



EXERCÍCIO FÍSICO REDUZ A PARASITEMIA E ESTIMULA A PRODUÇÃO DE TNF- α E TGF- β EM CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS POR *Trypanosoma cruzi*

*Neide Martins Moreira*¹; *Carina Ribeiro Lopes*²; *Caroline Felício Braga*², *Silvana Marques de Araújo*³

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo verificar a influência do exercício físico aeróbio sobre o curso da infecção por *Trypanosoma cruzi* em camundongos discutindo a relação entre parasitemia, peso corporal e citocinas pró e antiinflamatórias. Foram utilizados 49 camundongos suíços machos, 30 dias de idade. O exercício físico consistia em atividade de intensidade moderada em esteira rolante. Os animais foram inoculados com 1300 tripomastigotas sanguíneos da cepa Y de *Trypanosoma cruzi*. A parasitemia foi avaliada entre o 4º e 32º dias após inoculação (dpi). A indução da fase crônica foi obtida pela administração de três doses de 100mg e duas de 250mg/Kg/peso de benzonidazol aos 11, 15, 22, 18 e 41 dias de infecção, respectivamente. Os animais foram pesados semanalmente durante todo o experimento. As dosagens de citocinas foram realizadas com plasma sanguíneo coletado no 75º dia de infecção. Para a dosagem de TNF- α , IFN- γ , IL-10 e TGF- β , foi utilizada a técnica de ELISA de captura. O exercício físico induziu redução do pico de parasitos e parasitemia total e aumentou a produção de TNF- α ($p < 0,05$) e TGF- β ($p > 0,05$) nos animais treinados em relação aos sedentários ($p < 0,05$), com manutenção do peso corporal, trazendo benefícios ao hospedeiro com infecção aguda por *T. cruzi*.

PALAVRAS-CHAVE: Camundongos; exercício físico; TGF- β ; TNF- α ; *Trypanosoma cruzi*

1 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é causada por *Trypanosoma cruzi* e atinge cerca de 16 milhões de pessoas na América Latina, onde, 75-90 milhões estão expostas ao risco de contrair a infecção (Coura; Dias, 2009). O *T. cruzi* ao infectar o hospedeiro entra em contato com inúmeras células do hospedeiro provocando o desenvolvimento de um processo inflamatório. Conseqüentemente, o sistema imunológico se regula para destruição do parasito. No entanto, o *T. cruzi* não é detido e invade aleatoriamente outros órgãos, entre eles, coração, intestinos/esôfago e sistema nervoso central (Neves et al., 2005). O exercício físico moderado representa um fator de resistência para o desenvolvimento de infecções causadas por vírus e protozoários por estimular a resposta imunológica (Soares et al., 2010). Contudo, embora existam trabalhos sobre exercício físico na infecção experimental de camundongos por *T. cruzi* (Schebeleski-Soares et al.,

¹ Doutoranda pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. neidemartinsenf@yahoo.com.br

² Mestranda pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. carinaedaniel@hotmail.com; cfeliciobraga@hotmail.com

³ Orientadora, Professora Doutora da Disciplina de Parasitologia da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. smaraujo@uem.br

