

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
LABORATÓRIO DE TRIPANOSSOMATÍDEOS

Moléculas envolvidas na invasão de células de mamíferos por  
*Trypanosoma cruzi*: uma revisão de literatura

Ghabriel Honório da Silva

Uberlândia - MG

Junho - 2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
LABORATÓRIO DE TRIPANOSSOMATÍDEOS

Moléculas envolvidas na invasão de células de mamíferos por  
*Trypanosoma cruzi*: uma revisão de literatura

Trabalho de conclusão de curso, orientado pelo Dr. Cláudio Vieira da Silva, co-orientado pelo Dr. Samuel Cota Teixeira. desenvolvido em formato de artigo, seguindo os padrões da “Revista Médica de Minas Gerais”, no tópico artigo de revisão, apresentado como requisito obrigatório para a conclusão do curso de Graduação em Ciências Biológicas – Licenciatura da Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

Uberlândia –MG

Junho - 2019

## Normas de submissão da revista

Trabalho desenvolvido seguindo os padrões constados em:

Normas disponíveis em : <http://www.rmmg.org/conteudo/9>

“Os manuscritos devem ter a seguinte estrutura e ordem:

- Nome(s) completo do(s) autor(es) acompanhado(s) de sua(s) respectivas(s) afiliação(ões), indicação da instituição onde o trabalho foi realizado, autor correspondente: nome e endereço eletrônico;

Obs. A instituição deverá ser indicada com até 3 níveis hierárquicos – do maior para o menor, e a indicação cidade, estado e país.

Ex.:

Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG, Faculdade de Medicina, Departamento de Cirurgia. Belo Horizonte, MG – Brasil.

- Título em português e inglês;
- Indicação da seção na qual o trabalho deverá ser publicado;
- Palavras-chave e Keywords (três a dez), de acordo com Descritores em Ciências da Saúde-DECS da BIREME/OPAS/OMS versão do Medical Subject Headings (MeSH) do PUBMED) da National Library of Medicine, (<http://decs.bvs.br/>);
- Resumo (em formato semi-estruturado para os artigos originais) do trabalho em português, sem exceder o limite de 250 palavras. O resumo no formato semi-estruturado deverá ser adotado para os artigos da categoria “artigos originais”, compreendendo, obrigatoriamente, as seguintes partes, cada uma das quais devidamente indicada pelo subtítulo respectivo: Introdução; Objetivos; Métodos; Resultados; Conclusões.
- Abstract (resumo em língua inglesa), consistindo na correta versão do resumo para aquela língua;
- TEXTO estruturado de acordo com a tipologia do trabalho:
  - Artigo Original: Introdução e literatura, Material ou Casuística, Métodos, Resultados, Discussão e Conclusões;
  - Artigos de Revisão: Introdução, revisão da literatura, discussão ou comentários, conclusão;
  - Atualização Terapêutica: Introdução, revisão da literatura, discussão ou comentários, conclusão;
  - Relato de Caso: Introdução, descrição do caso, discussão, conclusão;
  - Educação Médica: Introdução, desenvolvimento livre, conclusão;
  - História da Medicina: Introdução, desenvolvimento livre; conclusão;
  - Comentários, Ponto de Vista: Introdução, desenvolvimento livre; conclusão;
  - Imagem: Apresentação da imagem, breve descrição e discussão do registro.
- **Agradecimentos** (opcional);
- **Referências** (de acordo com os “*Uniform Requirements for Manuscripts (URM) do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE)*”- Estilo Vancouver, disponível em:

português: <<http://www.bu.ufsc.br/ccsm/vancouver.html>>  
espanhol: <<http://www.enfermeriaencardiologia.com/formacion/vancouver.htm>>  
inglês: <[http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)>);

• **Ilustrações:** Tabelas e Figuras (conforme orientações do sistema de submissão SGP)“

Fonte: <http://www.rmmg.org/conteudo/9> Acesso em 26/06/2019

# Moléculas envolvidas na invasão de células de mamíferos por *Trypanosoma cruzi*: uma revisão de literatura

## Molecules involved in mammalian cell invasion by *Trypanosoma cruzi*: a literature overview

Ghabriel Honório da Silva<sup>1</sup>, Samuel Cota Teixeira<sup>1</sup>, Cláudio Vieira da Silva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>-Laboratório de Tripanossomatídeos (LATRI), Instituto de Ciências Biomédicas (ICBIM), Universidade Federal de Uberlândia (UFU) – Uberlândia – MG – Brasil

Autor correspondente – Ghabriel Honório da Silva ([ghabrielhonorios@gmail.com](mailto:ghabrielhonorios@gmail.com))

Seção: Artigo de Revisão

### Resumo

*Trypanosoma cruzi* é um parasita descrito como agente etiológico da doença de Chagas. Possui em seu ciclo evolutivo três fases distintas, necessitando de dois hospedeiros (um vertebrado e um invertebrado) para sua biologia básica. Por isso é caracterizado como um protozoário de ciclo de vida hetorexênico. A doença de Chagas é uma doença negligenciada descrita pelo pesquisador brasileiro Carlos Chagas no começo do século XX representando atualmente um problema de saúde pública alarmante. O parasita apresenta uma biologia de infecção e invasão celular que envolve diversas moléculas e estruturas, como proteínas e carboidratos, que atuam ativando uma série de vias e mecanismos intracelulares. Glicoproteínas (gp90, gp83, gp35/50e etc.) açúcares e proteínas como a P21 são exemplos de fatores que corroboram para a susceptibilidade da invasão da célula hospedeira por *T. cruzi*, atuando especificamente em cada estágio evolutiva do parasita. Entender e conhecer a maquinaria biológica envolvida no processo de invasão celular por tal parasita é fundamental para se pensar futuros métodos profiláticos e de tratamentos para regulação da doença e controle do parasita.

**Palavras-chave:** *Trypanosoma cruzi*, doença de Chagas; protozoário; invasão celular.

### Abstract

*Trypanosoma cruzi* is a parasite described as the etiologic agent of Chagas'

disease. It has in its evolutionary cycle three distinct phases, needing two hosts for its basic biology. Hence it is presented as a protozoan of the heteroxenic life cycle. Chagas disease is a neglected illness described by Carlos Chagas, a Brazilian researcher at the beginning of the 20th century which until today presents, this disease currently representing an alarming public health problem. The parasite presents a biological infection and cellular invasion involving several molecules and structures, activating a series of pathways and intracellular mechanisms. Glycoproteins (gp90, gp83, gp35/50e etc.) , sugars and proteins as a P21 are examples of factors that corroborate a susceptibility of host cell invasion by *T. cruzi*. Understanding and knowing the biological machinery involved in the process of cellular invasion by such parasite is fundamental for thinking about future prophylactic methods and treatments for disease regulation and parasite control.

