma cruzi*, a microscopic protozoan flagellate of the Kinetoplastida order and the Trypanosomatidae family. Its evolutionary cycle has three distinct phases, requiring two hosts, a vertebrate, and an invertebrate. *T. cruzi* has *Triatoma infestans* as an intermediate host, a hemipteran insect belonging to the Reduviidae family and Triatominae subfamily popularly known as vinchuca bug or kissing bug. The parasite-host relationship is the most key factor in determining whether an infection is successful or resolved by the host. Several mechanisms are involved in this complex interaction, and host and parasite aspects are essential. *T. cruzi* has a variety of surface and secreted molecules (microvesicles) used to bind to and enter mammalian cells. Several of these molecules are involved in triggering specific signaling pathways essential for parasite entry and intracellular survival. It was discovered that there are differences in the mechanisms of invasion involved by the different infectious forms of the parasite. Multiple interactions between parasite and host molecules lead to parasite internalization and an increase in cytosolic calcium in both host cells and the parasite during invasion. The increase in this ion is associated with the formation of parasitophorous vacuoles, an intracellular compartment formed after the internalization of the parasite in the host cell and also with the evasion of the parasite from these vacuoles, in addition to successful infection. The understanding of the interaction mechanisms involving *T. cruzi* and host cells serves as a basis for studies and the development of new treatment strategies for the regulation and control of the parasite. Therefore, this literature review allows for this understanding, since they clearly describe the processes that involve interaction.

**Keywords:** *Trypanosoma cruzi*. Chagas disease. Host-parasite interaction.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Fases da doença de Chagas .....	14
<b>Figura 2</b> - Ciclo de vida do <i>T. cruzi</i> em hospedeiro invertebrado (intermediário) e em hospedeiro vertebrado (definitivo) Formas evolutivas do <i>T. cruzi</i> . ....	19
<b>Figura 3</b> - Formas evolutivas do <i>T. cruzi</i> .....	20
<b>Figura 4</b> - As três etapas da invasão do <i>T. cruzi</i> .....	22
<b>Figura 5</b> - Moléculas de superfície do <i>T. cruzi</i> .....	25
<b>Figura 6</b> - Invasão por tripomastigotas mediada pela gp82.....	27
<b>Figura 7</b> - Moléculas envolvidas na interação entre <i>T. cruzi</i> e hospedeiro .....	29
<b>Figura 8</b> - Processo de invasão celular por tripomastigotas de <i>T. cruzi</i> , estabelecimento do ciclo evolutivo e liberação dos parasitas para o meio extracelular.....	32

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	8
2.	OBJETIVOS .....	9
3.	METODOLOGIA .....	10
4.	DESENVOLVIMENTO .....	11
4. 1.	Doença de Chagas .....	11
4. 2.	<i>Trypanosoma cruzi</i> .....	16
4. 3.	Mecanismos de interação parasita-hospedeiro .....	20
4. 3. 1	Adesão de tripomastigotas à superfície da célula hospedeira .....	21
4. 3. 2	Moléculas envolvidas no processo de interação e adesão .....	22
4. 3. 3	Internalização do <i>T. cruzi</i> e a formação do vacúolo parasitóforo .....	28
4. 3. 4	Maturação do vacúolo parasitóforo .....	30
5.	CONCLUSÃO .....	32
	REFERÊNCIAS.....	33

## 1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas representa uma condição infecciosa classificada como enfermidade negligenciada pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Apresenta elevada carga de morbimortalidade em países endêmicos, incluindo o Brasil, com expressão focal em diferentes contextos epidemiológicos. A distribuição espacial da doença é limitada primariamente ao continente americano em virtude da distribuição de mais de 140 espécies do inseto vetor (Triatominae, Hemiptera, Reduviidae), daí ser também denominada “tripanossomíase americana”. Progressivamente, no entanto, a doença tem alcançado países não endêmicos, expandindo o número de casos para regiões fora da América Latina, como Estados Unidos, Europa e Ásia, onde existem atualmente mais de 500.000 pessoas afetadas pela doença. Essa expansão ocorre por meio do deslocamento de pessoas infectadas e por meio de outros mecanismos de transmissão, como resultado do intenso processo de migração internacional (DIAS et al., 2016).

Estima-se que 6 a 7 milhões de pessoas em todo o mundo estejam infectadas com *T. cruzi*. A doença de Chagas é transmitida principalmente quando humanos entram em contato com fezes e/ou urina de triatomíneos infectados, seja pela inoculação na pele ou na mucosa dos olhos, nariz e boca (transmissão vetorial), seja pela ingestão de água ou alimentos contaminados (transmissão oral), sendo que esta última é a principal forma de transmissão da doença no Brasil atualmente (World Health Organization, 2018). As distorções econômicas do local em que cada um vive interagem diretamente com a distribuição social da parasitose, possibilitada por deficiências na qualidade de vida do indivíduo, a exemplo das condições de moradia, saúde e educação, perpetuando nos ciclos de pobreza/enfermidade (Cardoso, et al, 2017).

Devido ao alto número de pessoas que permanecem sem diagnóstico ou tratamento, combinado com as áreas com transmissão ativa remanescente, a doença de Chagas coloca cerca de 75 milhões de pessoas em risco de infecção. Esse elevado risco de infecção reforça a necessidade de uma melhor compreensão sobre o processo de interação entre o parasito e as células hospedeiras, sugerindo

embasamento para o desenvolvimento de novas possíveis terapias (World Health Organization, 2018).

## 2. OBJETIVOS

Descrever como ocorre a interação entre o protozoário *Trypanosoma cruzi* e o hospedeiro humano, destacando os mecanismos moleculares envolvidos neste processo, por meio da análise e seleção de informações pertinentes e atuais sobre o assunto.

### **3. METODOLOGIA**

Para a elaboração desse trabalho, foi realizada uma revisão bibliográfica não sistemática utilizando como parâmetros palavras-chaves, artigos recentes, livros conceituados, como Levinson e Neves, e buscas bibliográficas em bases de dados confiáveis, como PubMed, Scielo, Lilacs e Google Scholar.

## 4. DESENVOLVIMENTO

### 4.1. Doença de Chagas

A doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase americana, é uma doença infecciosa causada por um protozoário chamado *Trypanosoma cruzi*. Descoberta em 1909 pelo pesquisador brasileiro Carlos Chagas é considerada atualmente um desafio à saúde global por estar entre as doenças parasitárias humanas que apresentam maior índice de morbimortalidade no mundo (Betiana et al, 2019; Jansen et al, 2018). Estima-se que 6 a 7 milhões de pessoas em todo o mundo estejam infectadas com *T. cruzi* e esses milhões de pessoas estão distribuídos pelo continente americano, em sua maior parte na América do Sul e América Central, sendo que no Brasil a prevalência é maior em estados como Minas Gerais, Bahia, Amazonas, Rio Grande do Sul e Goiás. A doença de Chagas é classificada como uma doença tropical negligenciada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), por ser causada por um patógeno presente em áreas tropicais e subtropicais, e por muitas vezes ser ignorada por empresas farmacêuticas e até mesmo pela comunidade de saúde pública (Levinson, 2016; World Health Organization, 2018).

A doença de Chagas é geralmente transmitida através do contato com as fezes de insetos vetores contaminados com o parasita *T. cruzi*. Vale ressaltar que em alguns países da América do Sul e da América Central existe um outro tripanossomatídeo capaz de infectar o homem, este é o *Trypanosoma rangeli*, que difere do *T. cruzi* pela forma com que elas se apresentam no sangue dos indivíduos infectados, a chamada tripomastigota sanguínea: o *T. rangeli* é maior e mais longo e apresenta um cinetoplasto menos volumoso. Além disso, ele possui uma diferença no ciclo de vida no inseto vetor: se diferencia em amastigotas, o que no *T. cruzi* ocorre apenas na célula mamífera hospedeira, e uma outra diferença é o modo de transmissão já que o *T. rangeli* é transmitido pela picada do barbeiro e não pelas fezes, além do fato deste tripanossomatídeo não causar a doença, apesar de apresentar os mesmos sintomas (Fidalgo, 2018).

Os insetos vetores são conhecidos como triatomíneos e popularmente chamados de barbeiros. Dentre os vetores conhecidos no Brasil destacam-se *Triatoma*

*pseudomaculata*, *Triatoma sordida* e *Triatoma brasiliensis*, além do *Triatoma infestans*, *Rhodinus prolixus* e *Triatoma dimidiata* que são os principais vetores. Os barbeiros são insetos hematófagos que vivem nas matas e florestas se alimentando do sangue de animais, e à noite vão até casas feitas de pau a pique e naquelas feitas com tijolos de barro, ficando nas frestas destas casas para procurar alimento. A forma mais comum de transmissão é pela picada do barbeiro, que defeca nas proximidades do local da picada e permite, assim, que o parasita ingresse a corrente sanguínea após o prurido, já que ele não penetra a pele sem lesão, somente via mucosa. Além disso, é possível que a transmissão ocorra por via oral, ou seja, pela ingestão de alimentos contaminados com os parasitas em sua forma infectante, como os casos que já ocorreram em estados como Amazonas e Pará, onde algumas pessoas consumiram açaí e caldos de cana de açúcar contaminados que, seja por um manuseio incorreto em seu preparo ou por acidente, o inseto vetor infectado acabou sendo misturado em seu processo de maturação contaminando a pessoa que o ingeriu. Isso ocorre porque o parasita é capaz de sobreviver de horas a semanas em baixas temperaturas. A transmissão pode ocorrer também por via parental, da mãe para o filho, ou através de transplante de órgãos, transfusões sanguíneas, e até por acidentes laboratoriais. Após a infecção, podem surgir sintomas como febre, cefaléia e mal-estar, sinal que as células do sistema imunológico do organismo reconheceram a presença de antígenos estranhos em sua superfície e estão desenvolvendo uma resposta, isto é, um mecanismo de defesa para combater a infecção (Lima et al, 2019).