2009, Soares et al., 2010), relato correlacionando a parasitemia, peso corporal e produção de várias citocinas, não estão disponíveis. Sendo assim, este trabalho objetivou verificar a influência do exercício físico aeróbio sobre o curso da infecção por *Trypanosoma cruzi* em camundongos discutindo a relação entre parasitemia, peso corporal e citocinas pró e antiinflamatórias.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizou-se 49 camundongos suíços machos, 30 dias de idade, distribuídos em quatro grupos: Treinado Controle (TC), Treinado Infectado (TI), Sedentário Controle (SC) e Sedentário Infectado (SI). Os grupos TC e TI foram submetidos ao exercício físico moderado (esteira rolante programável, sensibilidade 2m/minuto) durante 5dias/semana, de segunda a sexta, por 30-45 minutos na primeira semana, 45-60 minutos na segunda e 60 minutos nas demais, velocidade 13-17m/min, durante 8 semanas. Três dias após o término do exercício, TI e SI foram inoculados com 1300 tripomastigotas sanguíneos da cepa Y do *T. cruzi*. A parasitemia foi avaliada entre o 4º e 32º dias após inoculação (dpi). A indução da fase crônica foi obtida pela administração de três doses de 100mg e duas de 250mg/Kg/peso de benzonidazol aos 11, 15, 22, 18 e 41 dpi, respectivamente. Os animais foram pesados semanalmente durante todo o experimento. Aos 75 dpi, os animais foram submetidos à eutanásia com uma “overdose” de éter etílico por via inalatória para a obtenção de plasma para dosagens de citocinas TNF- α , INF- γ , TGF- β e IL-10. Utilizou-se a técnica de ELISA (Enzyme Linked Immune Sorbent Assay) de captura. Os resultados foram expressos em pg/mL para IL-10, IFN- γ e TNF- α e em ng/mL para TGF- β . Os dados foram analisados utilizando o teste ANOVA – Tukey e Kruskal-Wallis, considerando nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados mostram que o exercício físico reduziu a curva de parasitemia em animais treinados quando comparados a curva observada em animais sedentários. Os animais do grupo TI apresentaram pico de parasitos (8º dia/infecção) e parasitemia total menores 59% ($p=0,0132$) e 44% ($p=0,0307$), respectivamente que SI. (Tabela 1). Schebeleski-Soares et al. (2009), ao avaliarem a influência do exercício físico crônico pré-infecção sobre a curva de parasitemia, de camundongos BALB/c fêmeas infectados com a cepa Y de *T. cruzi*, fase aguda, observaram redução significativa da parasitemia apenas no pico do parasitos. A redução da parasitemia parece ser resultante do aumento da produção de TNF- α . Segundo alguns autores, esta citocina associada ao IFN- γ estimula os macrófagos a produzirem óxido nítrico (NO), o principal efetor que controla a replicação intracelular do *T. cruzi* (Machado et al., 2000).

Tabela 1 – Parâmetros parasitológicos avaliados em camundongos, suíços, submetidos (TI) ou não (SI) ao exercício físico crônico, e posteriormente infectados com 1300 tripomastigotas sanguíneos da cepa Y do *T. cruzi*.

Grupo	Infectividade (%)	Período Pré-Patente (dias)	Período Patente (dias)	Pico de Parasitos (tripomastigotas/mL X 10 ⁶)	Parasitemia Total (tripomastigotas/mL X 10 ⁶)
TI	100	5,0 ± 1,1	13,0 ± 8,0	4,0 ± 3,4	9,4 ± 4,6
SI	100	4,2 ± 0,4	13,4 ± 9,0	9,8 ^a ± 6,3	16,9 ^b ± 9,5

Dados apresentados como média ± desvio-padrão seguidos de letras diferentes numa mesma coluna apresentam diferença significativa entre TI e SI (a: $p=0,0132$; b: $p= 0,0307$).

No presente estudo, os animais do grupo TI produziram 193,0% mais TNF- α que os animais do grupo SI ($p < 0,05$) e 123,4% mais que os animais do grupo TC ($p > 0,05$) (Tabela 2) levando a conclusão que a infecção associada ao treinamento físico promove aumento da produção de TNF- α , mesmo na fase crônica da infecção quando foi medida a citocina. A curva de parasitemia foi investigada durante a fase aguda da infecção por *T. cruzi* e o TNF- α , na fase crônica aos 75 dias de infecção, sugerindo que, o aumento significativo desta citocina na fase crônica seja herança da ativação de sua síntese durante a fase aguda da infecção o que justifica a redução da curva de parasitemia na fase aguda. Os animais do grupo SI apresentaram diminuição de 59% nas concentrações de TNF- α em relação aos do grupo SC ($p > 0,05$) (Tabela 2). Essa diminuição é justificada pelo fato do TNF- α ser uma citocina pró-inflamatória, ou seja, produzido na fase aguda da infecção (Abbas et al., 2008). No presente estudo o TNF- α foi investigado na fase crônica da doença aos 75 dias. Isso leva a crer que, o fator de maior contribuição para o aumento do TNF- α nos animais do grupo TI foi o exercício físico e não a infecção por *T. cruzi*. Soares et al. (2010) ao trabalharem com animais treinados e posteriormente infectados com a cepa Y de *T. cruzi* no 13º dia de infecção, observaram aumento significativo na produção de TNF- α em animais sedentários infectados em relação ao seu controle (SI x SC). No entanto, deve ser destacado que as dosagens de Soares et al. (2010) foram realizadas no sobrenadante de cultivo de macrófagos peritoneais e no presente trabalho foram realizadas utilizando plasma.