**Keywords:** *Trypanosoma cruzi*, Chagas disease; protozoan, cell invasion

## **Introdução**

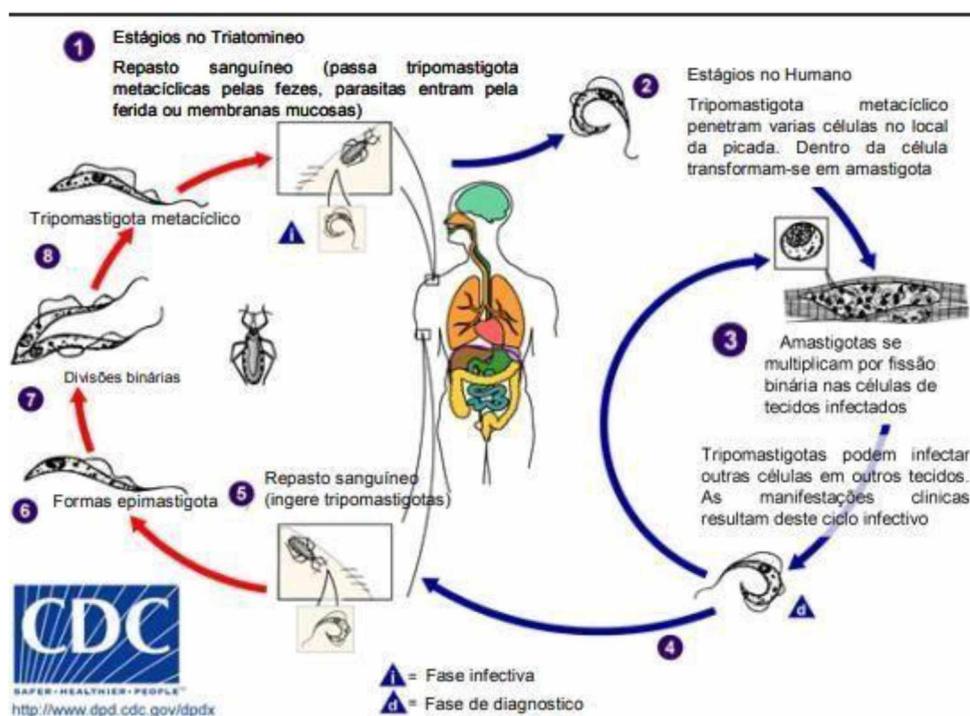
### **1 - *Trypanosoma cruzi***

Pertencente a ordem Kinetoplastida, inserido na família Trypanosomatidae, o protozoário *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), é um organismo unicelular flagelado possuinte de um ciclo de vida complexo, sendo caracterizado por possuir três formas evolutivas distintas, definidas de acordo com a fase do ciclo em que tal se encontra. Apresenta grande importância médica e científica por ser o agente etiológico da doença de Chagas [1,2]. O *T. cruzi*, é caracterizado como um dos mais bem-sucedidos parasitos intracelulares descritos, visto que o mesmo apresenta uma potente virulência e potencial de infecção em diferentes tipos celulares, além disso este parasita chama atenção por apresentar altos índices de prevalência na natureza [3,4,5].

*T. cruzi* apresenta um ciclo de vida heteroxênico, isto é, apresenta tanto um hospedeiro vertebrado, mamíferos em geral, incluindo o homem, quanto um hospedeiro invertebrado, insetos hemípteros da Família Reduviidae e subfamília Triatominae, caracterizados como vetores [4,6]. Na forma tripomastigota o parasita não possui potencial replicativo, e esta é caracterizada como a forma infectante extracelular, sendo identificada em ambos os hospedeiros do parasito, chama-se

tripomastigotas metacíclicos, o parasita que infecta inicialmente o hospedeiro vertebrado, e de tripomastigotas sanguíneos, os parasitas liberados na corrente sanguínea após replicação interna na célula do hospedeiro vertebrado [5,6,7]. A forma amastigota, tipicamente caracterizada como infectante intracelular, possui potencial replicativo estando presente no hospedeiro vertebrado. A forma epimastigota é encontrada no trato digestivo dos vetores, possui potencial replicativo e é caracterizada como não infectante ao humano [8,9,10].

A forma clássica, e mais comum, descrita para infecção por *T. cruzi* é a vetorial, que decorre em consequência do processo de repasto sanguíneo de Triatomíneos hematófagos, (Figura 1) [11]. As outras formas de infecção por *T. cruzi* são por via congênita, por transfusão de sangue e transplante de órgãos. Há ainda a infecção por via oral, que chama atenção por ser responsável pelo aumento do número de casos e de novas ocorrências de surtos de doença de Chagas, nessa via, o parasita é ingerido por meio do consumo de alimentos mal higienizados ou manipulados da maneira incorreta. Exemplos de alimentos comumente citados como potenciais fontes de contaminação são o açaí e a cana de açúcar [2,12,11,13].



**Figura 1:** Fluxograma esquemático do ciclo de transmissão de *Trypanosoma cruzi*. Representado pelas setas azuis (2,3 e 4) estão os estágios decorridos no hospedeiro vertebrado, enquanto que os apontados em vermelho se decorrem no organismo hospedeiro invertebrado (1,8,7,6 e 5). Fonte: <https://www.cdc.gov/dpdx/>

## 2 - Doença de Chagas

A doença de Chagas, também conhecida como Tripanossomíase americana, é considerada uma doença tropical negligenciada, descoberta pelo pesquisador brasileiro Carlos Chagas em 1909, essa enfermidade afeta principalmente a América Latina, onde tal é considerada endêmica [14,15]. Estima-se que atualmente, segundo a Organização Mundial da Saúde, hajam no mundo aproximadamente 8 milhões de pessoas infectadas, e que anualmente a doença leva morte mais de 10000 pacientes [15,16]. Outra estatística que chama atenção, é o fato de aproximadamente 40 milhões de pessoas viverem sob risco de infecção, assim um grande problema de saúde pública [15].

Em relação a realidade da doença de Chagas no Brasil, há atualmente novos registros de surtos de infecção por *T. cruzi*, ocorridos nas últimas décadas em todas as regiões do país [17,18]. Índices divulgados em 2016 pela Divisão de Vigilância em Saúde da Secretaria de Estado de Saúde do Acre (Sesacre), apontaram dados alarmantes, que demonstraram que no ano anterior (2015), em 7 meses, houve no estado um aumento superior a 200% nos registros de novos casos confirmados de doença de Chagas [19].

A doença de Chagas manifesta-se em duas fases: a fase aguda, e a fase crônica [20]. A fase aguda, se dá em subsequência da infecção, e é caracterizada por apresentar uma elevada parasitemia, que pode se mostra presente por um intervalo de 40 a 60 dias, acarretando mortalidade do paciente em aproximadamente 10% dos casos. Apresenta uma sintomatologia moderada e atípica, apresentando sintomas que se assemelham a diversas outras infecções, e conseqüentemente a infecção não é comumente diagnosticada neste estágio [15,21]. Na fase aguda da doença de Chagas, utiliza-se como tratamento o benzonidazol, fármaco que, ainda que apresente relativa eficácia, mostra-se um potencial agente da atividade mutagênica e pode acarretar a produção de reações adversas, podendo apresentar toxicidade. O abandono de tratamento, devido as contraindicações e efeitos colaterais das fórmulas utilizadas disso, e a descrição de novas cepas de *T. cruzi* resistentes ao benzonidazol, resultam na persistência do parasita, levando a infecção à fase crônica [22,21].

A fase crônica, difere-se da fase aguda por apresentar baixos níveis de parasitemia. Esôfago, coração, o cólon e o sistema nervoso periférico (gânglios e nervos), são exemplos de órgãos atingidos durante tal fase da patologia [22]. Nessa fase

a infecção, inicialmente, pode não apresentar sintomatologia, caracterizando-se então como assintomática por um intervalo de tempo que pode perdurar por vários anos. Posteriormente é evidenciado por meio do dano dos órgãos supracitados, a ação da infecção no organismo, onde o indivíduo por apresentar problemas como complicações cardíacas, megaesôfago, megacólon e lesões no sistema nervoso periférico, disfunções que podem acarretar na morte súbita do paciente [15]. Não há descritos ainda, tratamentos efetivos de combate a infecção, visando a eliminação do parasita, durante a fase crônica, havendo apenas tratamentos e medicações afim de solucionar os problemas acarretados devido a infecção, como as supracitadas [2,22].