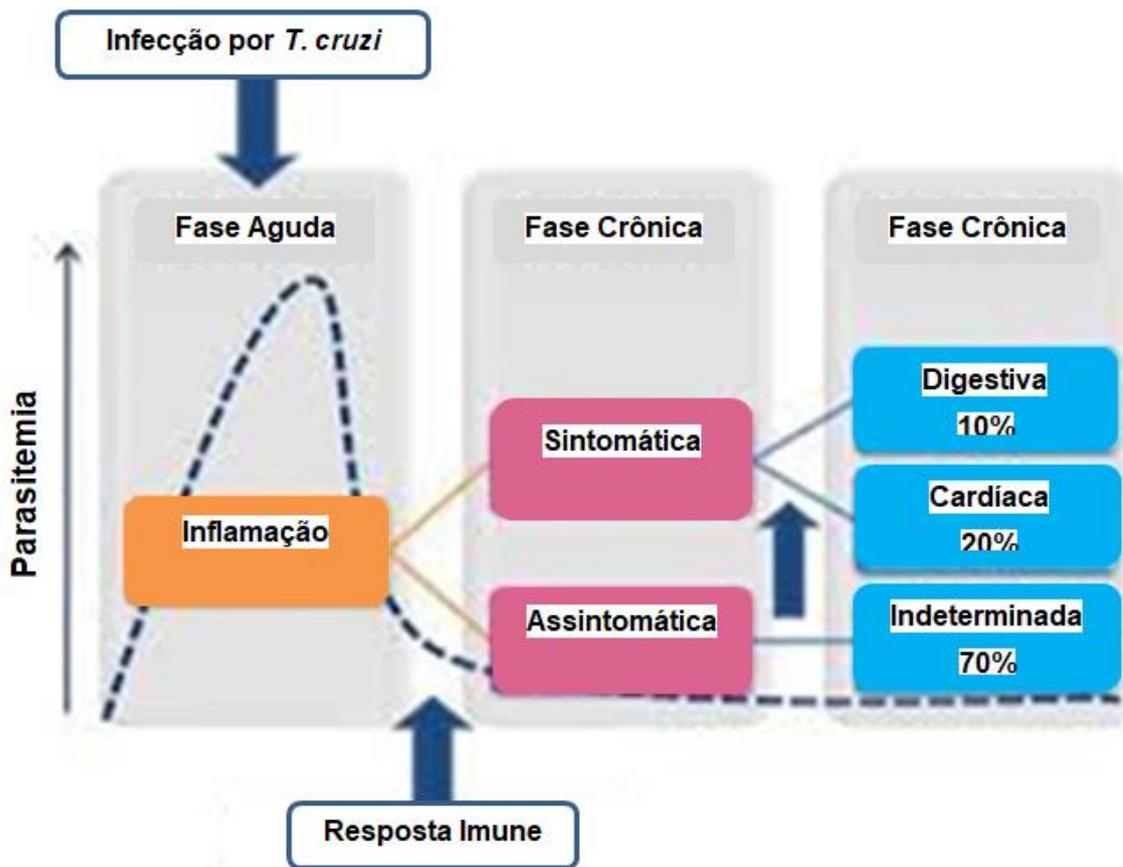
A doença de Chagas é dividida em duas fases: a fase aguda e a fase crônica. Como mostra a Figura 1, a fase aguda é o período inicial da doença e ocorre logo após a infecção, geralmente de 1 a 4 semanas após a exposição ao *T. cruzi*. E ela é caracterizada principalmente pela elevada parasitemia, ou seja, pela relativa facilidade de encontrar o parasita no sangue periférico e, como mencionado há pouco, podem surgir sinais e sintomas como inflamação, edema subcutâneo, febre, cefaléia, mal-estar e hepatoesplenomegalia. Como a sintomatologia é breve e inespecífica, muitos indivíduos infectados não procuram atendimento médico nessa fase da doença, por isso os números de casos identificados nessa fase são relativamente pequenos. Depois de alguns dias os sintomas desaparecem e o

parasita se aloja em alguns órgãos, como esôfago, cólon, sistema nervoso periférico (gânglios) e, principalmente, coração (Borges et al, 2016).

Eventualmente a fase aguda pode evoluir para a fase aguda grave onde ocorre miocardite, derrame pericárdico e meningoencefalite provocadas pela presença do parasita provocando lesões e inflamações nesta região, o que é raro, mas quando ocorre, o risco de mortalidade é alto. A fase crônica é o período tardio da doença e ocorre cerca de dois meses após a infecção. Diferentemente da fase aguda, a fase crônica apresenta escassa parasitemia, ou seja, apresenta baixos níveis de parasita no sangue periférico e pode ocorrer de forma sintomática ou assintomática. A maioria dos pacientes (cerca de 70%) são assintomáticos, não desenvolvem quaisquer sintomas ou sinais clínicos e isso é possível devido à existência de um frágil equilíbrio entre a replicação do parasita e a resposta imune do hospedeiro, o que pode fazer com que os pacientes permaneçam clinicamente silenciosos por um período de 10 a 25 anos. Esta fase é conhecida como a fase crônica indeterminada da doença de Chagas, caracterizada pela soropositividade para *T. cruzi* e ausência de sintomas cardíacos ou digestivos com eletrocardiograma e radiografia de tórax, esôfago e cólon normais, todos responsáveis por um bom prognóstico da doença nesses pacientes. O desequilíbrio entre a resposta do sistema imunológico e a replicação do parasita é crucial para a progressão da doença. Assim, 20% a 30% dos pacientes crônicos eventualmente desenvolvem uma fase sintomática. Cerca de 20% deles apresentam alterações cardíacas e até 10% apresentam síndromes digestivas, como megaesôfago e megacólon, e/ou distúrbios neurológicos. Os casos mais graves de alterações cardíacas levam à cardiomiopatia chagásica crônica, associada a altas taxas de mortalidade em pacientes chagásicos (Bern, et al, 2019; Dias, 2015; Gómez, 2021).

Depois de um longo período, após anos da infecção, os indivíduos infectados desenvolvem cardiomiopatia e os principais achados nos corações de chagásicos envolvem uma miocardite fibrosante progressiva e crônica. A perda de cardiomiócitos e a sua substituição por tecido fibrótico induz desarranjos da estrutura e da função do miocárdio, resultando em mau funcionamento do sincício eletrofisiológico e predispondo ao desenvolvimento da insuficiência cardíaca,

bloqueios intra e atrioventriculares, além de taquiarritmias ventriculares, que são fatores que impactam o prognóstico da doença (Lima et al, 2019).



**Figura 1 - Fases da doença de Chagas.** Na fase aguda da infecção por *T. cruzi*, há elevada parasitemia. A inflamação que ocorre é devido ao desenvolvimento de uma resposta imune que tende a proteger o organismo da infecção. Na fase crônica, a parasitemia reduz significativamente. Essa fase pode ser assintomática (indeterminada), como ocorre em aproximadamente 70% dos pacientes, ou sintomática, que ocorre em aproximadamente 30% dos pacientes, destes, 20% apresentam alterações cardíacas e 10%, digestivas. Fonte: Adaptado de Arruda, 2019.

O diagnóstico da doença de Chagas depende do quadro clínico e da fase suspeita da infecção. Na fase aguda é comumente utilizada a técnica de detecção direta, ou seja, o diagnóstico da doença na fase aguda é realizado através da visualização do parasita em microscópio óptico. Para isso, basta realizar um esfregaço sanguíneo uma vez que há elevada parasitemia na fase aguda da doença.

Na fase crônica é comumente utilizada a técnica de detecção sorológica, visando verificar a presença de anticorpos contra os antígenos de superfície do *T. cruzi*. Esses anticorpos anti-*T. cruzi* são IgG, imunoglobulinas G produzidas num período um pouco tardio a infecção. No entanto, essas imunoglobulinas são produzidas de forma mais específica contra as moléculas do parasita e permanecem no organismo para o resto da vida, por isso a sorologia é a técnica de detecção escolhida para fase crônica da doença. O principal método sorológico é o ensaio imunoenzimático (ELISA indireto) onde há a pesquisa de anticorpos IgG para as moléculas de superfície do *T. cruzi*. Nesse método a amostra de soro é colocada para reagir com os antígenos específicos buscados e, então, ocorre a formação de produtos coloridos como resultado positivo da reação enzima-substrato, ou seja, como resultado positivo da presença de anticorpos anti-*T. cruzi* na sorologia (Bern et al., 2019).

Os únicos medicamentos que são eficazes no tratamento da doença de Chagas são o benznidazol (BZN) e o nifurtimox (NFX), mas este último foi o primeiro medicamento recomendado, mas não está mais disponível no Brasil, pois mesmo em doses pequenas, o NFX gera efeitos colaterais mais graves que o BZN. Os mais comuns são: sinais gastrointestinais, perda de peso, parestesia, sonolência e excitabilidade psíquica. O benznidazol é um pró-fármaco, ou seja, um composto farmacologicamente inativo que precisa ser metabolizado por enzimas do parasita para ser ativado. Os metabólitos provenientes dessa reação visam interromper as vias antioxidantes do *T. cruzi*, aumentando a sua concentração intracelular de radicais livres que se ligam ao DNA e lesam o parasita. O nifurtimox impede o metabolismo de carboidratos do *T. cruzi* através da inibição da síntese de ácido pirúvico, ou seja, impede o metabolismo energético do parasita fazendo com que este não obtenha energia suficiente para sua sobrevivência (Sales Junior et al., 2017).