Tabela 2 – Média e desvio-padrão dos níveis detectados de TNF- α e TGF- β em camundongos suíços, machos, treinado controle (TC), treinado infectado (TI), sedentário controle (SC) e sedentário infectado (SI), infecção com 1300 formas sanguíneas da cepa Y de *T. cruzi* durante 75 dias.

Citocina	Grupo			
	TC	TI	SC	SI
TNF- α	107,0 \pm 51,0	132,0 ^a \pm 89,0	77,0 \pm 46,0	45,0 ^b \pm 34,0
TGF- β	22,0 \pm 11,0	18,0 \pm 10,0	19,0 \pm 9,0	11,6 \pm 6,0

Dados apresentados como média \pm desvio-padrão seguidos de letras diferentes numa mesma linha apresentam diferença significativa entre ($p < 0,05$).

No presente estudo, ao término do treinamento físico (8 semanas), os animais do grupo treinado apresentaram redução do peso corporal de 13,5% em relação ao grupo sedentário ($p < 0,01$) (Figura 1). Esta diminuição de peso pode estar relacionada às maiores concentrações de TNF- α , já que concentrações elevadas desta (2008), ao estudar os efeitos do treinamento físico e o consumo da dieta de citocina levam à caquexia, e consequentemente a perda de peso corporal (Anker; Coats, 1999). Almeida cafeteria após lactação em ratos adultos também observou redução significativa no peso corporal nos animais do grupo treinado controle em relação o grupo sedentário alimentado com uma dieta de cafeteria. Neste estudo, após a infecção (8 semanas e meia de experimento) o peso corporal dos animais dos diferentes grupos manteve-se estável até o término do experimento para os diferentes grupos avaliados ($p = 0.6914$), (Figura 1).

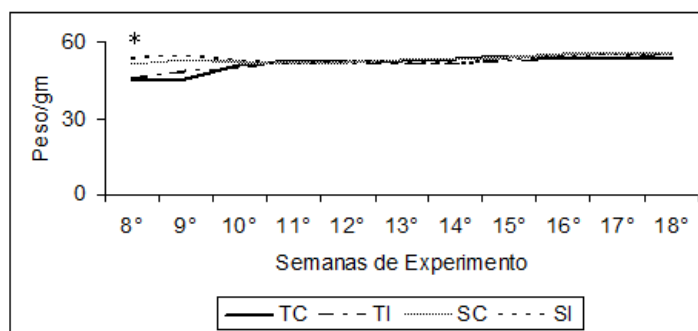


Figura 1 – Peso corporal de camundongos, suíços, machos, 30 dias de vida, durante 11 semanas, Treinado Controle (TC), Treinado Infectado (TI), Sedentário Controle (SC) e Sedentário Infectado (SI). Infecção com 1300 tripomastigotas sanguíneas da cepa Y do *T. cruzi*, durante 74 dias. (*) = (P<0,01).