A patologia acarretada pelo parasita, a doença de Chagas, apresenta variabilidade geográfica ao se comparar pontos específicos como prevalência de forma clínica e morbidade. Essas variações são presentes por exemplo ao se analisar complicações digestivas acarretadas pela infecção por *T. cruzi*, presentes no Brasil e no Chile, porém tais consequências não são presentes em infecções analisadas na Venezuela [15]. Tais fatores indicam então que o parasita apresenta variação genéticas, adaptativas e em relação a variâncias imunológicas da população, demonstrando assim um polimorfismo em *Trypanosoma cruzi* [17,24].

Atualmente, divide-se a espécie em 7 unidades discretas de tipagem (*Discrete Typing Units*- DTUs) ou genótipos, *T. cruzi* I a VI e Tcbat, de acordo com o padrão genético, bioquímico e presença de marcadores biológicos. As subdivisões apresentam diferenciação em relação aos níveis de parasitemia, tropismo celular, patogenicidade, interação com células e resposta imune do hospedeiro [25,26,27]. Descreve-se na literatura que TcI, TcII, Tc V e TcVI são os principais agentes da doença de Chagas humana nas Américas. O genótipo TcI, é comumente representado pela “cepa G”, possuindo alta infectividade em análises *in vitro*, não induzindo infecção patente em experimentação *in vivo*. Os genótipos TcII e TcVI, exemplificados respectivamente pelas cepas Y e CL, possuem maior infectividade *in vivo* [26,28].

O presente artigo, visa revisar e elencar quais são as principais moléculas e mecanismos alternativos, envolvidas nos processos de invasão celular, em todas as fases evolutivas do parasita *Trypanosoma cruzi*, no hospedeiro vertebrado, sendo elas, as formas: amastigota e tripomastigotas (metacíclicos e sanguíneos).

### 3 - Invasão celular

O processo de interação patógeno-hospedeiro envolve diversos processos, dentre eles elenca-se a ligação e o reconhecimento do parasita à superfície da célula hospedeira, desencadeando, simultaneamente, uma cascata de sinalização que culmina na internalização celular [29,30,31].

A susceptibilidade do processo de invasão e infecção celular do patógeno, é dependente inicialmente de um resultado positivo do parasita ao vencimento de barreiras impostas pelo hospedeiro, como o sistema complemento, os anticorpos e o processo de ingestão fagocítica, processos estes que são dependentes do reconhecimento do parasita como parte estranha ao organismo [32].

Indica-se atualmente na literatura, que moléculas de superfície do parasita, ao entrarem em interação com moléculas situadas nas células hospedeiras, são responsáveis pelos processos de interação e invasão. Exemplos dessas proteínas são: mucinas, transialidases, polissacarídeos, glicoproteínas e lipídios ancorados ao fosfatidilinositol na membrana, além de outras proteínas integrais da membrana do parasito [34]. 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 [35].

Classicamente, a interação entre células hospedeiras e *T. cruzi* foi dividida em duas fases: adesão (reconhecimento de moléculas específicas do parasito pela célula hospedeira) e internalização. Aponta-se atualmente então, que a entrada do *T. cruzi* na célula hospedeira pode ocorrer por três mecanismos distintos [6].

A primeira via é caracterizada como a via dependente de lisossomos, decorrente em aproximadamente 20% dos processos de internalização. Este mecanismo inicia-se com a sinalização do aumento transitório e localizado dos níveis de Ca<sup>+</sup>, por meio de um estímulo realizado pelas moléculas, e pelo próprio parasita na membrana da célula, ocasionando assim estímulos para o recrutamento e fusão de lisossomos no local de adesão do parasito, onde a exocitose localizada de lisossomos, fornecendo assim condições para o estímulo na membrana para a formação de um vacúolo parasitóforo ácido [30].

A segunda maneira descrita se dá pela via dependente de actina, na qual os parasitas, durante o processo de adesão à célula hospedeira, proporciona mudanças e na estruturação do citoesqueleto de actina da célula hospedeira, ocasionando assim a polimerização deste, decorrendo assim a internalização do microorganismo, por meio de uma expansão da membrana plasmática culminante no desenvolvimento de um vacúolo parasitóforo, com fusão de lisossomos intracelulares [36].

Outro processo de internalização relatado é a via independente de lisossomos, na qual o *T. cruzi* é internalizado nas células a partir de invaginações da membrana plasmática que acumulam PIP3 (*phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate*), produto da ativação de PI3K, acarretando a formação de um endossomo envolvendo o parasita provocando assim a internalização de tal [30,6].

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 [36,37]. No interior do vacúolo, um processo de diferenciação do parasito é iniciado, e estes começam a sair para o citoplasma da célula hospedeira após 8 horas de invasão. Depois de cerca de 24 horas do momento de internalização, as formas amastigotas totalmente diferenciadas começam a se dividir no citoplasma uma vez a cada 12 horas por 3 a 5 dias até a ruptura da célula e liberação de parasitos [38].

#### **4 - Estágios evolutivos de *Trypanosoma cruzi* e a invasão celular**

Como supracitado, *Trypanosoma cruzi* é um parasita que apresenta em seu ciclo de vida formas evolutivas distintas, sendo elas as formas: amastigota, epimastigota e tripomastigota, essa que apresenta distinção entre duas etapas, sendo ela dividida em tripomastigotas metacíclicos (T.M.) e tripomastigotas sanguíneos, que são experimentalmente também conhecidos como tripomastigotas de cultura celular (T.C.T) [4].

De maneira geral, pode-se elencar que as mucinas atuam em todas as formas de

*T. cruzi*, sendo elas proteínas localizadas na superfície do *T. cruzi*, que corroboram ativamente auxiliando na invasão da célula hospedeira, atuam também na proteção do parasito e estabelecimento da infecção. Reforça-se a importância destas moléculas,

pelo fato de estarem envolvidos nesse processo cerca de 850 genes codificadores para mucinas, representando assim 1% do genoma do parasito e 6% de todo o genoma traduzido de *T. cruzi* [4].

Aponta-se que mucinas de *T. cruzi* (TcMUC) provindas de culturas de tripomastigotas metacíclicos, ligam-se a linhagens celulares de mamíferos e anticorpos direcionados aos seus carboidratos ou peptídeos que podem inibir a invasão celular do hospedeiro. Além disso, as mucinas podem mobilizar  $\text{Ca}^{+2}$  nas células do hospedeiro, o que está associado com a invasão do parasito [34].

Prolil-oligopeptidase (POP) (Figura 2), é uma proteína que também corrobora nos processos de invasão celular do parasito, possuindo especificidade para colágeno humano tipo I e IV e foi identificada em extratos celulares de todas as formas evolutivas de *T. cruzi* [39,40].

Em contraponto a presença da mucinas e a POP em todos as formas, há modificações específicas em cada um dos estágios, fazendo assim, com que cada forma evolutiva apresente mecanismos adaptados para o processo de invasão celular à célula hospedeira, no caso do hospedeiro vertebrado, as adaptações se dão na fase amastigota e na tripomastigota, tendo especificações em TM e TCT [41].