Atualmente não existe vacina para prevenir a população contra a doença de Chagas, mas a profilaxia deve ser feita e baseia-se em medidas de vigilância, como fechar rachaduras nas paredes e tetos para impedir o alojamento do barbeiro, usar mosquiteiros para proteger contra as picadas, usar telas em portas e janelas para

evitar a entrada do inseto e observar bem a procedência dos alimentos para que não haja contaminação oral (Levinson, 2016).

#### 4. 2. *Trypanosoma cruzi*

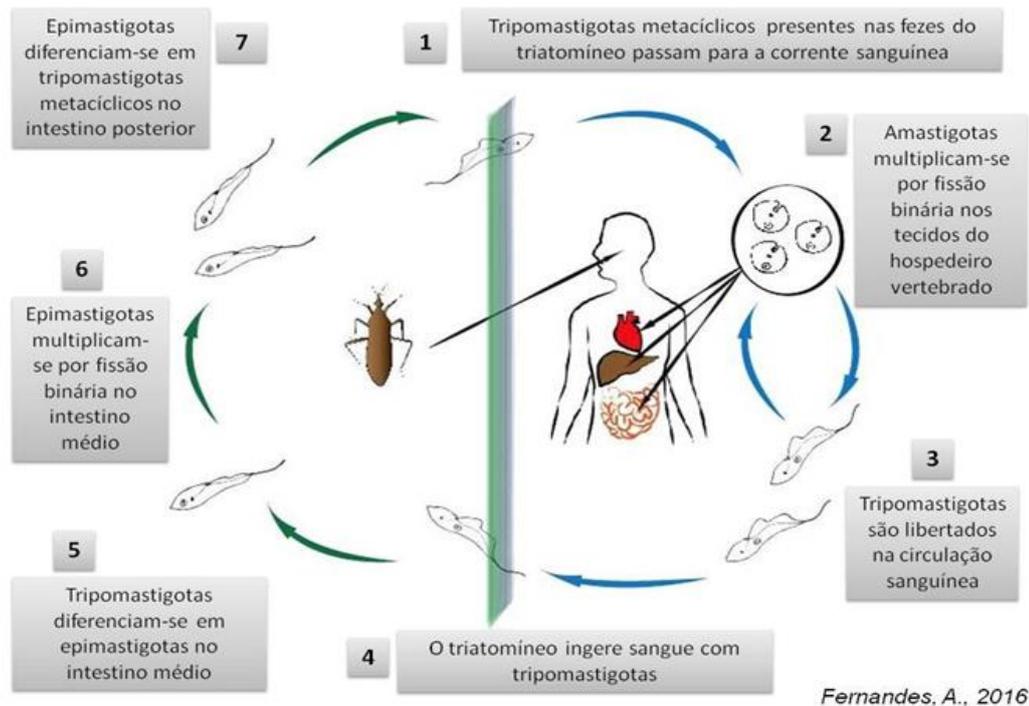
O *T. cruzi* é um protozoário flagelado microscópico pertencente à ordem Kinetoplastida e a família Trypanosomatidae. Esse protozoário parasita é caracterizado pela presença de um único flagelo responsável por sua locomoção e de um DNA compactado denominado k-DNA que fica armazenado em uma organela chamada de cinetoplasto, localizado na mitocôndria e próximo ao núcleo. A mitocôndria dos tripanosomatídeos é única e ramificada e se estende por todo o corpo celular. O cinetoplasto é uma região específica da mitocôndria e é formado por uma extensa rede de moléculas circulares que estão interligadas. Tal arranjo representa aproximadamente 30% do DNA total dos tripanosomatídeos. O formato do cinetoplasto, assim como a sua posição em relação ao núcleo são os critérios utilizados para classificar as diferentes formas de desenvolvimento de *T. cruzi*, que são elas: epimastigota, amastigota e tripomastigotas (Carvalho, 2017).

O *T. cruzi* é encontrado principalmente em barbeiros e estudos recentes mostram que ele é um parasita digenético, ou seja, além de ter duas formas de reprodução, uma sexuada e outra assexuada, ele apresenta um ciclo biológico complexo que requer adaptações específicas necessárias para parasitar dois tipos diferentes de hospedeiros, o inseto vetor que é o hospedeiro intermediário apresentando o parasita e o organismo mamífero sendo o hospedeiro definitivo (Betiana et al, 2019).

O *T. cruzi* apresenta um ciclo de vida heteroxênico, isto é, apresenta tanto um hospedeiro vertebrado (definitivo), mamíferos em geral, incluindo o homem, quanto um hospedeiro invertebrado (intermediário), insetos hemípteros da Família Reduviidae e subfamília Triatominae, caracterizados como vetores (Galvão & Jurberg, 2021; Torrecilhas et al., 2020).

O ciclo de vida do *T. cruzi* no barbeiro, como mostra a Figura 2, se inicia quando o inseto pica o hospedeiro e o local é contaminado com fezes contendo o parasita em sua forma alongada, os tripomastigotas metacíclicos, que penetram a corrente

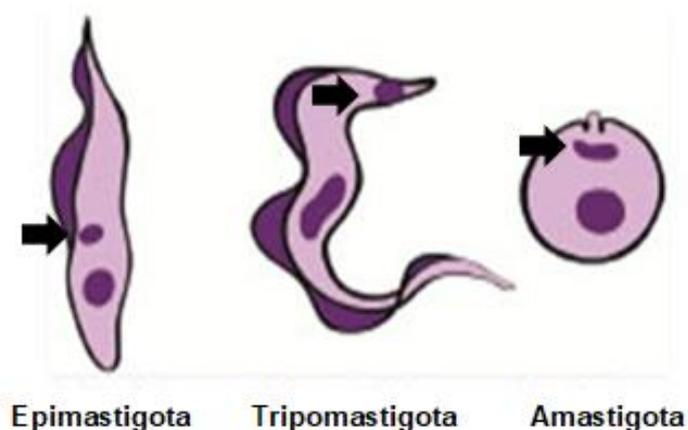
sanguínea do hospedeiro através do prurido, porque o parasita não penetra a pele intacta, somente via mucosa ou ferimentos na pele (1). Ao atingir a corrente sanguínea, os tripomastigotas metacíclicos se espalham pelo corpo do hospedeiro e são fagocitados por uma célula de defesa do sistema imune, o macrófago, ficando dentro de um fagossomo, onde se diferenciam em amastigotas, de forma arredondada e não flagelados, e se reproduzem assexuadamente por divisão binária, gerando milhares de descendentes (2) e deixando a célula hospedeira saturada de parasitas, fazendo com ela se rompa. Os amastigotas se diferenciam em tripomastigotas sanguíneos que, após a ruptura da célula, evadem para a corrente sanguínea (3) e infectam células musculares lisas do esôfago e/ou cólon intestinal e musculares cardíacas, células pelas quais essas formas parasitárias apresentam preferência. O ciclo segue no momento em que o triatomíneo ingere tripomastigotas no sangue de um hospedeiro infectado (4). No intestino médio do inseto, os tripomastigotas multiplicam-se e diferenciam-se em epimastigotas (5) que multiplicam-se por fissão binária (6) e, então, em tripomastigotas metaciclícos no intestino posterior (7) (Levinson, 2016; Neves, et al.,2019).



**Figura 2 - Ciclo de vida do *T. cruzi* em hospedeiro invertebrado (intermediário) e em hospedeiro vertebrado (definitivo).** O lado direito da figura descreve os estágios no interior de seres humanos (setas azuis). Os seres humanos são infectados na etapa 1, quando o triatomíneo (barbeiro) pica o ser humano e defeca próximo à picada. Tripomastigotas eliminadas nas fezes pelo triatomíneo entram na corrente sanguínea após ferida na picada. Os amastigotas formam-se no interior das células, especialmente no músculo cardíaco e no tecido neuronal. O barbeiro é infectado na etapa 4, quando ingere tripomastigotas no sangue humano. O lado esquerdo da figura descreve os estágios no interior do barbeiro (setas verdes). Fonte: Fernandes, 2016.

O *T. cruzi* possui variações morfológicas e funcionais, alternando entre estágios que sofrem divisão binária e as formas não replicativas e infectantes. Como formas replicativas estão incluídas os epimastigotas presentes no tubo digestivo do inseto vetor e os amastigotas observados no interior das células de mamíferos. As formas não replicativas e infectantes são os tripomastigotas metacíclicos, encontrados nas fezes e urina do hospedeiro intermediário, e os tripomastigotas sanguíneos circulantes no sangue do hospedeiro definitivo (Galvão & Jurberg, 2021). Essas três formas evolutivas, epimastigotas, amastigotas e

tripomastigotas, são identificadas morfológicamente pela posição do cinetoplasto em relação ao núcleo da célula e ao seu flagelo. Os epimastigotas, que são os estágios replicativos encontrados no lúmen do intestino dos vetores, apresentam o seu cinetoplasto localizado na posição anterior ao núcleo, sendo neste local também o surgimento de seu flagelo. Os amastigotas, que são os estágios replicativos encontrados no citosol de células hospedeiras infectadas, são organismos arredondados, sem locomoção por não apresentarem flagelos livres e que no ciclo se reproduzem e aumentam o seu número já dentro da célula hospedeira. O seu cinetoplasto é localizado na região anterior ao núcleo. E os tripomastigotas, que são as formas infectantes se diferenciando ainda em metacíclicos derivados de epimastigotas, e tripomastigotas de corrente sanguínea, derivados de amastigotas, ambos com capacidade de invadir um grande número de diferentes tipos de células, sendo que a via clássica de contaminação é por formas metacíclicas eliminadas nas fezes de triatomíneos infectados (Figura 3). Em ambos a posição do cinetoplasto está situada na parte posterior do flagelo em posição terminal ou subterminal e o flagelo emergindo próximo ao cinetoplasto (Betiana et al.,2019; Jansen et al., 2018).



