



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Luiz Roberto de Oliveira Junior

**VITAMINA D E LL-37 EM PACIENTES COM DOENÇA DE
CHAGAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Profa. Dra. Cilmary Suemi Kurokawa

**Botucatu
2018**

Luiz Roberto de Oliveira Junior

**VITAMINA D E LL-37 EM PACIENTES COM DOENÇA
DE CHAGAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Profa. Dra. Cilmary Suemi Kurokawa

**Botucatu
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Oliveira Junior, Luiz Roberto de.

Vitamina D e LL-37 em pacientes com doença de Chagas /
Luiz Roberto de Oliveira Junior. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de
Botucatu

Orientador: Cilmary Suemi Kurokawa
Capes: 40101096

1. Chagas, Doença de. 2. Vitamina D. 3. Catelicidinas.
4. Trypanosoma cruzi. 5. Revisão.

Palavras-chave: Catelicidina; Doença de Chagas; LL-37;
Vitamina D.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais Luiz Roberto de Oliveira e Aparecida Lourdes Silva Oliveira por acreditarem em mim e apoiar incondicionalmente todas as minhas decisões, mesmo sem entender a maioria delas. Sem eles, nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter estado presente em todos os momentos de minha vida. Obrigado por iluminar o meu caminho e me dar forças para seguir em frente sempre.

Ao meu pai **Luiz Roberto de Oliveira** que, mesmo em suas poucas palavras, nunca me deixou faltar nada, principalmente a vontade de vencer cada vez mais. Obrigado por ter sido esse exemplo de caráter e honestidade. Eu sou muito feliz e orgulhoso por ser o Pinguim Junior.

À minha mãe **Aparecida Lourdes Silva Oliveira**, por seu amor incondicional. Nenhuma palavra aqui expressaria o quanto sou grato por ser seu filho. Todo o carinho empenhado em cuidar das minhas roupas e preparar minhas “marmitinhas” e todo o amor a mim dispensado, mesmo quando eu não merecia.

Às minhas irmãs **Fernanda, Karoline e Mariana**. Apesar da “distância” que tenho de vocês, o amor e carinho que sinto é imensurável, mesmo que eu não os expresse. Espero contar sempre com vocês, da mesma forma que estarei aqui sempre.

Aos meus sobrinhos **Paulo Sérgio e Gabriel** que, mesmo sem entender o porquê do tio Ju ir embora e passar dias longe, me proporcionam momentos de completa felicidade. Espero que um dia vocês leiam essa dissertação e sintam orgulho de quem o tio Ju se tornou.

A todos os outros familiares que, mesmo sem entender a busca por esse sonho, torceram diariamente pelo meu sucesso.

Enfim, família, agradeço por serem meu alicerce. Verdadeiros exemplos de vida que me guiaram em todas as decisões. Graças ao incentivo de vocês cheguei até aqui e se depender disso, sei que chegarei ainda mais além.

À minha orientadora, **Profa. Dra. Cilmary Suemi Kurokawa**, por ter sido tão dedicada comigo. Obrigado pela paciência e toda sabedoria compartilhada comigo para a concretização deste Mestrado (e eu espero continuar no Doutorado). Agradeço todos os dias por ter encontrado uma orientadora tão humana, compreensiva e postura profissional exemplar. Mesmo diante de algumas dificuldades ao longo do trabalho sempre estive ao meu lado, me incentivando. Gratidão eterna pela amizade, oportunidade e confiança em mim depositada.

Aos amigos que deixei em **Santa Cruz do Rio Pardo**. Só Deus sabe o quanto senti falta de vocês aqui comigo. Obrigado por estarem aí todas as vezes que precisei e me proporcionarem momentos de alegria e diversão.

Ao meu amigo e segundo pai **Paulo Sérgio Marcato** pelo incentivo e “puxões de orelha” necessários para minha chegada até aqui.

À minha amiga e confidente **Sandra Carla Campanha** por todos os momentos felizes e tristes. Obrigado por me ouvir sempre que precisei.

Aos **amigos de república** por dividirem o apartamento comigo durante esse Mestrado e fazer com que eu me sentisse em casa.

Aos amigos que **Botucatu** me apresentou. Tenham certeza de que a mudança para uma nova cidade e o dia-a-dia foram muito mais leves graças a vocês.

Aos amigos do **Laboratório Clínico do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP)**, em especial à **Rita de Cássia Alves Siqueira Bruder**, que me receberam tão bem durante o início do meu Programa de Aprimoramento Profissional.

À **Dra. Elaine Cristina Navarro** por ter me ensinado e auxiliado durante as coletas no Ambulatório de Doenças Tropicais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP).

Ao **Prof. Dr. Paulo Câmara Marques Pereira** por ter viabilizado a realização desse trabalho no Ambulatório de Doenças Tropicais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), pelos ensinamentos compartilhados e pela participação no Exame Geral de Qualificação.

À **Dra. Érika Alessandra Pelisson Nunes da Costa** pela ajuda com os pacientes do Ambulatório de Doenças Tropicais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP), sempre disposta a ajudar e sanar minhas dúvidas referentes à condição clínica do paciente.

Ao **Dr. Rodrigo Mattos dos Santos** pela dedicação a mim dispensada antes, durante e após os experimentos realizados no Laboratório de Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP) e por ter contribuído tanto no Exame Geral de Qualificação.

À minha amiga **Thaysa Buss Carvalho** por ter me acompanhado durante todo esse Mestrado, diante de tantas alegrias e desesperos. Obrigado por ter sido sempre tão paciente e carinhosa comigo. Seremos Mestres juntos, se Deus quiser Doutores e eu te desejo todas as melhores coisas da vida!

À minha amiga **Lariza Maza**, dona de um coração enorme que tive o prazer de conhecer desde o Programa de Aprimoramento Profissional. Obrigado pelo companheirismo. Tenho certeza de que será uma excelente profissional que vai deixar todos cada vez mais orgulhosos.

À minha amiga **Tatiane Fernanda Sylvestre** por levar a amizade além das paredes do Laboratório de Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP) e apresentar, inclusive, sua família maravilhosa! Obrigado por ser minha. Que venham muitas festas para nos divertirmos!

A todos os amigos do **Laboratório de Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP)** – **Adriele Levorato, Nayore Takamiya, Guilherme Marques, Matheus Fiorine, Carolina Bassetto, Mariana Gatto, Vanessa Manfio, Beatriz Pereira, Camila Marçon, Patrícia Borin, Francilene Capel, Thalita Martins** e tantos outros que passaram por lá. Obrigado por compartilharem diariamente os cafés, almoços, as risadas e até as angústias da pós-graduação. E obrigado por aguentarem minhas conversas e até mesmo meu mau humor. Os levarei sempre guardados em meu coração.