#### **4.1- Tripomastigotas Metacíclicos**

Chama-se de metacíclicos os parasitas tripomastigotas recentes no organismo, ou seja, os primários, provindos diretamente da infecção inicial, tradicionalmente relacionadas ao repasto sanguíneo do inseto vetor. TM normalmente apresenta alto grau de virulência, porém esse fator é relativo ao se considerar a diferenciação das cepas [42].

A glicoproteína 82 (gp82), é uma molécula pertencente à superfamília das trans-sialidases/gp85 e está presente especificamente na superfície de tripomastigotas de *T. cruzi*, mais especificamente os metacíclicos (TM) [42,43]. Indicativos experimentais apontam a gp82 como molécula ativa em cepas de *T. cruzi* com elevado grau de virulência, durante o processo de invasão nas células hospedeiras. Essas moléculas apresentam diversos mecanismos de adesão e reconhecimento, como exemplo a gp28 liga-se à mucina gástrica, uma propriedade de suma relevância para o

curso da infecção por *T. cruzi* pela via oral, em contra partida apresenta deficiência na afinidade por componentes como laminina, heparan sulfato e colágeno [45].

Ao se ligarem as células alvo, estas moléculas ativam vias de sinalização intracelular acarretando assim o mecanismo ativador da mobilização de  $\text{Ca}^{+}$ , que resulta na internalização do parasito. Este processo ocorre por meio da ruptura do citoesqueleto de actina dependente de  $\text{Ca}^{+}$  e da mobilização de lisossomos que culmina em exocitose, resultando assim na internalização dos TM's [45,46].

Os lisossomos desempenham um papel crítico na invasão dos TM's mediados pela atuação da gp82. Condições ideais para o aumento da biogênese e o espalhamento do lisossomo foram encontradas em zonas de atuação específica da gp82, demonstrando assim uma clara atuação desta glicoproteína no aumento da internalização de tripomastigostas metacíclicos, enquanto, a atuação de outros fatores que também estimulam esse aumento de biogênese, acumulados na região perinuclear, porém com a ausência da atuação da gp82, tiveram um efeito oposto, não potencializando a internalização [47].

Estudos recentes apontam que fatores importantes da célula hospedeira são de suma importância para o processo de internalização de TM permeados pela atuação da gp82, apontando que por exemplo, a invasão por *T. cruzi* requer a atuação e presença do LAMP-2 da célula hospedeira, sendo desenvolvida de forma não dependente do mecanismo de reparo da membrana plasmática da célula, já que a gp82 liga-se ao LAMP- 2 de forma direta mediada pelos receptores da superfície celular [48].

A gp30 (Figura 2) é uma outra glicoproteína da forma metacíclica, sendo expressa em cepas deficientes em gp82, atuando de forma semelhante, também provocando a ativação de vias dependentes de  $\text{Ca}^{+}$  (CORDERO, 2019). Assim, acredita-se que estas duas glicoproteínas sejam reconhecidas pelo mesmo receptor [45,49].

A molécula de superfície gp35/50 (Figura 2) expressa por cepas de *T. cruzi*, na fase TM, com baixa virulência, são glicoproteínas semelhantes a mucinas, altamente glicolisadas, enriquecidas em ácido siálico e resíduos de galactose, que interagem com as células através dos resíduos de carboidratos. [7]. A ligação da gp35/50 à célula hospedeira provoca a mobilização de  $\text{Ca}^{+}$  intracelular, mas de forma

bem menor do que ocorre na ligação das gp82 e 30. Assim, gp35/50 medeia a invasão pelo recrutamento de F-actina [49].

Relaciona-se ainda outra glicoproteína importante durante o curso da invasão por TM, sendo ela a gp90, que possui um funcionamento diferente das outras, já que atua como um regulador negativo da infectividade do parasito (DE PABLOS TORRÓ, 2018). Índícios apontam que a expressão de altos níveis de gp90 está invariavelmente relacionada a diminuição do potencial de invasão de células do hospedeiro por parte do parasita [50]. Ao contrário da gp82 e gp30, a gp90 não ativa os processos intracelulares de carreamento de Ca<sup>+</sup> após sua ligação na célula alvo [51].

Descreve-se ainda a atuação da glicoproteína 160 (gp160), que é expressa por *T. cruzi* de forma homóloga à proteína de regulação do sistema complemento do hospedeiro (DAF, do inglês *Decay Accelerating Factor*). Aponta-se que a gp160 pode ser responsável pela resistência de formas tripomastigotas metacíclicas ao sistema complemento, já que a DAF e a GP160 podem ligar-se às subunidades C3b e C4b, atuando assim inibindo a cascata de ativação do sistema complemento [52].

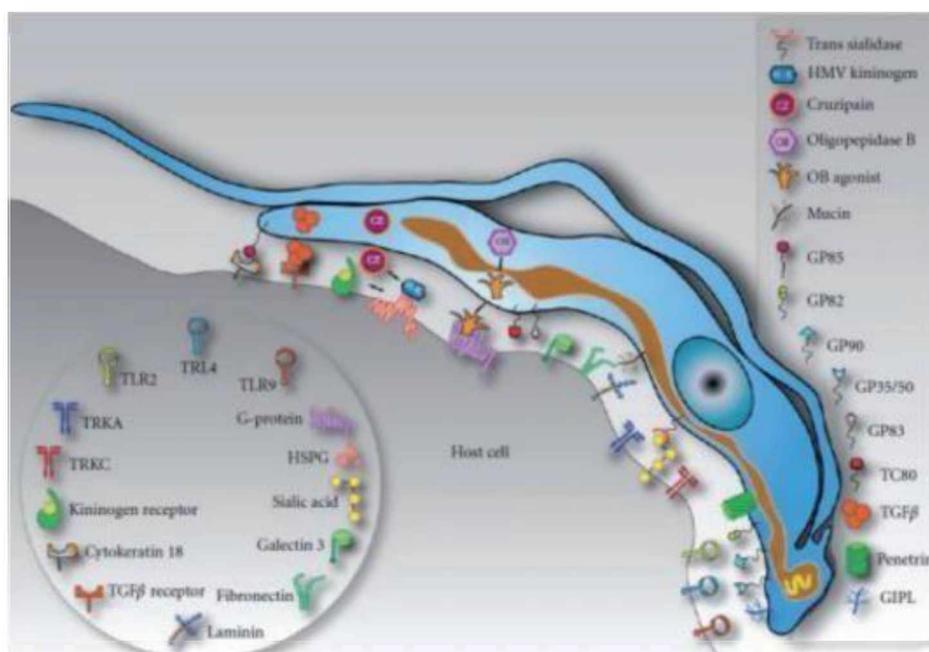
## **4.2 - Tripomastigotas Sanguíneos ou Tripomastigotas de Cultura de Tecidos (TCT)**

Considera-se como tripomastigotas sanguíneos, os tripomastigotas liberados na corrente sanguínea posteriormente a replicação interna do parasito na célula hospedeiras, ou seja, os parasitas secundários, que já passaram pelos processos internos do curso interno da infecção do *T. cruzi*. Estes podem também, comumente apresentarem a nomenclatura de tripomastigotas de cultura de tecidos (TCT), nome dado, já que em experimentação *in vitro*, tais parasitas são provenientes de cultura de tecidos e células [4].