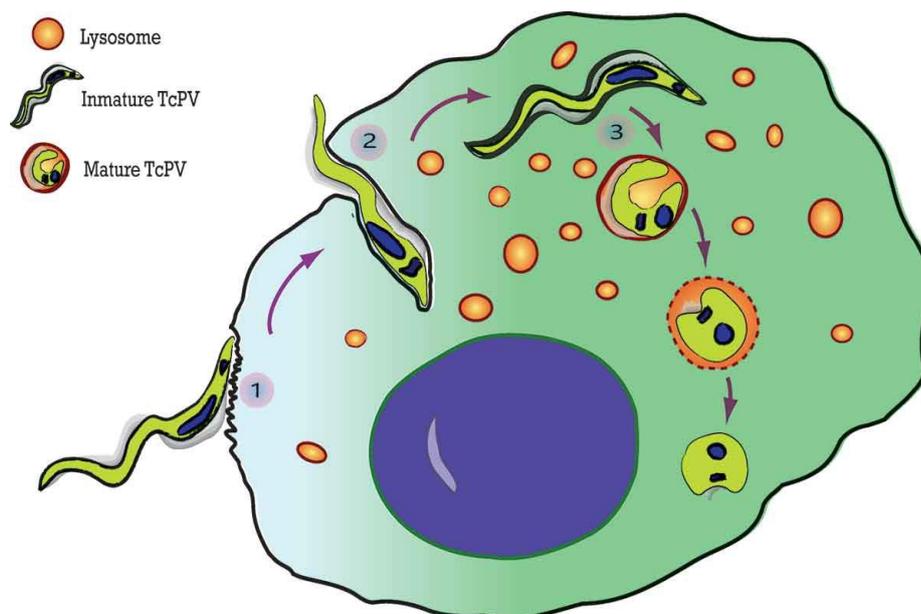
**Figura 3 - Formas evolutivas do *T. cruzi*.** Os epimastigotas, tripomastigotas e amastigotas diferem entre si pela morfologia e posição do cinetoplasto (indicado pelas setas) em relação ao núcleo. Fonte: Adaptado de Diaz & González, 2014.

### 4. 3. Mecanismos de interação parasita-hospedeiro

O *T. cruzi* é um parasita capaz de infectar quase todos os tipos de células nucleadas, sendo elas fagocíticas ou não. Na fase aguda da infecção, o *T. cruzi* usualmente tem tropismo por macrófagos, células epiteliais e endoteliais, fibroblastos e células dendríticas. Com a evolução do quadro para a fase crônica da doença, o *T. cruzi* passa a apresentar tropismo pelas células da musculatura lisa, esquelética e cardíaca, fato este atribuído à necessidade deste tipo celular de reparo e a oferta de grupamento heme pela mioglobina. Esses *habitats* possuem relação direta com as alterações relacionadas à fase crônica da doença de Chagas, principalmente com o esôfago, o cólon e o coração (Pereira et al., 2017).

Como já descrito, as formas infectantes do *T. cruzi* são os tripomastigotas, principalmente os tripomastigotas metacíclicos que normalmente apresentam alto grau de virulência. Para que esses tripomastigotas consigam infectar e estabelecer o seu ciclo nas células do hospedeiro, é necessário que haja um processo chamado de interação (Alves & Mortara, 2020).

A interação parasita-hospedeiro envolve três etapas que culminam na invasão celular pelo *T. cruzi*: (1) adesão de tripomastigotas à superfície da célula hospedeira, (2) internalização de tripomastigotas produzida pela excitose lisossomal, pela polimerização do citoesqueleto de actina ou pela invaginação da membrana plasmática e (3) maturação do vacúolo parasitóforo, um compartimento intracelular formado após a internalização do parasita na célula hospedeira (Figura 4). A maturação do vacúolo parasitóforo prossegue após a fusão com os lisossomos e inicia a diferenciação das formas evolutivas do *T. cruzi*, de tripomastigotas em amastigotas ainda dentro da célula. O processo de adesão está relacionado à ligação de antígenos do *T. cruzi* aos receptores da célula hospedeira que desencadeiam eventos de sinalização celular. O processo de internalização descreve o mecanismo que culmina na formação do vacúolo parasitóforo do *T. cruzi*. E a maturação do vacúolo parasitóforo é finalmente um processo chave tanto para a retenção do *T. cruzi* dentro da célula hospedeira quanto para a progressão do ciclo intracelular do *T. cruzi*, permitindo a diferenciação de tripomastigotas em amastigotas. Esses três processos serão descritos com mais detalhes nas próximas sessões (Betiana et al., 2019).



**Figura 4 - As três etapas da invasão do *T. cruzi*.** O esquema resume o processo de entrada do *T. cruzi* na célula hospedeira. Adesão de tripomastigotas de *T. cruzi* à célula hospedeira (1), internalização de tripomastigotas (2) e formação e maturação do vacúolo parasitóforo (3). Fonte: Betiana et al., 2019.

#### 4. 3. 1 Adesão de tripomastigotas à superfície da célula hospedeira

Quando os tripomastigotas adentram o hospedeiro vertebrado, eles são capazes de interagir com diversas células nucleadas, sendo elas fagocíticas ou não fagocíticas. Nessa interação, os tripomastigotas precisam se aderir à superfície da célula hospedeira para que a invasão ocorra com sucesso. A adesão envolve o reconhecimento de moléculas presentes nas duas células envolvidas: o parasita e seu hospedeiro, e um grande número de moléculas está envolvido na ligação de tripomastigotas à membrana plasmática da célula hospedeira, o que possibilita a interação e internalização do parasita. A maioria das moléculas que participam deste processo estão localizadas no glicocálice do parasita, facilitando a conexão com vários constituintes da membrana celular hospedeira e da matriz extracelular (Azambuja et al., 2017).

### 4.3.2 Moléculas envolvidas no processo de interação e adesão

Durante a interação parasita-hospedeiro, o *T. cruzi* produz e libera partículas que são cruciais para os eventos imunomoduladores desencadeados pelo parasita e que são armazenadas em estruturas chamadas de vesículas extracelulares formadas por uma bicamada lipídica contendo proteínas e ácidos nucleicos onde apresentam vários componentes de superfície do parasita envolvidos na adesão, invasão e migração do parasita.

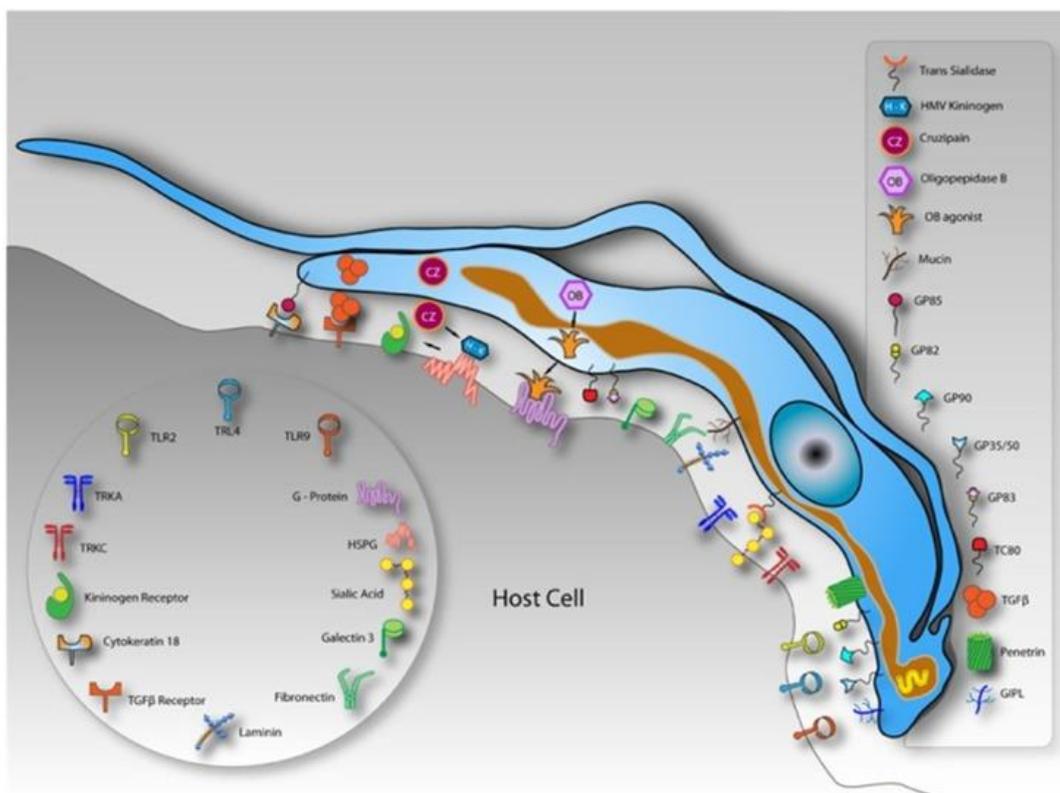
Atualmente, as vesículas extracelulares são classificadas em exossomos, microvesículas e corpos apoptóticos. Os exossomos possuem de 30 a 100 nm (geralmente <100 nm) e são formados no interior da rede endossomal dentro de corpos multivesiculares. A liberação dos exossomos ocorre pela fusão dos corpos multivesiculares com a membrana plasmática e posterior exocitose dos exossomos ao meio extracelular. Em contraste com os exossomos, as microvesículas são uma população heterogênea de vesículas com um diâmetro de 100 a 1000 nm. As microvesículas não são geradas na via endocítica como os exossomos; são produzidas pelo brotamento da membrana plasmática que eventualmente se separam por fissão e a consequente liberação ao espaço extracelular. Portanto, embora os tamanhos das microvesículas e dos exossomos se sobrepõem, a principal diferença entre os dois tipos de vesículas reside na sua biogênese e liberação. Por outro lado, os corpos apoptóticos, normalmente entre 1.000 e 5.000 nm, são liberados como bolhas de células durante as etapas finais de apoptose (YÁÑEZ-MÓ et al., 2015).