A estabilidade de peso corporal dos animais após a infecção pode estar relacionada ao TGF- β . Esta citocina inibe a resposta imune do hospedeiro, particularmente as que envolvem macrófagos (Abbas et al., 2008). Conseqüentemente impede a evolução para um quadro de caquexia com perda de peso corporal. No presente estudo, aos 75 dias de infecção embora não significativa, os animais do grupo TI produziram 52,2% mais TGF- β que os animais do grupo SI ($p>0,05$) (Tabela 2), mostrando uma tendência para um aumento significativo da síntese dessa citocina nos animais do grupo TI, enfatizando a importância da prática do exercício físico para a regulação imune e controle da ativação de macrófagos em resposta a infecção por *T. cruzi* no hospedeiro. A infecção promoveu diminuição de 39,0% nas concentrações de TGF- β nos animais do grupo SI em relação aos do grupo SC ($p>0,05$) (Figura 2). Investigações realizadas em fragmentos do miocárdio de pacientes humanos com cardiopatia chagásica crônica e insuficiência cardíaca congestiva, após irem a óbito, mostraram que o TGF- β estava pouco expresso, sugerindo a existência de algum fator inibitório atuando sobre macrófagos, podendo corresponder à imunodepressão devido à presença de *T. cruzi* (Reis et al., 2000). Não foram observados níveis detectáveis para IFN- γ e IL-10, nas condições experimentais avaliadas, ou seja, em animais suíços machos com 160 dias de idade, treinados ou sedentários, infectados (75 dias de infecção) ou não com *T. cruzi*.

4 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi demonstrado que o exercício físico traz benefícios ao hospedeiro com infecção aguda por *T. cruzi*, reduzindo a curva de parasitemia com aumento na produção de TNF- α e TGF- β e manutenção do peso corporal.

REFERÊNCIAS

Abbas, A. K.; Lichtman, A. H.; Pillai, S. **Imunologia celular e molecular**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008: 564.

Almeida, F. N. **Efeitos do treinamento físico aeróbio e do consumo da dieta de cafeteria após a lactação em características morfológicas e metabólicas apresentadas no fenótipo adulto de ratos Wistar**. Maringá. 2008. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2008.

Anker, S. D.; Coats, A. J. S. A syndrome with impaired survival and immune and neuroendocrine activation. **Chest**, v, 115, p. 836-847, 1999.

Coura, J. R.; Dias, J. C. P. Epidemiology control and surveillance of Chagas disease – 100 years after its Discovery. **Mem Inst Oswald Cruz**, v, 104, p. 31-40, 2009.

Machado, F. S.; Martins, G. A.; Aliberti, J. C.; Mestriner, F. L.; Cunha, F. Q.; Silva, J. S. *Trypanosoma cruzi*-infected cardiomyocytes produce chemokines and cytokines that trigger potent nitric oxide-dependent trypanocidal activity. **Circulation**, v, 24, p. 3003-3008, 2000.

Neves, D. P.; De Melo, A. L.; Linardi, P. M.; Vitor, R. W. A. **Parasitologia humana**. 11 edição. São Paulo: Atheneu, 2005.

Reis, M. M.; Higuchi, M. L.; Aiello, V. D.; Benvenuti, L. A. Fatores de crescimento presentes no miocárdio de pacientes com cardiopatia chagásica crônica. **Rev Soc Bras Med Trop**. v, 33, p. 509-518, 2000.

Schebeleski-Soares, C.; Occhi-Soares, R. C.; Franzoi de Moraes, S. M.; De

Oliveira Dalálio, M.; Almeida, F. N.; De Ornelas, T. M. J.; Araújo, S. M. Preinfection aerobic treadmill training improves resistance against *Trypanosoma cruzi* infection in mice. **Appl Physiol Nut Metab**, v, 34, p. 659-665, 2009.

Soares, C.S.; Occhi, R.C.; Carvalho, L.G.L.; Moraes, S.M.F.; Dalálio, M.M.O.; Araújo, S.M. *Produção de fator de necrose tumoral-alfa e peróxido de hidrogênio na infecção pelo Trypanosoma cruzi em camundongos submetidos ao exercício*. **Acta Scientiarum. Health Sciences**. v, 32, p. 57-60, 2010.