Na fase de TCT, aponta-se que a prolil-oligopeptidase/Tc80 (POP/Tc80) apresenta relação efetiva na invasão do parasita na célula do hospedeiro. Estudos com inibidores de POP/Tc80 apresentaram resultados que bloquearam a entrada de TCT's em células mamíferas não fagocíticas, mostrando assim que a atividade hidrolítica e a habilidade dos TCT's se ligar à laminina, fibronectina e colágeno podem ser importantes para o trânsito do parasito através da matriz extracelular, contrapondo

assim a atuação da forma TM mediada por gp82, que apresenta pouca afinidade ao se ligar com esses fatores, apontando assim o efeito da diferenciação de TM em TCT, posterior ao decorrer da fase intracelular do curso natural da infecção do parasita [40,42].

Aponta-se ainda nesse estágio, a atuação de uma proteína que desempenha papel importante na patogênese, a chamada: cruzipaina, sendo essa a maior protease encontrada em *T. cruzi*, expressa em todas as formas de desenvolvimento do parasito, porém tendo papel efetivo descrito mais claro e objetivamente em TCT's [4,53]. O envolvimento dessa proteína na invasão celular e o desenvolvimento intracelular foram comprovados pelo uso de derivados diazometanos, uma classe de inibidores irreversíveis das cisteíno proteases, demonstrando a importância dessa proteína para a sobrevivência do parasito, durante o processo de invasão celular [53].



**Figura 2:** Modelo esquemático apontando as estruturas e moléculas envolvidos na interação de

*T. cruzi*, em forma tripomastigota (TM e TCT) e a célula hospedeira<sup>[6]</sup>.

### 4.3 - Amastigotas

Aponta-se como amastigotas, os parasitas que apresentam estrutura circular, com redução quase que por completo do flagelo e reestruturação interna quase completa, contidos geralmente no interior das células [54,55]. Devido a essa localização

onde estes são comumente encontrados, essa fase é considerada como a fase intracelular de *Trypanosoma cruzi*, porém estudos apontam que esse padrão não é obrigatório, já sendo descritas formas amastigotas extracelulares <sup>[55,56]</sup>.

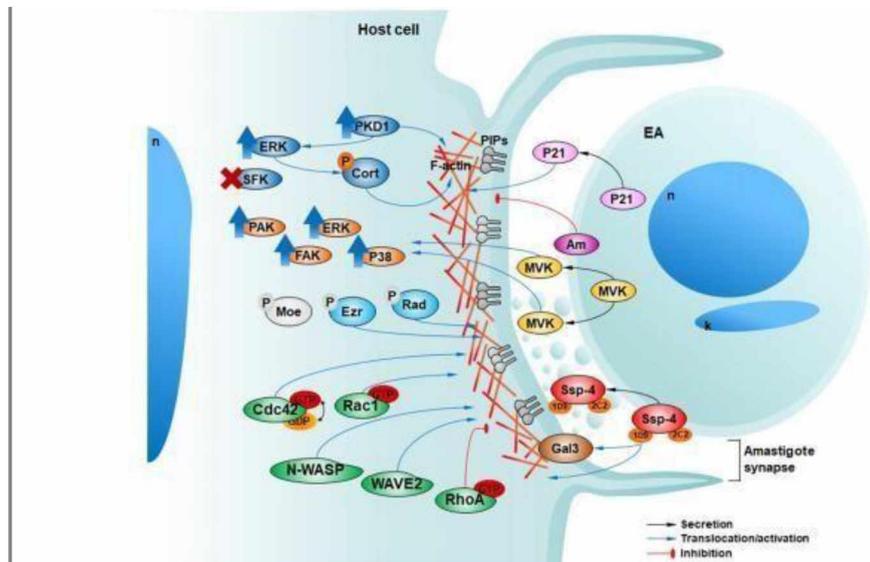
Inicialmente, deve-se elencar os mecanismos de escape dos amastigotas as ações do vacúolo parasitoforo, onde estes estão inseridos na fase inicial de seu surgimento no interior da célula, logo após a conversão dos tripomastigotas (TCT ou TM). Indica-se que o principal mecanismo encontrado pelo parasita para o rompimento do VP, envolve a molécula de TC-TOX, que é uma hemolisina com ação lítica, secretada pelo parasito e ativada em pH baixo <sup>[55]</sup>. Além da TC-TOX, evidências apontam outra molécula de superfície secretada pelo parasito, a enzima neuraminidase/transsialidase (TS) também participa do processo de rompimento dos VPs pela ação direta em proteínas lisossomais (LAMPs) <sup>[55]</sup>.

Estudos demonstram a relação das formas amastigotas com a regulação do citoesqueleto de actina (Figura 3), correlacionando os amastigotas extracelulares, os chamados AE, com a interação imune da célula hospedeira <sup>[54,56]</sup>. Na invasão completa dos amastigotas extracelulares, é descrito que epítomos de carboidrato expressos na superfície do parasita desenvolvem papel na entrada do parasita, provavelmente nas etapas iniciais da fixação, além disso uma proteína de 21 kDa expressa em todos os estágios de desenvolvimento, é apontada como fator regulador positivo para a invasão celular por AE's <sup>[58]</sup>. Contrariando a P21, a amastina, apresenta papel regulatório negativo na invasão de AE's. <sup>[59]</sup>.

Ssp-4 (proteína de superfície específica do estágio 4) (Figura 3) é uma glicoproteína de superfície ancorada, identificado em amastigotas intra e extracelulares, estudos apontam que essa molécula atua de forma a regular potencializando o processo de invasão celular de amastigotas extracelulares, possuindo diversos locais de glicosilação na membrana da célula hospedeira <sup>[57]</sup>.

Aponta-se que outros mecanismos para internalização de formas amastigotas são, a mobilização de fosfoinosíto hospedeiros juntamente com actina em um mecanismo semelhante à fagocitose <sup>[59]</sup>. Ativação de PKD1 e ERK (Figura 3), sobre a interação AE-Célula hospedeira, com a fosforilação de cortactina e PKD1 acarretando na invasão dos AE's. O mevalonato quinase (TcMVK) é um composto secretado pelos AEs que atua de forma a promover a invasão e a ativação de diversas proteínas hospedeiras relacionadas à actina. Descreve-se ainda que os AEs podem liberar

proteínas associadas a microvesículas no meio confinado da sinapse amastigota [60].



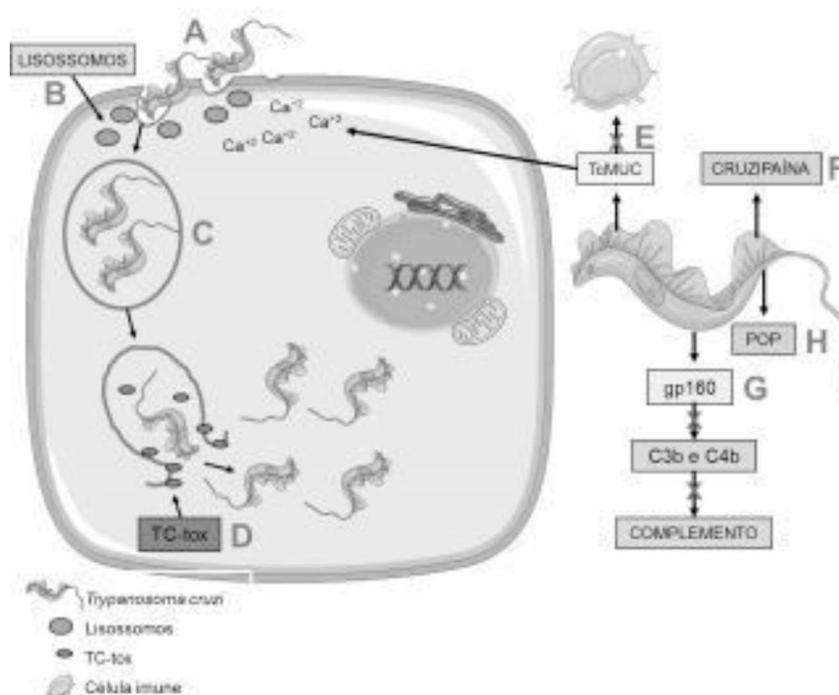
**Figura 3:** Modelo esquemático apontando as moléculas envolvidas no curso da infecção por formas amastigotas extracelulares de *T. cruzi*, demonstrando a via de interação com o citoesqueleto de actina, durante a interação com a célula hospedeira. [57].