As vesículas liberadas modulam a infecção e aprimoram a capacidade do protozoário de entrar e escapar do vacúolo parasitóforo. Os componentes dessas vesículas ativam uma cascata de sinalização e modulam as respostas celulares do hospedeiro, ou seja, as vesículas extracelulares liberadas pelo parasita fazem com que os eventos fundamentais para os primórdios da infecção aconteçam. Essas vesículas são capazes de afetar os filamentos de actina da célula hospedeira, uma proteína globular relacionada a manutenção da forma celular e motilidade celular, o que permite a migração de lisossomos e a formação do vacúolo parasitóforo necessário para a internalização do parasita. Com isso, o parasita é capaz de adentrar a célula hospedeira e permanecer por um período suficiente para se

replicar. Vale ressaltar que os filamentos de actina estão relacionados também a contração muscular, como a que ocorre na fisiologia do músculo cardíaco. Sendo assim, as vesículas extracelulares estão relacionadas ao acometimento cardíaco que ocorre na fase crônica da doença de Chagas, uma vez que os tripomastigotas (nesse caso os sanguíneos) são capazes de infectar as células musculares cardíacas, os cardiomiócitos, e promover a cardiomiopatia (Borges et al, 2016).

As vesículas podem ser liberadas pelas três formas de vida do *T. cruzi*, tripomastigotas, amastigotas e epimastigotas, e contêm fatores de virulência envolvidos na invasão de células hospedeiras, no desenvolvimento intracelular do parasita, na evasão imune e no aumento do parasitismo cardíaco, inflamação e arritmia que contribuem para a patogênese da doença de Chagas (Carvalho et al., 2017). As vesículas liberadas pelos tripomastigotas de *T. cruzi* contêm a maioria das proteínas de superfície celular do parasita, como glicoproteínas, proteases, proteínas do citoesqueleto, mucinas e outras moléculas de superfície do parasita que estão envolvidas na interação com células hospedeiras (Torrecilhas et al., 2020). Nos epimastigotas, a carência de nutrientes induz a secreção de vesículas extracelulares que transportam pequenos tRNAs e outras proteínas como carga. Essa carga pode ser transferida para outros parasitas e para células de mamíferos, aumentando a metaciclo-gênese e a suscetibilidade das células de mamíferos à infecção (Fernandez-Calero et al., 2015).

Além das vesículas extracelulares, existem outras moléculas, presentes no glicocálice do *T. cruzi*, que são agrupadas em várias famílias, incluindo mucinas, trans-sialidases, moléculas semelhantes a TS e proteínas integrais de membrana, além de polissacarídeos, glicoproteínas e lipídios ancorados ao fosfatidilinositol na membrana (Figura 5). Cada molécula destas elencadas apresenta um mecanismo específico e desempenha um papel diferente durante o processo de invasão celular desenvolvido pelo parasita durante a infecção, como será descrito adiante (Romano et al., 2021; Silva, 2019):



**Figura 5 - Moléculas de superfície do *T. cruzi*.** Modelo esquemático demonstrando moléculas envolvidas no processo de interação parasita-célula hospedeira e expostas na superfície de uma célula hospedeira hipotética e em tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*. Fonte: Carvalho et al., 2017.

As trans-sialidases são enzimas que removem resíduos de ácido siálico de glicoproteínas, glicolipídeos e oligossacarídeos presentes no meio e os transfere para moléculas aceptoras (as mucinas) presentes na membrana plasmática das formas tripomastigotas. Com isso, as mucinas, que são as principais glicoproteínas da superfície do *T. cruzi* importantes na interação entre tripomastigotas e célula hospedeira, são capazes de realizar a adesão e a entrada celular do parasita no hospedeiro. A adesão ocorre através da ligação das mucinas a fibronectina, molécula presente na superfície celular da célula hospedeira, e após esse reconhecimento o parasita é internalizado (Azambuja et al., 2017; Romano et al., 2021).

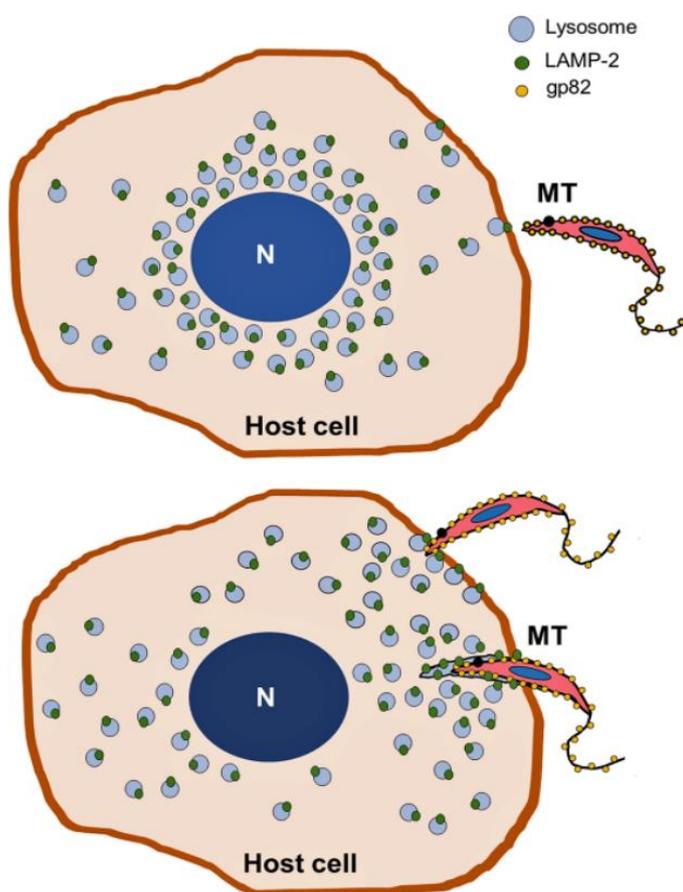
O HMV Kininogen (cininogênio de alto peso molecular) é uma proteína plasmática que tem papel na coagulação sanguínea e na produção de bradicinina,

uma substância vasodilatadora com função hipotensora. Trata-se de uma proteína muito importante para a ação da cruzipaina, uma molécula definida como uma glicoproteína que está envolvida na invasão de células hospedeiras por tripomastigotas. A cruzipaina secretada pelo parasito cliva o cininogênio, seu substrato natural, gerando cininas (peptídeos) que se ligam aos receptores de bradicinina B2R presentes na superfície celular de diversas, como células endoteliais, células do músculo liso, células epiteliais, fibroblastos, células neuronais e células dendríticas, para estimular a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$ , o que é importante para a exocitose de lisossomos que, quando se fundem à membrana celular, permitem a internalização do parasita na célula hospedeira e a formação do vacúolo parasitóforo (Vieira, 2019).

Uma outra molécula que também está relacionada ao influxo transitório de  $\text{Ca}^{2+}$  que permite a invasão do parasito nas células hospedeiras é a oligopeptidase B, encontrada no citosol do tripanossomatídeo. A oligopeptidase B atua por meio da geração de um agonista (OB agonist) que atua sobre o receptor acoplado à proteína G ativando a fosfolipase C da célula hospedeira. A fosfolipase C converte fosfolipídeos de membrana em inositol trifosfato (IP3) e isso estimula a liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, a partir dos estoques de  $\text{Ca}^{2+}$  do retículo endoplasmático, o que viabiliza o recrutamento lisossomal e a fusão lisossomal a membrana celular para internalizar o parasita (Neves et al., 2019).

As moléculas gp82 e gp85 (glicoproteínas) são moléculas da superfamília de gp85/sialidase. A gp82 está presente em tripomastigotas metacíclicos enquanto a gp85 está presente em tripomastigotas de cultivo celular, aqueles utilizados para estudos em laboratórios, sendo que esta última reconhece componentes da matriz extracelular, como a citoqueratina 18. Ambas as moléculas desempenham a mesma função que é mediar a adesão do parasita à célula hospedeira e a exocitose lisossomal, eventos necessários para a internalização do parasita. Este processo de internalização ocorre por meio da ruptura do citoesqueleto de actina dependente de cálcio e mobilização de lisossomos para o local da invasão do *T. cruzi* (Morais et al., 2015). A invasão por *T. cruzi* mediada pela gp82 requer a atuação e presença do LAMP-2 (Lysosomal Associated Membrane Protein 2), uma proteína associada à membrana lisossomal da célula hospedeira capaz de se ligar a gp82. A ligação da

gp82 a LAMP-2 induz a exocitose de lisossomos e a formação do vacúolo parasitóforo (Figura 6) (Rodrigues et al., 2019).