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)** – Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB).

A todos da **Seção Técnica de Pós-Graduação** da Faculdade de Medicina de Botucatu e em especial à **Bruna Quirino da Silva Jorgetto**, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, por ser tão atenciosa e paciente.

Ao **Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem** da Faculdade de Medicina de Botucatu por toda atenção dispensada.

Aos membros titulares e suplentes da Banca de Defesa de Mestrado, **Prof. Dr. Paulo Câmara Marques Pereira, Profa. Dra. Maria Flávia Pereira da Silva, Profa. Dra. Tamara Beres Lederer Goldberg e Prof. Dr. Leonardo Teixeira Lopes de Medeiros**, por aceitarem o convite para participação desse momento tão importante.

À **Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX)** da Faculdade de Medicina de Botucatu, em especial à **Maria Regina Moretto** pelo auxílio durante meus experimentos.

Aos **funcionários do Ambulatório de Doenças Tropicais** do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP) por prontamente nos auxiliarem, quando necessário, na coleta de sangue dos pacientes.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela concessão de bolsa durante todo o período de realização desse Mestrado.

Enfim, aos **pacientes** que participaram deste trabalho, que cederam seu tempo e material biológico (sangue) para esse estudo.

EPÍGRAFE



- Bill Waterson

"[...] passei o dia andando pelo bairro. Cheguei a pegar meu velho trenó e meu velho cachecol. Há algo de confortável nisso para mim. Subi a colina onde costumava usar o trenó. Havia muitas crianças ali. Eu fiquei vendo elas voarem. Dar saltos e apostar corridas. E pensei que todas aquelas crianças um dia iam crescer. E todas aquelas crianças iam fazer as coisas que nós fazemos. E todos eles beijarão alguém um dia. Mas agora andar de trenó era o bastante. Acho que seria ótimo se bastasse um trenó, mas não é assim."

Stephen Chbosky – As Vantagens de Ser Invisível

RESUMO

Oliveira Junior. LR. **Vitamina D e LL-37 em pacientes com doença de Chagas.** Dissertação (mestrado). Faculdade de Medicina de Botucatu. Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2018.

O texto apresentado faz parte dos estudos sobre doença de Chagas (DC), suas formas clínicas e correlação com morbidades associadas à obesidade e envelhecimento e confeccionado para obtenção do título de Mestre em Doenças Tropicais. Ele é dividido em dois capítulos, no qual o primeiro texto compreende uma revisão bibliográfica sobre a doença de Chagas, vitamina D₃ e catelicidina LL-37; e, no segundo capítulo, um artigo com dados descritivos da população de estudo intitulado de “FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR ASSOCIADOS À DOENÇA DE CHAGAS CRÔNICA” e um artigo intitulado de “VITAMINA D₃, CATELICIDINA LL-37 E POLIMORFISMOS DO GENE VDR EM PACIENTES COM A FORMA INDETERMINADA E CARDÍACA DA DOENÇA DE CHAGAS”. Atualmente a DC é uma doença tropical negligenciada em todo o mundo e endêmica em 21 países latino-americanos, com mais de 25 milhões de pessoas em área de risco de transmissão. Afeta de 8 a 10 milhões de pessoas, sendo que no Brasil estima-se que existam 3 milhões de infectados, com 6 mil mortes por ano. Em sua fase crônica, tem a forma cardíaca como a manifestações mais importante da doença, tanto por sua frequência quanto por sua gravidade, com impacto social e financeiro, já que afetam os indivíduos na fase mais produtiva da vida (entre 30 e 50 anos), com altos índices de morbimortalidade. Além dos distúrbios no sistema de condução cardíaco, pode evoluir para manifestações mais graves como cardiomegalia, falência cardíaca e morte súbita. A inexistência de drogas eficazes para tratamento da doença em sua fase crônica requer o uso de terapias auxiliares que controlem os sintomas e melhorem a qualidade de vida dos pacientes, evitando complicações graves, progressão da doença e aumento da sobrevida. Mesmo existindo muitos trabalhos sobre a patogênese, cura e prevenção da DC, poucos associam esses pacientes com o risco de afecções que acometem a população geral. O envelhecimento dessa população tem favorecido aumento de fatores de risco cardiovasculares associados, como hipertensão arterial, diabetes *mellitus*, dislipidemias, hipotireoidismos, sobrepeso e outras cardiopatias. Essas comorbidades podem dificultar o tratamento e elevar seus gastos, além de afetar a qualidade de vida desses indivíduos infectados e acompanhados nos serviços de saúde. Dessa forma, o primeiro artigo investiga dos dados clínicos dos pacientes atendidos no Ambulatório de Doenças Tropicais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu com o objetivo de verificar as comorbidades associadas ao risco cardíaco. No segundo artigo foi realizada uma abordagem da hipovitaminose D₃ e seu papel na produção de peptídeos antimicrobianos como a catelicidina LL-37 e suas associações com a obesidade que os acompanha. Essa condição foi escolhida devido à sua constante associação com a obesidade e seu papel na resposta imune contra diversos agentes infecciosos, e por ter se tornado um problema de saúde mundial. Esta deficiência pode estar relacionada ao sequestro da mesma pelo tecido adiposo com consequentes efeitos na resposta imune contra o *T. cruzi* e surgimento de manifestações clínicas mais graves da DC.

ABSTRACT

Oliveira Junior. LR. **Vitamin D and LL-37 in patients with Chagas disease.** Dissertação (mestrado). Faculdade de Medicina de Botucatu. Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2018.