## 5 - Rompimento de vacúolo parasitoforo, regulação interna e metaciclogênese

Após a finalização primária do processo de invasão da célula hospedeira, tem-se os tripomastigotas internalizados em compartimentos ligados a membrana (vesículas), descritos na literatura como vacúolos parasitoforo (VP) (Figura 4), a membrana do VP é derivada de lisossomos e contém no seu interior, ácidos líticos potencialmente destrutivos para o parasito. Dessa maneira, a evasão desse compartimento para o meio intracelular torna-se essencial para o desenvolvimento do ciclo do parasita, já que os parasitas precisam evadir de tal VP, para serem convertidos ao estágio de amastigotas e seguirem o curso decorrente do ciclo de vida durante a invasão [57].

Após aproximadamente 6 ciclos de replicação binária no citoplasma, os amastigotas são diferenciados em tripomastigotas sanguíneos e então liberados no citosol, decorrentes da ruptura da membrana celular, estando aptos a infectarem novas células [59].

Descreve-se ainda, que há atuação também do sistema ubiquitina-proteossomo, que é responsável por diversas funções celulares no *T. cruzi*, dentre elas o controle da progressão do ciclo celular, transcrição estágio-específica de genes, processamento antigênico, além da regulação e secreção de proteínas ancoradas na membrana. Aponta-se que nesse sistema, quando há presença de lactocistina, um inibidor da atividade proteossômica, há a inibição, impedindo assim a diferenciação das formas celulares na metaciclo-gênese e crescimento do parasito. Esses resultados demonstram a importância desse sistema para o crescimento do parasito e sua diferenciação no hospedeiro [61].



**Figura 4:** Mecanismos específicos de ação durante a invasão por *Trypanosoma cruzi*, pela via dependente de lisossomos. (A) Invasão dos tripomastigotas; (B) Recrutamento de lisossomos, formação da membrana do vacúolo parasitóforo; (C) Desenvolvimento do vacúolo parasitóforo; (D) TC-tox, poros na membrana do vacúolo parasitóforo; (E) Mucinas (TcMUC), atuantes na evasão imune e mobilização de  $Ca^{+2}$ ; (F) Cruzipaina, atuante na invasão e desenvolvimento intracelular; (G) glicoproteína 160 (GP160), inibição do sistema complemento. (H) Prolil-oligopeptidase (POP), invasão [35].

## 6 - Relação entre invasão celular de *T. cruzi* e o citoesqueleto de actina

O citoesqueleto de actina tem fundamental importância no funcionamento celular durante o processo fagocítico e invasão celular por diferentes patógenos intracelulares [62]. Devido a esta relação entre o citoesqueleto e a invasão celular, alguns agentes patogênicos desenvolveram mecanismos de virulências que os, ofertaram potencial para o desempenho de interferência na dinâmica do citoesqueleto de actina da célula na finalidade de induzir sua internalização [62,63].

Exemplos de patógenos que desenvolveram esse processo alternativo, são as bactérias *Listaria* e *Yersinia*, que se ligam a proteínas de adesão da célula hospedeira induzindo a polimerização de actina e sua entrada na célula [63]. Formas amastigotas extracelulares de *T. cruzi* induzem a agregação de filamentos de actina no sítio de adesão à célula hospedeira, formando estruturas semelhantes a taças as quais levam a internalização do parasito, mostrando que tais formas dependem da integridade do citoesqueleto de actina para obterem sucesso na invasão celular [7].

Estudos indicam que é possível se verificar a importância de algumas proteínas associadas à polimerização de actina durante a infecção in vitro por amastigotas extracelulares de *T. cruzi*. A polimerização do citoesqueleto de actina mediada por ARF-6 (ADP- ribosylation factor-6), que é uma molécula alternativa presente em em formas inefetivas do parasita, a mediação via Anexina A2 e N-WASP exerce também papel fundamental na invasão celular, enquanto que a ausência das mesmas proporciona um ambiente favorável à multiplicação intracelular de amastigotas [61].

Acredita-se então, que a polimerização do citoesqueleto de actina exerce uma função de regulação da replicação do parasita interno a célula e, conseqüentemente, no desenvolvimento da doença. Além disso, é possível verificar que a forma recombinante da proteína P21 (rP21) de *T. cruzi*, induz a polimerização da actina cortical em macrófagos peritoneais inflamatórios de *Calomys callosus*, bem como de camundongos C57BL/6 [64].

## **7.0 - Conclusão**

*Trypanosoma cruzi* apresenta diversas formas e mecanismos para atingir a susceptibilidade de seu curso de invasão e infecção. O parasita apresenta uma série de mecanismos passivos e ativos de atuação, tendo como alternativas o uso de diversas moléculas associadas, como proteínas, açúcares e fatores mecânicos como polimerização de citoesqueleto e alternativas de evasão ao sistema imune da célula hospedeira.

É vasta a lista de estudos e pesquisas desenvolvidas com o potencial de invasão celular apresentados por *T. cruzi*. Mas pode-se considerar que ainda é grande a relação de moléculas e mecanismos ainda desconhecidos que corroboram na atuação deste parasita durante seus processos de adesão e internalização. Muito ainda há para se descobrir, analisar e descrever a respeito dos processos biológicos de invasão celular desenvolvidos por *T. cruzi*.

Indubitavelmente os registros e estudos a parte da temática relacionados a esses mecanismos de invasão do parasito são de suma importância, visto que conhecendo efetivamente a biologia, estruturação e mecanismos completos de atuação de *Trypanosoma cruzi*, pode-se ter material suficiente para a obtenção de novos fármacos e compostos e inibidores relacionados ao tratamento e controle de infecção, desenvolvendo assim, maneiras de possíveis imunizações e fatores de impedimento da instalação do parasita, corroborando assim para controle e erradicação da doença de Chagas.

## 8.0- Referências bibliográficas

[1] - Walker, D. M., Oghumu, S., Gupta, G., McGwire, B. S., Drew, M. E., & Satoskar, A. R. (2014). Mechanisms of cellular invasion by intracellular parasites. *Cellular and molecular life sciences*, 71(7), 1245-1263.

[2] - Rassi Jr, A., Rassi, A., & Marin-Neto, J. A. (2010). Chagas disease. *The Lancet*, 375(9723), 1388-1402.

[3] - Nunes, M. C. P., Dones, W., Morillo, C. A., Encina, J. J., & Ribeiro, A. L. (2013). Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. *Journal of the American College of Cardiology*, 62(9), 767-776.

[4] - Patino, L. H., & Ramirez, J. D. (2017). RNA-seq in kinetoplastids: A powerful tool for the understanding of the biology and host-pathogen interactions. *Infection, Genetics and Evolution*, 49, 273-282.