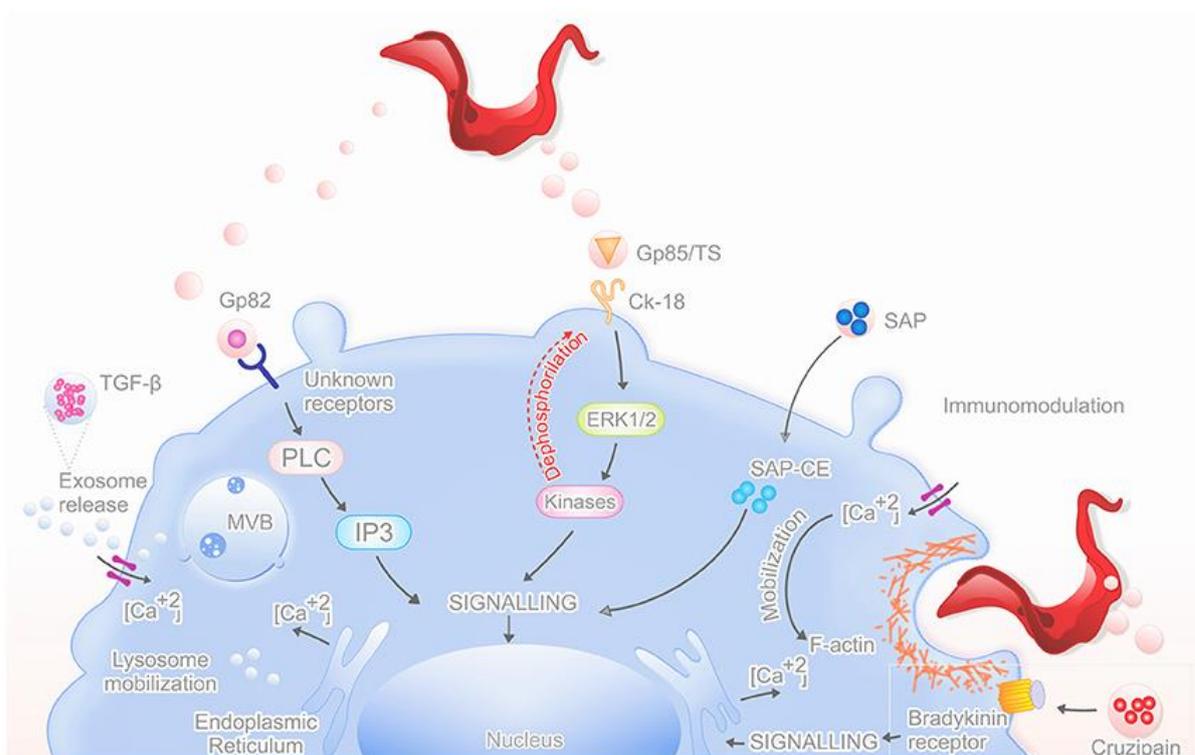
**Figura 6 - Invasão por tripomastigotas mediada pela gp82.** Modelo de invasão de células hospedeiras por tripomastigota metacíclico (MT) de *T. cruzi* mediada pela ligação de gp82 à proteína LAMP-2. Tripomastigota, que possui gp82, liga-se à célula hospedeira, que apresenta LAMP-2, presente em níveis baixos na membrana plasmática, e desencadeia a dispersão do lisossomo para a periferia da célula. Isso aumenta a disponibilidade de LAMP-2 como receptor para gp82 e promove ainda mais a internalização de MT dentro de um vacúolo resultante da fusão de lisossomos com a membrana plasmática (vacúolo parasitóforo). Fonte: Rodrigues et al., 2019.

Uma glicoproteína interessante durante o curso da invasão por tripomastigota metacíclico é a gp90, que possui um funcionamento diferente das outras. A gp90 atua como um regulador negativo da infectividade do parasito, ou seja, a gp90 está inversamente relacionada com a capacidade de invasão do parasito. Ao contrário da gp82, a gp90 não ativa os processos intracelulares de carreamento de cálcio após sua ligação na célula alvo (Carvalho et al., 2017; Silva, 2019).

Assim como a gp 90, a molécula de superfície gp35/50, expressa por cepas de *T. cruzi* na fase de tripomastigota metacíclico com baixa virulência, provoca a mobilização de cálcio intracelular de forma bem menor do que ocorre na ligação da gp82. Ou seja, ambas as moléculas, tanto a gp90 e quanto a gp35/50, apresentam baixo ou nenhum aumento de cálcio citoplasmático quando se ligam aos receptores na célula hospedeira (Silva, 2019).

A última molécula a ser citada é o TGF- $\beta$  (fator de crescimento de transformação- $\beta$ ), uma molécula presente na superfície do tripanossomatídeo que se liga a receptores de TGF- $\beta$  situados na membrana da célula hospedeira e medeia a adesão do parasita à célula (Borges et al., 2016).

Dadas todas essas moléculas presentes em toda a interação envolvida no processo de invasão celular, e como cada uma é importante em sua função para o estabelecimento da infecção e cada sinalização enviada para o núcleo da célula, seja pela TGF- $\beta$ , a Gp82, Gp85/TS ou a cruzipaína (Figura 7) todas elas apresentam funções diferentes entre si, mas com o mesmo objetivo que é o de invadir a célula e prosseguir com a infecção. Como por exemplo, as trans-sialidases que somente poucos resíduos de ácido siálico na superfície, já é possível observar uma diminuição na invasão e na adesão do *T. cruzi*. Ou a bradicina, que através de seus receptores desencadeiam transientes de cálcio intracelular que podem auxiliar no processo de invasão por este parasito, já que as diferenças nas taxas de invasão mostraram ser influenciadas pela capacidade de injúrias e sinais de cálcio intracelular induzidos por estes parasitos. E a LAMP-2, uma proteína essencial para a formação do vacúolo parasitóforo, em que sua ausência já é suficiente para diminuir as taxas de invasão pelo *T. cruzi* (Oliveira, 2017).



**Figura 7 - Moléculas envolvidas na interação entre *T. cruzi* e hospedeiro.** A figura mostra as principais proteínas que são liberadas nas vesículas (TGF- $\beta$ , Gp82, Gp85/TS, Cruzipaina) e seus mecanismos de ação, todos com o mesmo objetivo sendo o de sinalizar ao núcleo para que aumente a invasão do parasita na célula hospedeira. Fonte: Borges et al, 2016.

#### 4.3.3 Internalização do *T. cruzi* e a formação do vacúolo parasitóforo

Após o reconhecimento (adesão) do parasita à superfície da célula hospedeira, ocorre uma série de processos de sinalização celular que culminam na sua internalização. Nos momentos iniciais de reconhecimento do *T. cruzi* com a célula hospedeira ocorre um aumento transiente dos níveis citoplasmáticos de  $\text{Ca}^{2+}$ , tanto no parasito quanto na célula hospedeira. Esta elevação de  $\text{Ca}^{2+}$  é importante para a entrada do parasito, e também ocorre um recrutamento de lisossomos para o local de invasão do parasito (Azambuja et al., 2017).

A invasão do tripomastigota pode ocorrer de três formas: pela ativação da exocitose lisossomal, pela polimerização do citoesqueleto de actina ou pela indução de um processo semelhante à endocitose. Na primeira, os parasitas desencadeiam uma cascata de sinalização de  $\text{Ca}^{2+}$  nas células hospedeiras que ativa a exocitose lisossomal, ou seja, a adesão do parasita à superfície celular do hospedeiro promove um aumento na concentração intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  e isso permite que ocorra a exocitose lisossomal. A fusão posterior dos lisossomas com a membrana plasmática do hospedeiro permite a entrada do parasita e a formação de um vacúolo parasitóforo com características lisossomais (pH ácido). Na segunda, os parasitas, durante o processo de adesão à célula hospedeira, proporcionam mudanças na estrutura do citoesqueleto de actina da célula hospedeira, ocasionando a polimerização deste, o que permite a internalização do microrganismo por meio de uma expansão da membrana plasmática, ou seja, as células emitem pseudópodes que fagocitam os parasitas e isso culmina no desenvolvimento de um vacúolo parasitóforo, com fusão de lisossomos intracelulares. Esse processo pode ser observado em apenas células fagocíticas. Já na terceira, o processo semelhante à endocitose mostra que em tempos muito iniciais após a infecção, a maior proporção de tripomastigotas entra nas células hospedeiras por invaginação da membrana plasmática que gera um vacúolo parasitóforo inicial enriquecido em fosfoinosítídeos derivados da membrana plasmática, mas não marcadores lisossomais. Ou seja, o modelo lisossomal dependente mostra que o *T. cruzi* pode entrar diretamente nos lisossomas após a fusão desses compartimentos com a membrana plasmática, enquanto o modelo lisossomal independente demonstra que o parasita pode entrar por invaginação da membrana plasmática gerando um vacúolo inicialmente diferente dos lisossomas. No entanto, a primeira forma de invasão é a mais bem elucidada (Romano et al., 2021; Silva, 2019).