The text presented is part of the studies on Chagas disease (CD), its clinical forms and correlation with morbidities associated with obesity and aging and made for the title of Masters in Tropical Diseases. It is divided into two chapters, in which the first text comprises a literature review on Chagas disease, vitamin D₃ and cathelicidin LL-37; and in the second chapter an article with descriptive data from the study population entitled "CARDIOVASCULAR RISK FACTORS ASSOCIATED WITH CHRONIC CHAGAS DISEASE" and an article entitled "VITAMIN D₃, CATELICIDINE LL-37 AND VDR GENE POLYMORPHOSMS IN PATIENTS WITH THE UNDETERMINED AND HEART CHAGAS DISEASE FORM". Currently, CD is a neglected tropical disease worldwide and endemic in 21 Latin American countries, with more than 25 million people at risk of transmission. It affects 8 to 10 million people, and in Brazil it is estimated that there are 3 million infected, with 6 thousand deaths a year. In its chronic phase, it has the cardiac form as the most important manifestations of the disease, as much by its frequency as by its gravity, with social and financial impact, since they affect the individuals in the most productive phase of the life (between 30 and 50 years), with high morbidity and mortality rates. In addition to disturbances in the cardiac conduction system, it can progress to more serious manifestations such as cardiomegaly, heart failure and sudden death. The lack of effective drugs to treat the disease in its chronic phase requires the use of auxiliary therapies that control the symptoms and improve the patients quality of life, avoiding serious complications, disease progression and increased survival. Although there are many works on the pathogenesis, cure and prevention of CD, few associate these patients with the risk of affections that affect the general population. The aging of this population has favored an increase in associated cardiovascular risk factors, such as hypertension, diabetes mellitus, dyslipidemia, hypothyroidism, overweight and other heart diseases. These comorbidities may make it difficult to treat and increase their expenses, as well as affecting the quality of life of these infected individuals and being followed up at the health services. Thus, the first article investigates the clinical data of the patients treated at the Clinical for Tropical Diseases of the Medical School of Botucatu with the objective of verifying the comorbidities associated with cardiac risk. In the second article, an approach was performed on hypovitaminosis D₃ and its role in the production of antimicrobial peptides such as cathelicidin LL-37 and its associations with accompanying obesity. This condition was chosen because of its constant association with obesity and its role in the immune response against various infectious agents, and because it has become a global health problem. This deficiency may be related to the kidnapping of the same by adipose tissue with consequent effects on the immune response against *T. cruzi* and onset of more severe clinical manifestations of CD.

LISTA DE
ABREVIATURAS E
SIGLAS

1 α ,25(OH)2D3 – 1 α ,25-dihidroxitamina D3
25(OH)D3 – 25-hidroxitamina D3
7-DHC – 7-deidrocolesterol
ATPIII – Adult Treatment Panel III
CCC – Cardiopatia Chagásica Crônica
CMIA – Imunoensaio Quimioluminescente de Micropartículas
DC – Doença de Chagas
DM – Diabetes Mellitus
DTNs – Doenças Tropicais Negligenciadas
ECG – Eletrocardiograma
EED – Esôfago Estômago e Duodeno
ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ERO – Espécie Reativa de Oxigênio
EUA – Estados Unidos da América
HA – Hipertensão Arterial
HAI – Hemoaglutinação Indireta
HCV – Vírus da Hepatite C
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI – Imunofluorescência Indireta
IMC – Índice de Massa Corpórea
IOM – Institute of Medicine
NCEP – National Cholesterol Education Program
OMS – Organização Mundial de Saúde
OPAS – Organização Pan Americana de Saúde
PCR – Polymerase Chain Reaction PTH – Paratormônio
RFLP – Polimorfismo de Fragmento de Restrição
RSV – Vírus Sincicial Respiratório
RXR – Receptor de Ácido Retinóico
SBEM – Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
SNP – Polimorfismo de Nucleotídeo Únicos
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
VDR – Receptor de Vitamina D

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - Revisão Bibliográfica.....	20
1. INTRODUÇÃO	21
1.1. Doença de Chagas	22
1.2. Vitamina D	31
1.3. Vitamina D e o Sistema Imune.....	39
1.4. Catelicidina e os Peptídeos Antimicrobianos	42
2. OBJETIVOS	45
2.1. Objetivo Geral.....	46
2.2. Objetivos Específicos.....	46
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
CAPÍTULO II	66
ARTIGO I: Fatores de Risco Cardiovascular Associados à Doença de Chagas Crônica	67
Resumo	68
Introdução.....	69
Pacientes e Métodos	71
Resultados.....	74
Discussão	79
Conclusão.....	84
Agradecimentos.....	84
Referências.....	85
ARTIGO II: Vitamina D ₃ , Catelicidina LL-37 e Polimorfismos do Gene VDR em Pacientes com a Forma Indeterminada e Cardíaca da Doença de Chagas.....	89
Resumo	90
Introdução.....	91
Pacientes e Métodos	95
Resultados.....	101
Discussão	105
Conclusão.....	110
Agradecimentos.....	111
Referências.....	111
CONSIDERAÇÕES FINAIS	119
ANEXOS	121

CAPÍTULO I - Revisão Bibliográfica

1. INTRODUÇÃO

1.1. Doença de Chagas

A doença de Chagas (DC) ou tripanossomíase americana foi descrita em 1909 pelo médico e epidemiologista brasileiro Carlos Justiniano Ribeiro Chagas (1879 – 1934) na cidade de Lassance, interior do Estado de Minas Gerais. A grandiosidade da descoberta se deve ao fato de que o mesmo identificou primeiramente o vetor da doença, seus reservatórios, o agente etiológico, seu ciclo evolutivo, a patologia, o diagnóstico parasitológico (gota espessa) e as formas de tratamento. (1,2). Os aspectos médicos e sociais da DC levaram às autoridades a avaliarem melhor a importância da doença (1).

Atualmente a DC é considerada uma das 17 doenças tropicais negligenciadas (DTNs) em todo o mundo e endêmica em 21 países latino-americanos, com mais de 25 milhões de pessoas em área de risco de transmissão. Causada pelo parasita protozoário *Trypanosoma cruzi*, a DC atinge principalmente populações mais pobres, com cerca de 8 a 10 milhões de pessoas afetadas em todo mundo. No Brasil estima-se que existam 3 milhões de infectados, com 6 mil mortes por ano (3–7).

Apesar dos esforços para redução da DC nos países endêmicos, a migração da população de áreas rurais para áreas urbanas e imigração da população para países desenvolvidos têm resultado no aumento da detecção do *T. cruzi* pelo mundo. A imigração da América Latina para países como Estados Unidos da América (EUA), Canadá, Austrália, Japão e o continente Europeu caracteriza a DC como um problema de saúde pública emergente nestes países e continentes (8). Em 2009, estimou-se que existiam 23 milhões de imigrantes provenientes de áreas endêmicas vivendo nos EUA. Quanto ao número de pessoas infectadas, os EUA ocupam o sétimo lugar mundial com aproximadamente 300 mil infectados (9,10). Outro fato que contribui para o aumento do número de casos é a presença de 11 espécies de insetos

triatomíneos vetores e diversos mamíferos hospedeiros espalhados desde à Geórgia até a Califórnia (11,12).

Na Europa, a situação não é diferente. Estima-se que o continente tenha recebido em 2004 aproximadamente 2 milhões de imigrantes de áreas endêmicas da América Latina (11). Entre 1999 e 2009, o número de infectados no continente passou dos 80 mil. Os países mais afetados foram a Espanha, Reino Unido e Itália, que juntos somam aproximadamente 90% dos casos (8). Na Espanha, tem se notado muitos casos de infecção congênita pelo *T. cruzi*, reforçando a necessidade de se realizar ações que chamem a atenção para esta forma de transmissão, já que mais de 60% dos imigrantes são latino americanos do sexo feminino (11). Assim, apesar de eficientes programas de controle de vetor e rastreamento em bancos de sangue, a patogênese, fisiopatologia e formas de disseminação continuam sendo um assunto desafiador (13).