[5] - Weisbarth, R. T., Das, A., Castellano, P., Fisher, M. A., Wu, H., & Bellofatto, V. (2018). The *Trypanosoma cruzi* RNA-binding protein RBP42 is expressed in the cytoplasm throughout the life cycle of the parasite. *Parasitology*

*research*, 117(4), 1095-1104.

[6] - de Souza, W., De Carvalho, T. M. U., & Barrias, E. S. (2010). Review on *Trypanosoma cruzi*: host cell interaction. *International journal of cell biology*, 2010.

[7] - Mortara, R. A. (1991). *Trypanosoma cruzi*: amastigotes and trypomastigotes interact with different structures on the surface of HeLa cells. *Experimental parasitology*, 73(1), 1-14.

[8] - Brener, Z. (1973). Biology of *Trypanosoma cruzi*. *Annual Reviews in Microbiology*, 27(1), 347-382.

[9] - de Souza, W (1984). Cell Biology of *Trypanosoma cruzi*. *International Review of Cell and Molecular Biology*, v. 86, p.197-283, 1984.

[10] - Yoshida, N., & Cortez, M. (2008). *Trypanosoma cruzi*: parasite and host cell signaling during the invasion process. In *Molecular Mechanisms of Parasite Invasion* (pp. 82-91). Springer, New York, NY

[11] - Coura, J. R. (2015). The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions-A comprehensive review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(3), 277-282.

[12] - Howard, E. J., Xiong, X., Carlier, Y., Sosa-Estani, S., & Buekens, P. (2014). Frequency of the congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: a systematic review and meta-analysis. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 121(1), 22-33.

[13] - Messenger, L. A., & Bern, C. (2018). Congenital Chagas disease: current diagnostics, limitations and future perspectives. *Current opinion in infectious diseases*, 31(5), 415-421.

[14] - Coura, J. R., & Borges-Pereira, J. (2010). Chagas disease: 100 years after its discovery. A systemic review. *Acta tropica*, 115(1-2), 5-13.

[15] - WHO, (2017). World Health Organization. Disponível em: <http://www.who.int/Chagas/disease/en/>. Acesso em: 15/06/2019.

[16] - Schofield, C. J., Jannin, J., & Salvatella, R. (2006). The future of Chagas disease control. *Trends in parasitology*, 22(12), 583-588.

[17] - Coura, J. R., Junqueira, A. C. V., Boia, M. N., Fernandes, O., Bonfante, C., Campos, J. E., *et al.* (2002). Chagas disease in the Brazilian Amazon: IV. a new cross-sectional study. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 44(3), 159-165.

[18] - Santos, V. R. C. D., Meis, J. D., Savino, W., Andrade, J. A. A., Vieira, J. R. D. S., Coura, J. R., & Junqueira, A. C. V. (2018). Acute Chagas disease in the state of Pará, Amazon Region: is it increasing?. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 113(5)

[19] - Instituto Bio-manguinhos/ FIOCRUZ (2016). Casos de doença de chagas têm aumento de 216% em 2016 no Acre. Disponível

[20] - Stanaway, J. D., & Roth, G. (2015). The burden of Chagas disease: estimates and challenges. *Global Heart*, 10(3), 139-144.

[21] - Pérez-Molina, J. A., & Molina, I. (2018). Chagas disease. *The Lancet*, 391(10115), 82-94.

[22] - Murta, S. M., Gazzinelli, R. T., Brener, Z., & Romanha, A. J. (1998). Molecular characterization of susceptible and naturally resistant strains of *Trypanosoma cruzi* to benznidazole and nifurtimox. *Molecular and biochemical parasitology*, 93(2), 203-214.

[23] - Bilate, A., & Cunha-Neto, E. (2008). Chagas disease cardiomyopathy: current concepts of an old disease. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 50(2), 67-74.

[24] - Revollo, S., Oury, B., Laurent, J. P., Barnabé, C., Quesney, V., Carrière, V., *et al.* (1998). *Trypanosoma cruzi*: impact of clonal evolution of the parasite on its biological and medical properties. *Experimental Parasitology*, 89(1), 30-39.

[25] - Zingales, B., Andrade, S. G., Briones, M. R. D. S., Campbell, D. A., Chiari, E., Fernandes, O., *et al.* (2009). A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(7), 1051-1054.

[26] - Zingales, B., Miles, M. A., Campbell, D. A., Tibayrenc, M., Macedo,

A. M., Teixeira, M. M., *et al.* (2012). The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infection, genetics and evolution*, 12(2), 240-253.

[27] - Lima, L., Espinosa-Álvarez, O., Ortiz, P. A., Trejo-Varón, J. A., Carranza, J. C., Pinto, C. M., *et al* (2015). Genetic diversity of *Trypanosoma cruzi* in bats, and multilocus phylogenetic and phylogeographical analyses supporting Tcbat as an independent DTU (discrete typing unit). *Acta tropica*, 151, 166-177.

[28] - Magalhães, L. M., Viana, A., Chiari, E., Galvão, L. M., Gollob, K. J., & Dutra, W. O. (2015). Differential activation of human monocytes and lymphocytes by distinct strains of *Trypanosoma cruzi*. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(7), e0003816.

[29] - Andrade, L. O., & Andrews, N. W. (2005). The *Trypanosoma cruzi*-host-cell interplay: location, invasion, retention. *Nature Reviews Microbiology*, 3(10), 819.

[30] - Burleigh, B. A. (2005). Host cell signaling and *Trypanosoma cruzi* invasion: do all roads lead to lysosomes?. *Sci. STKE*, 2005(293), pe36-pe36..

[31] - Yoshida, N. (2006). Molecular basis of mammalian cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 78(1), 87-111.

[32] - Kreier, J. P., Al Abbassy, S. N., & Seed, T. M. (1977). *Trypanosoma cruzi*. Surface change characteristics of cultured epimastigotes, trypomastigotes and amastigotes. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 19(1), 10-20.

[34] - Villalta, F., Scharfstein, J., Ashton, A. W., Tyler, K. M., Guan, F., Mukherjee, S., *et al.*(2009). Perspectives on the *Trypanosoma cruzi*-host cell receptor interactions. *Parasitology research*, 104(6), 1251-1260.

[35] - de Barros, M. P., Innocente, A. M., da Silva, G. N. S., Duarte, M., Vunda, S. L. L., & Tasca, T. (2012). Mecanismos específicos de patogenicidade de protozoários intracelulares: *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* spp., *Toxoplasma gondii* e *Plasmodium* spp. *Revista Liberato*, 13(20), 1-19.

[36] - Tardieux, I., Webster, P., Ravesloot, J., Boron, W., Lunn, J. A., Heuser, J. E., & Andrews, N. W. (1992). Lysosome recruitment and fusion are early

events required for trypanosome invasion of mammalian cells. *Cell*, 71(7), 1117-1130.

[37] - Woolsey, A. M., & Burleigh, B. A. (2004). Host cell actin polymerization is required for cellular retention of *Trypanosoma cruzi* and early association with endosomal/lysosomal compartments. *Cellular microbiology*, 6(9), 829-838.

[38] - Mott, A., Lenormand, G., Costales, J., Fredberg, J. J., & Burleigh, B. A. (2009). Modulation of host cell mechanics by *Trypanosoma cruzi*. *Journal of cellular physiology*, 218(2), 315-322.