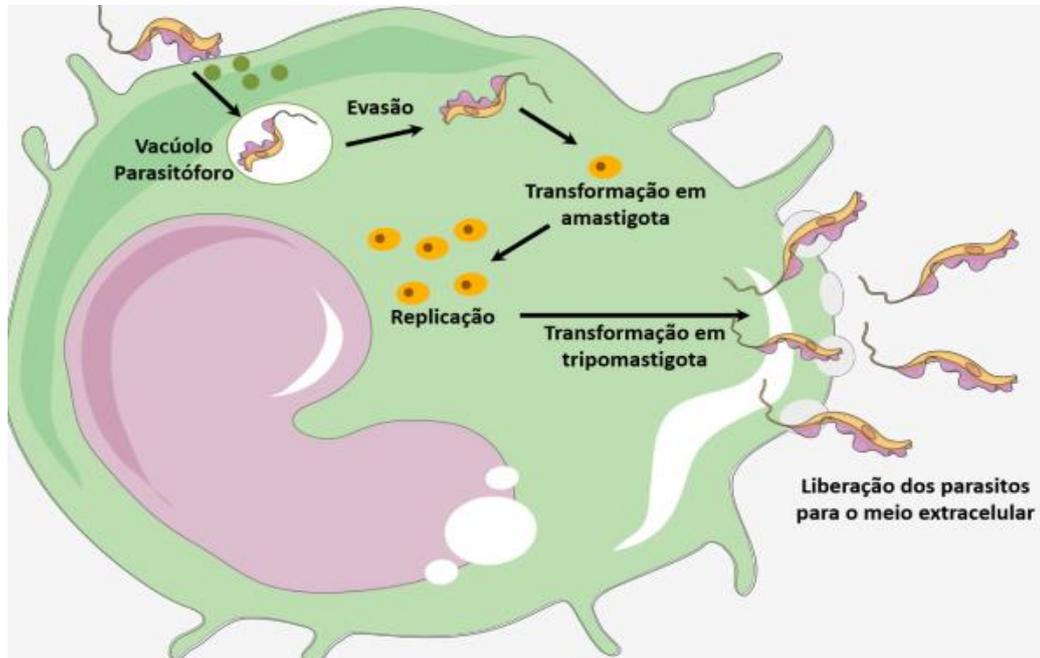
Durante a invasão do *T. cruzi* está envolvido também o processo de maturação do vacúolo parasitóforo, que é a fusão dos lisossomos com o vacúolo parasitóforo, um processo crucial para o progresso da infecção. A fusão lisossomal ao vacúolo parasitóforo é um processo chave para a retenção do *T. cruzi* no interior da célula hospedeira. Quando a fusão lisossomal é inibida, os parasitas internalizados não ficam retidos dentro das células do hospedeiro e escapam para o ambiente extracelular (Betiana et al, 2019).

#### 4. 3. 4 Maturação do vacúolo parasitóforo

No interior da célula hospedeira os parasitas, em sua fase tripomastigotas metacíclicos, estão contidos em um vacúolo parasitóforo delimitado por membranas, emergente a partir de lisossomos, ou que se funde posteriormente a eles. Uma vez dentro das células hospedeiras, os tripomastigotas secretam TcTOX, uma molécula que, em pH baixo, destruirá a membrana do vacúolo e permitirá que o parasita acesse o citosol, possibilitando a fuga do parasita para o citoplasma (Figura 8). Esta atividade lítica é facilitada pela atividade da trans-sialidase do parasita nas glicoproteínas luminais que protegem o vacúolo parasitóforo, pois a trans-sialidase secretada pelo parasita retira resíduos de ácido siálico do vacúolo e torna a membrana deste vacúolo sensível à ação da Tc-Tox. Quando livres no citoplasma, os tripomastigotas se diferenciam em amastigotas e essas formas então começam a crescer por fissão binária por até nove ciclos. Normalmente, com o citoplasma carregado com algumas dezenas de amastigotas, a divisão da célula hospedeira é interrompida. Durante a diferenciação de amastigotas em tripomastigotas, precedendo a ruptura celular e a liberação do parasita no meio circundante, formas intermediárias semelhantes a epimastigotas são observadas. Quando a célula fica cheia de tripomastigotas, podem ser observadas rupturas da membrana plasmática e processos degenerativos significativos, devido ao intenso movimento mecânico dos parasitas. Uma vez que a membrana plasmática da célula hospedeira é rompida, os parasitas são liberados para a corrente sanguínea e, assim, são capazes de interagir com outras células, que dentre elas estão as células musculares cardíacas, podendo acarretar cardiomiopatia progressiva, que é uma alteração comum na fase crônica da doença de Chagas (Alves & Mortara, 2021).

Em resumo, as células nucleadas ao serem invadidas por tripomastigotas formam um vacúolo parasitóforo, uma estrutura que envolve os parasitos. Esses tripomastigotas escapam do vacúolo e se aloca no citoplasma da célula invadida, onde se diferenciam nas formas amastigotas e replicam-se por fissão binária. Após a replicação, as formas amastigotas se diferenciam novamente em tripomastigotas, que apresentam alta atividade. Assim, a célula invadida sofre rupturas em sua membrana plasmática e isso possibilita a evacuação dos parasitos para o meio

extracelular, onde encontram acesso a corrente sanguínea e onde estão livres para invadir outras células nucleadas, reiniciando o ciclo (Matteucci, 2018).



**Figura 8 - Processo de invasão celular por tripomastigotas de *T. cruzi*, estabelecimento do ciclo evolutivo e liberação dos parasitos para o meio extracelular.**

Quando o tripomastigota invade a célula hospedeira, fica envolto num vacúolo parasitóforo do qual tem a habilidade de escapar. Após a evasão, o parasito aloja-se no citoplasma celular e diferencia-se em amastigota. O amastigota replica-se pelo processo de fissão binária e posteriormente diferencia-se em tripomastigota novamente, até que a célula hospedeira não suporte a carga parasitário e sofra ruptura em sua membrana plasmática, o que permite a liberação dos parasitos para o meio extracelular, sendo estes capazes de invadir outras células. Fonte: Matteucci, 2018.

## 5. CONCLUSÃO

A doença de Chagas resulta de uma infecção bem sucedida do protozoário *T. cruzi*, um parasita que apresenta diversos mecanismos de interação com as células hospedeiras e diversas formas de evadir facilmente da resposta do sistema imunológico do hospedeiro. Embora haja muitas informações acerca dos mecanismos que resultam no estabelecimento da grave doença, de todo o processo e sobre as moléculas presentes na interação parasita-hospedeiro que retrata a invasão celular, mais estudos são necessários para alcançar uma alternativa eficaz de controle e erradicação da doença de Chagas, uma vez que tal patologia vem acometendo muitos indivíduos ao longo dos anos no continente americano. E visto que uma mudança ou impedimento em uma região no mecanismo de interação, os eventos desencadeados posteriormente evitariam de acontecer e o parasita não prosseguiria com a infecção.

## REFERÊNCIAS

1. ALVES, Maria Julia Manso; MORTARA, Renato Arruda. **A century of research: what have we learned about the interaction of *Trypanosoma cruzi* with host cells?**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, [s. l.], 22 jul. 2009. DOI <https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000900013>. Disponível em: <https://www.scielo.br/ij/mioc/a/f5XmK3Xm3C3GQZ9TYtMqs4p/?lang=en>. Acesso em: 2 jun. 2021.
2. ARRUDA, Tiago. AVALIAÇÃO DE IL-10, IFN- $\gamma$  E GRANZIMA B NA CARDIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA. 2019. Dissertação de Mestrado (Mestre em Medicina Tropical) - Universidade Federal de Pernambuco, [S. l.], 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/35584/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O%20Tiago%20Ribeiro%20de%20Arruda.pdf>. Acesso em: 4 fev. 2022.
3. AZAMBUJA, Patrícia et al. **Ciclo Evolutivo**. Portal da doença de Chagas, [s. l.], 2017. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/parasita/ciclo-evolutivo/>. Acesso em: 10 out. 2021.
4. BERN, Caryn et al. **Chagas Disease in the United States: a Public Health Approach**. ASM Journals: Clinical Microbiology Reviews, [s. l.], 27 nov. 2019. DOI <https://doi.org/10.1128/CMR.00023-19>. Disponível em: [https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00023-19?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.00023-19?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed). Acesso em: 18 fev. 2022.
5. BETIANA Nebaí Salassa & Patricia Silvia Romano (2019) **Autophagy: A necessary process during the *Trypanosoma cruzi* life-cycle**, Virulência, 10: 1, 460-469, DOI: 10.1080/21505594.2018.1543517.
6. BORGES, Bruna C. et al. **Mechanisms of Infectivity and Evasion Derived from Microvesicles Cargo Produced by *Trypanosoma cruzi***. Front. Cell. Infect. Microbiol., [s. l.], 22 nov. 2016. DOI <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00161>.

Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2016.00161/full>. Acesso em: 2 fev. 2022.

7. CARDOZO, Elline Jahne de Souza et al. PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS PORTADORES DE DOENÇA DE CHAGAS: DOS INDICADORES DE RISCO AO PROCESSO DE ENFRENTAMENTO DA DOENÇA. **Arquivos de Ciências da Saúde**, [S.l.], v. 24, n. 1, p. 41-46, mar. 2017. ISSN 2318-3691. Disponível em: <<https://www.cienciasdasaude.famerp.br/index.php/racs/article/view/545>>. Acesso em: 21 jun. 2021. doi: <https://doi.org/10.17696/2318-3691.24.1.2017.545>.