O impacto da DC não está apenas relacionado à sua importância clínica e epidemiológica. Sua capacidade de estabelecer sintomas precoces, podendo levar à morte, reflete também na economia dos países onde a doença é endêmica. O acometimento de órgãos como coração, esôfago e intestino pode fazer com que os pacientes necessitem de tratamentos de longo prazo e, às vezes, realização de procedimentos cirúrgicos de alta complexidade (14,15).

Na América Latina, Lee et al. (2013) estimaram que os gastos da DC estejam em torno de US\$ 7,19 bilhões por ano, superior a doenças como câncer de colo de útero e infecções por rotavírus (14). Em países como a Colômbia, os custos no tratamento da DC em 2008 foram estimados em US\$ 267 milhões, o que contrasta com o controle do vetor que teve seus custos estimados em US\$ 5 milhões por ano (16). Para alguns autores a adoção de medidas preventivas em países latino-

americanos, como o controle de vetores, diminuiria os gastos com a DC devido a eficiência e economia perante o tratamento da doença (17,18).

A principal forma de transmissão do *T. cruzi* é através do contato do hospedeiro com as fezes do inseto vetor da família *Reduviidae*, subfamília *Triatominae*, popularmente conhecidos como “barbeiros”. Além do hospedeiro humano, o *T. cruzi* pode ainda parasitar outros mamíferos, o que pode variar de região para região (16,19). Existem cerca de 140 espécies de triatomíneos descritos, sendo que 61 delas estão presentes no Brasil, dada a sua fauna diversificada e extensão territorial. Apenas na região nordeste foram encontradas 21 espécies no habitat humano que antes eram consideradas selvagens (20–22).

As espécies pertencentes aos gêneros *Triatoma*, *Rhodnius* e *Panstrongylus* são as de maior importância epidemiológica e, através das ações de controle desses vetores, a Organização Pan Americana de Saúde (OPAS/OMS) declarou em 2006 o Brasil livre do principal vetor, o *T. infestans* (23,24). Essa interrupção da transmissão vetorial e os esforços para detecção da DC nas triagens em bancos de sangue reduziu significativamente os casos agudos no Brasil. Com a possibilidade de ser transmitida de outras formas, surgem novos desafios no controle da DC tais como manter o quadro atual, desenvolver novas tecnologias e métodos vigilância e controle e garantir atenção médica adequada aos infectados (13,25)

Além da transmissão vetorial, o *T. cruzi* também pode ser transmitido ao ser humano verticalmente, pela passagem de parasitas de mulheres infectadas aos bebês durante a gestação; acidental, através do contato com material infectado; oral, pela ingestão de alimentos contaminados com o parasita; a partir de transplante de órgãos e; em transfusões sanguíneas (26). As transfusões sanguíneas, após a interrupção da transmissão vetorial, tornaram-se as principais formas de transmissão

da DC até que as triagens sorológicas em bancos de sangue tornaram-se obrigatórias a partir da nova Constituição em 1988 (27).

No ciclo biológico da transmissão vetorial, tanto no inseto vetor quanto no hospedeiro, o *T. cruzi* possui uma alternância de formas celulares. Ao realizar o repasto sanguíneo o triatomíneo adquire as formas tripomastigotas do hospedeiro infectado, que são lisadas em seu estômago e diferenciadas na forma epimastigotas. Em seu intestino há uma nova diferenciação para a forma infectante do parasita, os tripomastigotas metacíclicos. Essas formas infectantes são então liberadas nas fezes e na urina do triatomíneo durante o repasto sanguíneo. No hospedeiro, através da própria lesão da picada, esses tripomastigotas metacíclicos infectam as células do local de contato (como fibroblastos, macrófagos e células epiteliais) e diferenciam-se em amastigotas, que após sucessivas divisões, lisam a célula, liberando formas tripomastigotas na corrente sanguínea ou infectando novas células, completando assim o ciclo (28–30).

A DC é caracterizada por duas fases distintas, sendo uma aguda e uma fase crônica. Quando a DC é transmitida de forma vetorial, a fase aguda se desenvolve em torno de 8 a 10 dias após a invasão do parasita e é caracterizada pela alta parasitemia na corrente sanguínea e nos tecidos do hospedeiro (31,32). Os sinais clássicos incluem o sinal de Romaña e o chagoma de inoculação, porém, a fase aguda pode apresentar desde sintomas inespecíficos até manifestações mais graves como miocardite aguda, derrame pericárdico e/ou meningoencefalite (33,34). No Brasil apenas os casos agudos são de notificação compulsória, o que reflete na falta de dados referentes à magnitude da doença no país (35).

Entre 2 a 3 meses após a infecção inicial ocorre a queda da parasitemia com o consequente estabelecimento da fase crônica da DC (32). Nessa fase cerca de

60 a 70% dos pacientes manifestam a forma indeterminada da doença que tem caráter assintomático que pode durar por toda a vida. Esse período é caracterizado pela sorologia positiva e ausência de alterações no eletrocardiograma, radiologia cardíaca e comprometimento esofágico e intestinal (33,36,37). Essa fase, mesmo assintomática, diminui a qualidade e tempo de vida dos indivíduos infectados, podendo aumentar as morbidades associadas como hipertensão, diabetes, obesidade e o aumento do risco cardiovascular (36).

O restante dos pacientes pode evoluir para forma crônica sintomática, que pode ser digestiva e/ou cardíaca (32). Na forma digestiva ocorre alterações no trato gastrointestinal, devido à destruição neuronal simpática, levando a alterações na motilidade e morfologia. As principais alterações são o megaesôfago e o megacólon que podem levar à sintomas como soluços, ptialismo, disfagia, dor retroesternal, regurgitação, odinofagia, pirose, emagrecimento, constipação intestinal, distensão abdominal e fecaloma (38,39).

A forma cardíaca ou cardiopatia chagásica crônica (CCC) é considerada a manifestação mais importante da DC, tanto por sua frequência quanto por sua severidade (33). É caracterizada por distúrbios no sistema condutor ocasionando palpitações, arritmias, extra-sístole ventricular, taquicardia e diferentes graus de bloqueio cardíaco. Dentre as manifestações mais graves estão a cardiomegalia, a falência cardíaca e a morte súbita (40–42). Além do impacto social e médico-trabalhista, já que a doença afeta indivíduos na fase mais produtiva de sua vida (entre 30 e 50 anos), a CCC é responsável por altos índices de morbimortalidade (33,43,44).