[39] - Santana, J. M., Grellier, P., Schrével, J., & Teixeira, A. R. (1997). A *Trypanosoma cruzi*-secreted 80 kDa proteinase with specificity for human collagen types I and IV. *Biochemical Journal*, 325(1), 129-137.

[40] - Grellier, P., Vendeville, S., Joyeau, R., Bastos, I. M., Drobecq, H., Frappier, F., .et al. (2001). *Trypanosoma cruzi* prolyl oligopeptidase Tc80 is involved in nonphagocytic mammalian cell invasion by trypomastigotes. *Journal of Biological Chemistry*, 276(50), 47078-47086.

[41] - Barrias, E., Reignault, L. C., & de Souza, W. (2019). How Does the Main Infective Stage of *T. cruzi* Enter and Avoid Degradation in Host Cells? A Description of the Pathways and Organelles Involved on These Processes. In *Biology of Trypanosoma cruzi*. IntechOpen.

[42] - Cordero, E. M., Cortez, C., Yoshida, N., & da Silveira, J. F. (2019). Signal peptide recognition in *Trypanosoma cruzi* GP82 adhesin relies on its localization at protein N-terminus. *Scientific reports*, 9(1), 7325.

[43] - Araya, J. E., Cano, M. I., Yoshida, N., & da Silveira, J. (1994). Cloning and characterization of a gene for the stage-specific 82-kDa surface antigen of metacyclic trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *Molecular and biochemical parasitology*, 65(1), 161-169.

[44] - Staquicini, D. I., Martins, R. M., Macedo, S., Sasso, G. R., Atayde, V. D., Juliano, M. A., & Yoshida, N. (2010). Role of GP82 in the selective binding to gastric mucin during oral infection with *Trypanosoma cruzi*. *PLoS neglected tropical diseases*, 4(3), e613.

[45] - Cortez, C., Yoshida, N., Bahia, D., & Sobreira, T. J. (2012). Structural basis of the interaction of a *Trypanosoma cruzi* surface molecule implicated in oral infection with host cells and gastric mucin. *PLoS One*, 7(7), e42153.

[46] - Khusal, K. G., Tonelli, R. R., Mattos, E. C., Soares, C. O., Di Genova, B. M., Juliano, M. A., *et al.* (2015). Prokineticin receptor identified by phage display is an entry receptor for *Trypanosoma cruzi* into mammalian cells. *Parasitology research*, 114(1), 155-165.

[47] - Cortez, C., Real, F., & Yoshida, N. (2016). Lysosome biogenesis/scattering increases host cell susceptibility to invasion by *Trypanosoma cruzi* metacyclic forms and resistance to tissue culture trypomastigotes. *Cellular microbiology*, 18(5), 748-760.

[48] - 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.

[49] - De Pablos Torró, L. M., & Osuna Carrillo de Albornoz, A. (2018). Extracellular vesicles in Chagas disease: a new passenger for an old disease. *Frontiers in microbiology*, 9, 1190.

[50] - Barbosa, C. G., Gómez-Hernández, C., Rezende-Oliveira, K., Da Silva, M. V., Rodrigues, J. P. F., Tiburcio, M. G. *et al.* (2019). Oral infection of mice and host cell invasion by *Trypanosoma cruzi* strains from Mexico. *Parasitology research*, 118(5), 1493-1500.

[51] - Ruíz-Sánchez, R., León, M. P. D., Matta, V., Reyes, P. A., López, R., Jay, D., & Monteón, V. M. (2005). *Trypanosoma cruzi* isolates from Mexican and Guatemalan acute and chronic chagasic cardiopathy patients belong to *Trypanosoma cruzi* I. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100(3), 281-283.

[52] - Cestari, I. (2006). *Trypanosoma cruzi* e o sistema complemento: mecanismos de ativação e o papel do gene Crit (Complement C2 Inhibitor Trispanning) na resistência à lise em cepas de Classe I e II. 2006. 113 f (*Doctoral dissertation, Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular)*). Instituto

Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro).

[53] - Reyes-Espinosa, F., Juárez-Saldivar, A., Palos, I., Herrera-Mayorga, V., García-Pérez, C., & Rivera, G. (2019). In Silico Analysis of Homologous Heterodimers of Cruzipain-Chagasin from Structural Models Built by Homology. *International journal of molecular sciences*, 20(6), 1320.

[54] - Lentini, G., Dos Santos Pacheco, N., & Burleigh, B. A. (2018). Targeting host mitochondria: A role for the *Trypanosoma cruzi* amastigote flagellum. *Cellular microbiology*, 20(2), e12807.

[55] - Ochaya, S., Franzén, O., Buhwa, D. A., Foyn, H., Butler, C. E., Stove, S. I., *et al.* (2019). Characterization of evolutionarily conserved *Trypanosoma cruzi* NatC and NatA-N-terminal acetyltransferase complexes. *Journal of parasitology research*, 2019.

[56] - Fritzsche, M., Fernandes, R. A., Chang, V. T., Colin-York, H., Clausen, M. P., Felce, J. H., *et al.* (2017). Cytoskeletal actin dynamics shape a ramifying actin network underpinning immunological synapse formation. *Science advances*, 3(6), e1603032.

[57] - Bonfim-Melo, A., Ferreira, E. R., Florentino, P. T., & Mortara, R. A. (2018). Amastigote synapse: the tricks of *Trypanosoma cruzi* extracellular amastigotes. *Frontiers in microbiology*, 9, 1341..

[58] - da Silva, C. V., Kawashita, S. Y., Probst, C. M., Dallagiovanna, B., Cruz, M. C., da Silva, E. A., *et al.* (2009). Characterization of a 21 kDa protein from *Trypanosoma cruzi* associated with mammalian cell invasion. *Microbes and infection*, 11(5), 563-570.

[59] - Fernandes, M. C., Flannery, A. R., Andrews, N., & Mortara, R. A. (2013). Extracellular amastigotes of *Trypanosoma cruzi* are potent inducers of phagocytosis in mammalian cells. *Cellular microbiology*, 15(6), 977-991.

[60] - Florentino, P. T., Real, F., Orikaza, C. M., da Cunha, J. P., Vitorino, F. N., Cordero, E. M., *et al.* (2018). A carbohydrate moiety of secreted stage-specific glycoprotein 4 participates in host cell invasion by *Trypanosoma cruzi* extracellular amastigotes. *Frontiers in microbiology*, 9, 693.

[61] - Cardoso, J., Soares, M. J., Menna-Barreto, R. F., Le Bloas, R., Sotomaior, V., Goldenberg, S., & Krieger, M. A. (2008). Inhibition of proteasome activity blocks *Trypanosoma cruzi* growth and metacyclogenesis. *Parasitology research*, 103(4), 941.

[62] - Castellano, F., Chavrier, P., & Caron, E. (2001, December). Actin dynamics during phagocytosis. In *Seminars in immunology* (Vol. 13, No. 6, pp. 347-355). Academic Press.

[63] - Niedergang, F., & Chavrier, P. (2004). Signaling and membrane dynamics during phagocytosis: many roads lead to the phagos (R) ome. *Current opinion in cell biology*, 16(4), 422-428.

[64] - Rodrigues, A. A., Clemente, T. M., Dos Santos, M. A., Machado, F. C., Gomes, R. G., Moreira, H. H. T., ... & Bahia, D. (2012). A recombinant protein based on *Trypanosoma cruzi* P21 enhances phagocytosis. *Plos one*, 7(12), e51384.