8. CARVALHO, Técia Ulisses de. **Organização Estrutural**. Portal da doença de Chagas, [s. l.], 30 jun. 2017. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/parasita/organizacao-estrutural/>. Acesso em: 27 abr. 2022.

9. CARVALHO, Técia Ulisses de et al. **Mecanismo de Interação: Adesão, reconhecimento, sinalização e invasão**. Portal da Doença de Chagas, [s. l.], 30 jun. 2017. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/parasita/interacao/>. Acesso em: 27 abr. 2022.

10. DIAS, João Carlos Pinto et al. **II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas**, 2015. Epidemiologia e Serviços de Saúde, Brasília, v. 25, 30 jun. 2016. DOI <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742016000500002>. Disponível em: [http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742016000500007#B5](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742016000500007#B5). Acesso em: 18 jun. 2021.

11. DÍAZ ML. González CI. **Enfermedad de Chagas agudo: transmisión oral de *Trypanosoma cruzi* como una vía de transmisión re-emergente**. rev.univ.ind.santander.salud 2014; 46(2): 177-188.

12. FERNANDES, Anabela. **T.cruzi ciclo de vida PT**. Know.net, 9 mar. 2016. Enciclopédia temática. Disponível em: <https://know.net/fr/sciences-terre-vie/biologie/trypanosoma-cruzi/attachment/t-cruzi-ciclo-de-vida-pt-3/>. Acesso em: 10 nov. 2021.

13. FERNANDEZ-Calero, T., Garcia-Silva, R., Pena, A., Robello, C., e Persson, H. (2015). **O perfil de pequenas cargas de RNA de vesículas extracelulares liberadas pelo *Trypanosoma cruzi* revela uma assinatura extracelular**

**específica.** *Mol. Bioquímica. Parasitol.* 199, 19-28. doi: 10.1016/j.molbiopara.2015.03.003

14. FERREIRA, Eden R et al. **“Parasite-Mediated Remodeling of the Host Microfilament Cytoskeleton Enables Rapid Egress of *Trypanosoma cruzi* following Membrane Rupture.”** *mBio* vol. 12,3 (2021): e0098821. doi: 10.1128 / mBio.00988-21.

15. FIDALGO, ASOBV, et al. **Insect vectors of Chagas disease (*Trypanosoma cruzi*) in Northeastern Brazil.** *Rev Soc Bras Med Trop.* 2018 Mar-Apr;51(2):174-182. doi: 10.1590/0037-8682-0408-2017. PMID: 29768550.

16. GALVÃO, C., and JURBERG, J. Introdução. In: GALVÃO, C., org. **Vetores da doença de chagas no Brasil** [online]. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014, pp. 5-9. Zoologia: guias e manuais de identificação series. ISBN 978-85-98203-09-6. Available from SciELO Books. Disponível em: <<http://books.scielo.org/id/mw58j/pdf/galvao-9788598203096-01.pdf>>. Acesso em: 18 jun. 2021.

17. GÓMEZ, Inmaculada et al. **“Differential Expression of Immune Response Genes in Asymptomatic Chronic Chagas Disease Patients Versus Healthy Subjects.”** *Frontiers in cellular and infection microbiology* vol. 11 722984. 6 Sep. 2021, doi:10.3389/fcimb.2021.722984.

18. JANSEN, Ana Maria et al. **“*Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil.”** *Parasitas e vetores* vol. 11,1 502. 6 de setembro de 2018, doi: 10.1186 / s13071-018-3067-2.

19. LEVINSON, Warren. **Microbiologia médica e imunologia.** 13. Porto Alegre AMGH 2016 1 recurso online ISBN 9788580555578.

20. LIMA, Ronildo de Sousa et al. **Chagas disease: a bibliographic update.** RBAC, CE, Brasil, 27 jun. 2019. DOI DOI: 10.21877/2448-3877.201900727. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/artigos/doenca-de-chagas-uma-atualizacao-bibliografica/>. Acesso em: 10 out. 2021.

21. MADEIRA, Fernanda Portela et al. **Chagas Disease in the Western Brazilian Amazon: Epidemiological Overview from 2007 to 2018**. Journal of Human Growth and Development, Marília, v. 31, n. 1, jan./abr. 2021. DOI <http://dx.doi.org/10.36311/jhgd.v31.10925>. Disponível em: [http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-1282202100010010](http://pepsic.bvsalud.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-1282202100010010). Acesso em: 18 jun. 2021.
22. MATTEUCCI, KELY CATARINE. **Papel de NLRP3 no controle da autofagia durante a infecção pelo *Trypanosoma cruzi***. 2018. Tese (Pós-graduação em Imunologia) - Acadêmico, [S. l.], 2018. Disponível em: [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42133/tde-30042019-093010/publico/Kely\\_C\\_Matteucci\\_doutorado\\_original\\_parcial.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42133/tde-30042019-093010/publico/Kely_C_Matteucci_doutorado_original_parcial.pdf). Acesso em: 2 mar. 2022.
23. MONTEON V. ***Trypanosoma cruzi*: the early contact between insect-derived metacyclic trypomastigotes and the mammalian cells**. Ann Parasitol. 2019;65(3):193-204. doi: 10.17420/ap6503.201. PMID: 31578843.
24. MORAIS, Carlos Gustavo Vieira de et al. **The Dialogue of the Host-Parasite Relationship: Leishmania spp. and *Trypanosoma cruzi* Infection**. BioMed Research International, vol.2015, Article ID 324915, 19 pages 2015. DOI <https://doi.org/10.1155/2015/324915>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/324915/#abstract>. Acesso em: 18 jun. 2021
25. NEVES, BEATRIZ PEREIRA. **Obtenção dos ligantes à Oligopeptidase B de *Trypanosoma cruzi***. 2019. Dissertação de Mestrado (Pós-graduação em Ciências Médicas) - Acadêmico, [S. l.], 2019. Disponível em: [https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/35842/3/2019\\_BeatrizPereiraNeves.pdf](https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/35842/3/2019_BeatrizPereiraNeves.pdf). Acesso em: 1 mar. 2022.
26. NEVES, David Pereira et al. **Parasitologia básica**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2019. 254 p. ISBN 978-85-388-0934-0.
27. OLIVEIRA, Anny. **Caracterização biológica de tripomastigotas de *T. cruzi* provenientes de células deficientes em LAMP**. 2017. Dissertação (Programa de PósGraduação em Biologia Celular) - ICB - INSTITUTO DE CIÊNCIAS

BIOLOGICAS, [S. l.], 2017. Disponível em: [https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/33742/4/Dissertac%cc%a7a%cc%83o\\_AnyOliveira\\_versaofinal.pdf](https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/33742/4/Dissertac%cc%a7a%cc%83o_AnyOliveira_versaofinal.pdf). Acesso em: 20 jan. 2022.

28. PEREIRA, Mirian Claudia S *et al.* **Interação parasito-cardiomiócito**. Portal da doença de Chagas, [s. l.], 30 jun. 2017. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/parasita/interacao/#:~:text=O%20tropismo%20de%20Trypanosoma%20cruzi,processo%20de%20invas%C3%A3o%20de%20T>. Acesso em: 27 abr. 2022.

29. RODRIGUES, J. P. F., Souza Onofre, T., Barbosa, B. C., Ferreira, É. R., Bonfim-Melo, A., & Yoshida, N. (2019). **Host cell protein LAMP-2 is the receptor for Trypanosoma cruzi surface molecule gp82 that mediates invasion**. Cellular microbiology, 21(5), e13003.

30. RODRÍGUEZ-Bejarano, Oscar Hernán *et al.* **“Mechanisms Associated with Trypanosoma cruzi Host Target Cell Adhesion, Recognition and Internalization.”** Life (Basel, Suíça) vol. 11,6 534. 9 de junho de 2021, doi: 10.3390 / life11060534

31. ROMANO, Patricia Silvia *et al.* **“Molecular and cellular mechanisms involved in the Trypanosoma cruzi/host cell interplay.”** IUBMB life vol. 64,5 (2012): 387-96. doi: 10.1002 / iub.1019

32. SALES Junior PA, Molina I, Murta SMF, Montalvá AS, Salvador F, Oliveira RC, *et al.* **Experimental and Clinical Treatment of Chagas Disease: A Review**. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2017 nov; 97(5):1289-303.

33. SILVA, Ghabriel Honório da. **Moléculas envolvidas na invasão de células de mamíferos por Trypanosoma cruzi: uma revisão de literatura**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas - Licenciatura) - Acadêmico, [S. l.], 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/26206/6/Mol%C3%A9culasEnvolvidasInvas%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 26 out. 2021.

34. TORRECILHAS, Ana Claudia et al. **“Extracellular Vesicles in Trypanosomatids: Host Cell Communication.”** *Fronteiras em microbiologia celular e de infecções* vol. 10 602502. 14 de dezembro de 2020, doi: 10.3389 / fcimb.2020.602502.
35. VIEIRA, Joseli Lannes. **Propostas para explicar a fisiopatogenia da doença de Chagas.** *PATOGENIA*, [s. l.], 27 nov. 2019. Disponível em: <http://chagas.fiocruz.br/doenca/patogenia/#>. Acesso em: 18 fev. 2022.
36. World Health Organization. **Chagas disease (American trypanosomiasis)** 2018. Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab\\_3](https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab_3)>. Acesso em: 18 jun. 2021.
37. YÁÑEZ-MÓ, M. et al. **Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions.** *Journal of Extracellular Vesicles*, v. 4, n. 27066, 2015.