O diagnóstico da DC deve se basear tanto nos aspectos epidemiológicos quanto nos clínico-laboratoriais. Para o diagnóstico laboratorial deve se levar em conta se a doença se encontra em sua fase aguda ou crônica. Durante a fase aguda

recomenda-se a utilização de exames parasitológicos diretos devido à alta parasitemia e sorologia para quando os exames parasitológicos forem negativos e a suspeita persistir. Os exames parasitológicos direto consistem na pesquisa a fresco do parasita através de técnicas como a da gota espessa, esfregaço sanguíneo e método de Strout (19,26,34).

Na fase crônica o uso de métodos parasitológicos indiretos como o xenodiagnóstico e a hemocultura são pouco sensíveis, tornando os métodos sorológicos essenciais. Seguindo as recomendações do II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (2015), o diagnóstico sorológico da DC em sua fase crônica deve ser realizado por um teste sorológico de alta sensibilidade, como o *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) ou imunofluorescência indireta (IFI), e um outro com alta especificidade, como a Hemaglutinação Indireta (HAI). Quando os resultados forem inconclusivos o diagnóstico molecular através da *Polymerase Chain Reaction* (PCR) passa a ser indicada (19,45–47).

O estabelecimento da infecção crônica causada pelo *T. cruzi*, sugere que o mesmo possua diversos mecanismos de evasão do sistema imune. Já no hospedeiro, durante a fase aguda, a resposta imune se dá de maneira intensa, a qual diminui a parasitemia tanto no sangue quanto nos tecidos (48,49). As tentativas de controle da infecção pelo *T. cruzi* é mediado tanto pela imunidade inata quanto pela imunidade adaptativa. Um dos mecanismos da imunidade inata é controlar o parasita através do processo inflamatório nos locais de infecção para tentar conter sua replicação. Porém, isso faz com que o parasita propague a infecção para os tecidos (50,51).

Na resposta imune adaptativa, acontece a ativação de linfócitos T e B, com a produção de citocinas e anticorpos, respectivamente, o qual parece pouco eficiente

para controlar a infecção (52). As moléculas expressas nos tripomastigotas e amastigotas são capazes de induzir a secreção de diversas citocinas, como fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ) e interleucina-12 (IL-12), que tem importante papel no controle inicial da infecção (53).

A secreção de IL-12 ativa células NK que induzem a síntese de IFN- γ , que atua em células fagocitárias, fazendo com que os mesmos exerçam atividade microbicida através da produção de reativos como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), o peroxinitrito (ONOO-) e o óxido nítrico (NO)(54–56). A modulação da resposta imune também pode ser realizada por citocinas como IL-10 e o fator de transformação do crescimento (TGF- β), que previnem o aumento do processo inflamatório e dano tecidual causados pela produção exacerbada de IFN- γ e IL-12 (55,57).

Apesar de existirem muitas pesquisas sobre a patogênese, cura e prevenção da DC, poucos trabalhos têm demonstrado preocupação em identificar se os pacientes portadores da doença têm maior risco para afecções que acometem a população geral. O motivo pelo qual alguns pacientes permanecem assintomáticos e outros desenvolvem sintomas mais graves ainda é desconhecido. A resposta inflamatória nos tecidos, mecanismos imunes na eliminação do *T. cruzi* e a interação genômica entre o parasita e o hospedeiro podem determinar o aparecimento de sintomas graves ou brandos na DC (58–60).

Atualmente as drogas disponíveis para tratamento da DC são o Nifurtimox e o Benzonidazol. Porém, estudos mostram que essas drogas têm a eficácia descrita em casos agudos e crônicos diagnosticados precocemente, além de requererem um tratamento prolongado com diversos efeitos colaterais, com acompanhamento cuidadoso (61–63). Sendo assim, uma das alternativas ao tratamento do paciente com DC crônica é controlar os sintomas e melhorar a qualidade de vida, que é comumente

comprometida, com medidas que visem evitar complicações, limitar a progressão da doença e aumentar a taxa de sobrevivência (64,65).

O predomínio de pacientes idosos com a fase crônica da DC, oriundo de infecções vetoriais no passado, aumentou a ocorrência de comorbidades associadas como hipertensão arterial (HA), diabetes *mellitus* (DM), dislipidemias, obesidade e outras cardiopatias (46). Essas comorbidades, que em sua maioria tem caráter crônico-degenerativo, dificultam o tratamento da DC pelos serviços de saúde e podem causar danos irreversíveis que podem aumentar o risco cardiovascular quando comparadas isoladamente (65–68). Dessa forma, a melhora da qualidade de vida do indivíduo com DC crônica visa, sobretudo, evitar que os mesmos tenham a função cardíaca ainda mais fragilizada (69).

Os dados na literatura que relacionam a HA com a DC são escassos e muitas vezes controversos (70). O comprometimento do sistema nervoso parassimpático nos pacientes com DC poderia influenciar a atividade simpática e consequentemente a HA. Dessa forma, alguns autores sugerem que os pacientes com DC apresentam a frequência de HA semelhante a população geral (71). Já para Guariento et al. (1998) a HA contribuiu para a gravidade do comprometimento cardíaco em faixas etárias mais elevadas (72).

As dislipidemias, associadas ou não com a HA, representam importantes fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (73). As dislipidemias estão relacionadas ao aumento do tecido adiposo dos indivíduos, provocando alterações tanto no sistema endócrino quanto no sistema imunológico (74,75). Dessa forma, o excesso de peso pode contribuir para o aumento do risco para doenças cardiovasculares, resistência insulínica e hipertensão arterial (76,77). Além

disso, o tecido adiposo também serve como reservatório do *T. cruzi*, contribuindo para o aumento da carga parasitária dos indivíduos infectados (77,78).

O comprometimento do pâncreas na DC também pode contribuir para o surgimento de DM (79). Santos et al. (1999) encontrou uma maior frequência de hiperglicemia e DM em mulheres com a forma cardíaca crônica da DC e sugerem que isso possa estar relacionado com o aumento da atividade simpática e a hipoinsulinemia causado pelo comprometimento das células beta pancreáticas (80). Além disso, o sobrepeso e a obesidade estão presentes na maioria dos pacientes com DM, assim como em mais da metade da população brasileira, sugerindo que o combate ao excesso de peso reduziria o risco para doenças cardiovasculares (81,82).

A síndrome metabólica é outro importante fator que pode estar relacionado com a DC. Isso porque a mesma está presente em 40 a 50% da população idosa, que é a faixa etária mais frequente em pacientes com DC crônica (74). A síndrome metabólica é caracterizada pela presença de obesidade visceral, dislipidemias, hiperglicemia e HA; e pode aumentar o risco para desenvolvimento de DM e outras doenças cardiovasculares (83,84). Além disso, as alterações imunológicas provocadas pela síndrome metabólica podem favorecer o surgimento da forma cardíaca da DC devido ao dano causado pelas lesões teciduais (85,86).

Recentemente, a obesidade tem sido descrita como uma das morbidades relacionadas à DC. Navarro et al. identificaram que 86% dos pacientes com chagas indeterminada possuem sobrepeso/obesidade, sendo que 48% deles apresentavam síndrome metabólica. Como alguns estudos apontam que população brasileira possui mais de 50% de indivíduos acima do peso, sugere-se que os cuidados com esses pacientes sejam os mesmos que os tomados com a população geral. (87,88). Sendo assim, a avaliação precoce de patologias crônicas associadas a estilos de vida

inadequados, como sobrepeso/obesidade, torna-se extremamente importante na prevenção e tratamento da DC, principalmente a forma cardíaca, contribuindo assim para a melhora na qualidade de vida (30,89).

1.2. Vitamina D

Dentre as diversas deficiências nutricionais associadas ao aumento de peso, a hipovitaminose D tem ganho destaque. Essa deficiência tornou-se um problema de saúde pública em todo mundo, com altas taxas de prevalência (90). Esta deficiência pode estar relacionada ao sequestro do mesmo pelo tecido adiposo, mesmo que de forma controversa, já que a gordura animal não é considerada boa fonte de vitamina D, com exceção dos óleos de peixe. Porém, estudos revelam que a diminuição da vitamina D relaciona-se inversamente com o aumento do peso e da circunferência abdominal e consequentemente do Índice de Massa Corpórea (IMC). Estes dados reforçam que a hipovitaminose D tem importante papel na obesidade e no risco para doenças cardiovasculares (91).

A prevalência dos baixos níveis de vitamina D na população obesa corresponde a 35%, valores superiores a indivíduos eutróficos. Os índices diminuem para 24% quando os obesos são comparados aos sobrepesos. Esta deficiência está associada com a diminuição da resposta imune e risco para doenças cardiovasculares (92). Estudos de coorte prospectivos indicam que baixas concentrações de vitamina D estão associadas com aumento do risco para doenças cardiovasculares e eventos adversos, incluindo morte (93). Para Kendrick et al. (2009), a associação entre os baixos níveis de vitamina D e o aumento do risco cardiovascular são achados importantes para a saúde pública devido a segurança e o baixo custo para tratamento da deficiência de vitamina D (94).

A vitamina D é considerada um pré-hormônio que, juntamente com o paratormônio (PTH), tem grande importância na regulação da homeostase do cálcio e do metabolismo ósseo (95). Apresentando característica lipossolúvel, a vitamina D pode ser encontrada em duas formas: o ergocalciferol (vitamina D₂) produzido pelas plantas e fungos e o colecalciferol (vitamina D₃), produzido pelo tecido animal e pela síntese subcutânea sob a ação da luz ultravioleta (96). Cerca de 10 a 20% da vitamina D corpórea seja adquirida pela ingestão de alimentos como óleo de fígado de bacalhau e peixes gordurosos (salmão, atum, cavala) e o restante através da síntese cutânea (97–99).

Na síntese cutânea, o precursor da vitamina D é o 7-deidrocolesterol (7-DHC), que após a exposição aos raios UVB (290 – 315 nm) sofre uma fragmentação fotoquímica que origina o pré-colecalciferol, que após uma isomerização é convertido em colecalciferol (vitamina D₃). O colecalciferol é então transportado para o fígado e sofre uma hidroxilação com a formação de 25(OH)D₃ (25-hidroxivitamina D₃). Após essa etapa hepática, a 25(OH)D₃ é transportada até os rins na qual sofre uma nova hidroxilação, sendo convertida em calcitriol ou 1 α ,25(OH)₂D₃ (1 α ,25-dihidroxivitamina D₃). A 1 α ,25(OH)₂D₃ é a forma mais ativa da vitamina D e responsável por estimular a absorção de cálcio e fosfato pelo intestino. Quando ingerida, a vitamina D é absorvida no intestino delgado e levada ao fígado, tendo a partir desse momento, seu metabolismo igual àquela sintetizada pela pele (100–103). O metabolismo da vitamina D está ilustrado na **Figura 1**.

A incidência de hipovitaminose D na população é descrita na literatura como um importante problema de saúde. A existência de muitos casos não diagnosticados e não tratados de forma adequada sugerem a existência de uma epidemia oculta (104,105). A vitamina D e o cálcio são importantes para a saúde

óssea, com a prevenção da osteoporose e fraturas. A hipovitaminose D é mais comum em idosos e está associada ao aumento do risco de fraturas (104,105).

A avaliação dos níveis de vitamina D é realizado através da $25(\text{OH})\text{D}_3$, já que tanto sua concentração sérica quanto a meia-vida são superiores a $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (106–108). Quanto aos valores considerados de referência para $25(\text{OH})\text{D}_3$ ainda são conflitantes na literatura. Espera-se que os níveis séricos de $25(\text{OH})\text{D}_3$, para o não surgimento de sinais e sintomas clínicos relacionados à deficiência, esteja relacionado aos níveis adequados de PTH (109,110).

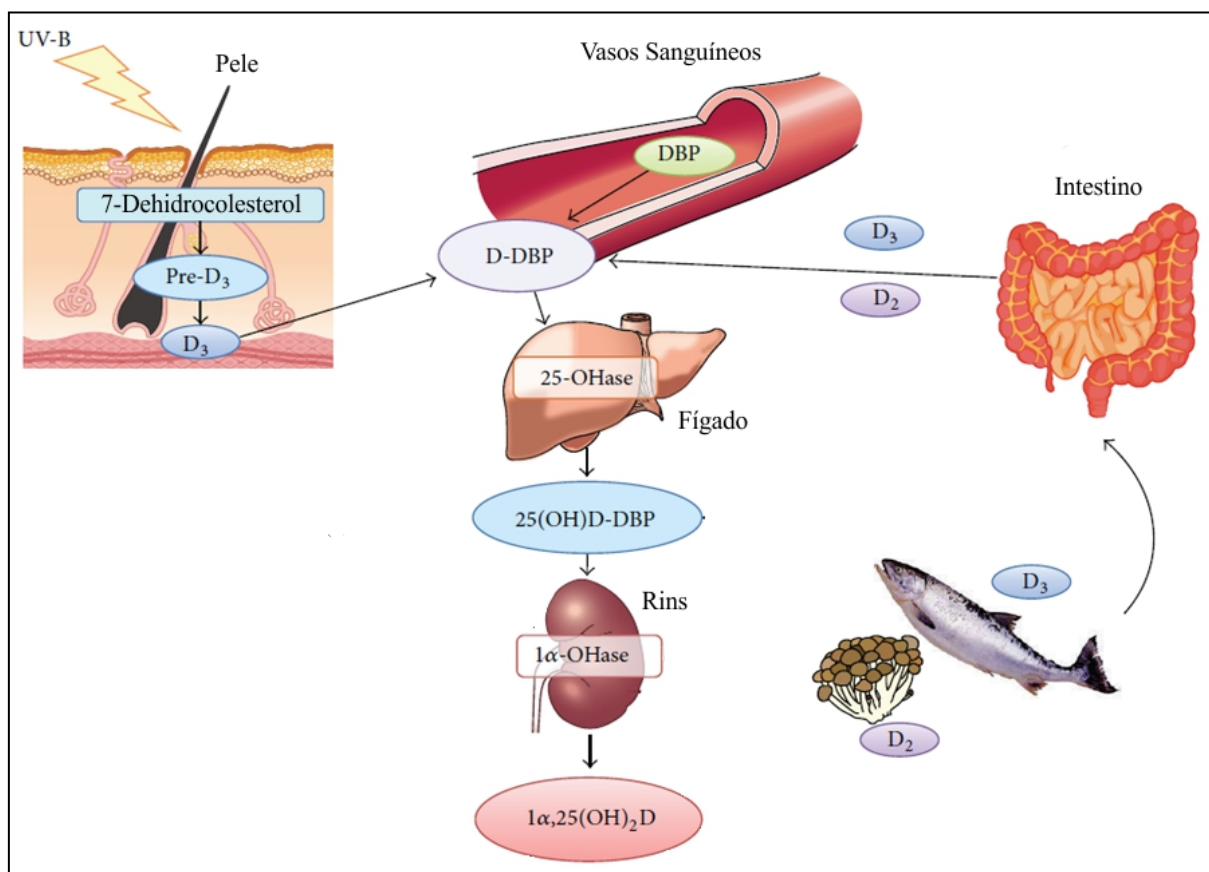


Figura 1. Metabolismo da Vitamina D. Adaptado de Obi et al. (2015) (111).

Para alguns autores os valores de $25(\text{OH})\text{D}_3$ devem variar de 20 a 32 ng/mL de forma a estabelecer a homeostase do cálcio e a saúde óssea. Para alguns

especialistas, o ponto de corte de 30ng/mL de 25(OH)D₃ são ideais para correção do hiperparatiroidismo secundário, redução de quedas e fraturas e absorção máxima de cálcio (105,112,113). Dessa forma, estabelece-se que: suficiência > 30 ng/mL; insuficiência 20 a 29 ng/mL; deficiência < 20 ng/mL (109,110,113). Segundo esses valores estabelecidos e aceitos pela *Endocrine Society* e *Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM)*, a hipovitaminose D pode ser considerada quando os valores de 25(OH)D₃ forem inferiores a 30 ng/mL. O que difere do estabelecido pelo *Institute of Medicine (IOM)*, que considera quando os valores são inferiores a 20 ng/mL (95,109,112,114–117).

Ao se considerar os valores de referência para 25(OH)D₃ estabelecidos pelo IOM, quando os níveis séricos são menores que 20 ng/mL, estima-se que a deficiência entre homens e mulheres idosos nos Estados Unidos, Europa e Canadá cheguem próximos a 100% (112). Mesmo o Brasil sendo um país com grande incidência solar, a hipovitaminose D é encontrada em diferentes gêneros e faixas etárias. Em um estudo realizado com mulheres, a deficiência foi encontrada 20% em mulheres com idades entre 50 e 60 anos e até 80% em idades superiores (118). Outro estudo, realizado com a população brasileira, relatou a hipovitaminose em 60% dos adolescentes, 40 a 59% dos adultos jovens e 42 a 83% em idosos (118).

A suplementação das necessidades diárias de vitamina D, bem como o tratamento de sua insuficiência deve ser realizada em indivíduos com risco para hipovitaminose D e em indivíduos privados da exposição solar (95). Tanto a vitamina D₃ (colecalfiferol) ou D₂ (ergocalciferol) podem ser usados no tratamento ou suplementação. Porém, a preferência se dá pela vitamina D₃ que possui vantagens na manutenção de sua concentração sérica (119). Para Holick et al. (2011), a cada 100 UI suplementadas ocorre um aumento de 1,0 ng/mL nos níveis séricos de

25(OH)D. Para a *Endocrine Society*, é recomendável a suplementação de crianças menores de 1 ano com no mínimo 400 UI/dia; de 1 a 70 anos pelo menos 600 UI/dia e idosos acima de 70 anos, 800 UI/dia (112).

A determinação dos níveis séricos da 25(OH)D₃ pode estar relacionado com diversos fatores como baixa exposição a luz solar, estações do ano, localização geográfica, etnia e uso de protetores solares. A idade também é um fator determinante nos níveis séricos de 25(OH)D₃. Isso porque o envelhecimento diminui a concentração de 7-DHC na derme, reduzindo em até 75% da capacidade de indução da síntese cutânea (120,121). Outra situação que pode interferir nos níveis séricos de 25(OH)D₃ é a obesidade e comorbidades como hipertrigliceridemia e síndrome metabólica. A provável causa dessa deficiência é o fato de que muitos estudos têm demonstrado efeitos significantes da 1 α ,25(OH)₂D₃ em adipócitos (120,122).

Os efeitos fisiológicos da vitamina D são mediados pelo fator de transcrição nuclear associados ao Receptor de Vitamina D (VDR) situado no núcleo celular (123). Sua forma ativa se liga às proteínas transportadoras do sangue e se liga ao VDR após penetrar na membrana celular. Estes complexos se ligam ao Receptor do Ácido Retinóico (RXR) e em seguida às sequências específicas do DNA, também conhecidas como Elementos de Resposta à Vitamina D (124,125). A partir daí formam uma cascata de interações moleculares que irão modular a transcrição e a supressão de genes específicos, como àqueles envolvidos na absorção intestinal de cálcio e metabolismo ósseo, crescimento e diferenciação celular e imunomodulação (126,127).

O VDR é um membro da família de receptores de hormônios esteroides com um domínio conservado de ligação ao DNA, uma região de ligação à 1 α ,25(OH)₂D₃ e um domínio de ativação transcricional (128–130). Além do núcleo,

acredita-se que também exista um VDR de membrana para realizar as ações rápidas da vitamina D. O VDR é expresso em diversos tecidos e células do organismo, inclusive àquelas que expressam a 1α -hidroxilase, enzima responsável pela hidroxilação da $25(\text{OH})\text{D}_3$ para $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, forma ativa da vitamina D (131,132). Assim, alguns autores sugerem o efeito parácrino/autócrino da vitamina D (128,133).

O gene responsável pela síntese do VDR (gene *VDR*) está localizado no cromossomo 12, posição 12q13.11 (**Figura 2**). O gene *VDR* possui 11 éxons distribuídos entre as regiões 5' promotora e 3' regulatória, responsável pela regulação gênica. A região codificante, éxons 2 a 9, é a responsável pela expressão de proteínas estruturares do receptor VDR (134). Esse gene possui variações genéticas em sítios de enzimas de restrição que podem ou não ter efeitos biológicos denominados polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs) (127). Quando localizados em sítios de enzima de restrição esses SNPs geram Polimorfismos de Fragmento de Restrição (RFLP) (135).

Os SNPs podem ocorrer em duas regiões distintas dos genes, sendo elas o íntrons e os éxons. Os íntrons são partes não codificadoras do gene, as quais não afetam as proteínas. Já os éxons são as regiões regulatórias do gene, que podem afetar o padrão de expressão do RNAm, sua estabilidade e sua tradução em proteína (136). As variações nos SNPs ocorrem em uma única posição do par de bases do DNA genômico, com frequência de mais de 1% na população humana (137).

Dessa forma, os SNPs podem ser peça fundamental para explicar as variações nos riscos de doença (139). Os polimorfismos relacionados ao gene *VDR* podem estar relacionados com a produção de peptídeos antimicrobianos como a catelicidina, já que o gene medeia a transativação da síntese de LL-37 (140). Níveis inferiores a 20ng/mL de vitamina D determinam incapacidade na produção de LL-37

e suscetibilidade para infecções nosocomiais, pneumonias sepses e infecção do sistema nervoso central por *Mycobacterium tuberculosis* (134,141). Dentre os diversos SNPs descritos no gene *VDR* para associação genética, *Fok* (rs731236), *Bsm* (rs1544410), *Apa* (rs7975232) e *Taq* (rs731236) são os mais utilizados, indicados na **Figura 2** (142–145).

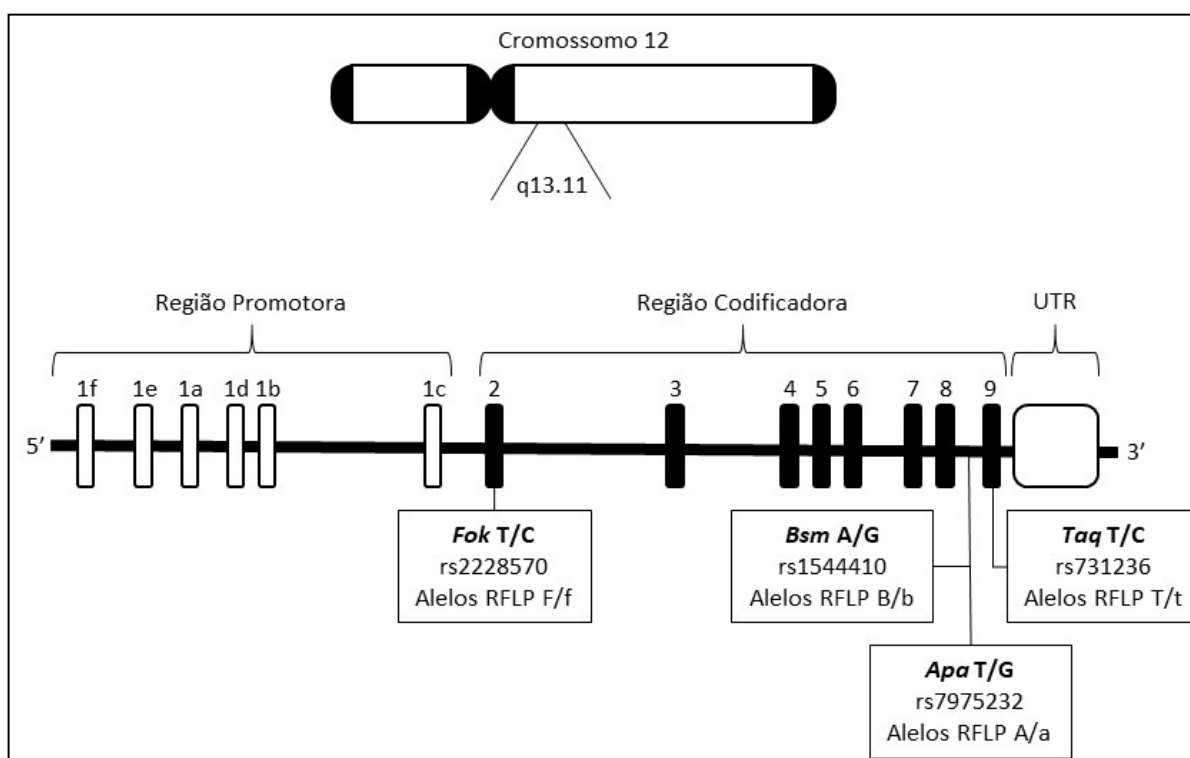


Figura 2. Estrutura do gene *VDR* e localização dos SNPs *Fok* (rs731236), *Bsm* (rs1544410), *Apa* (rs7975232) e *Taq* (rs731236). Adaptado de Colombini et al., 2016 (138).

O SNP *Fok* (rs2228570) está localizado no éxon 2 do gene *VDR* e consiste na transição de uma base timina por uma base citosina (T-C), criando um códon de início adicional (ATG → ACG). O códon ATG (f) codifica a proteína *VDR* completa (427 aminoácidos), enquanto o códon ACG (F) muda o local de início de tradução e sintetiza uma proteína com 3 aminoácidos a menos (146). A versão curta dessa

proteína promove uma maior atividade transcricional e sugere-se que a mesma tenha uma melhor resposta à $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (147,148). Esse SNP tem sido estudado para diversos tipos de doenças como câncer de mama, DM, esclerose múltipla e densidade mineral óssea em crianças (149–151). Na DC, Leon Rodriguez et al. (2016) verificaram que existe uma associação entre o polimorfismo *Fok* (rs2228570) do gene *VDR* e o risco de desenvolver a forma cardíaca (15).

O SNP *Taq* (rs731236) está localizado no éxon 9, uma região transcritora, e é caracterizado pela troca de uma base timina por uma base citosina (T-C). Essa troca de bases não altera o aminoácido sintetizado, já que os códons ATT e ATC são codificados em Isoleucina (152). Os SNPs *Apa* (rs7975232) e *Bsm* (rs1544410) estão localizados no íntron 8 e estão associados à diversas doenças. Enquanto *Apa* é caracterizado pela troca da base timina pela base guanina (T-G), *Bsm* é caracterizado pela troca da base adenina pela base guanina (A-G). Essas trocas de bases nitrogenadas também não alteram o aminoácido resultante, porém, alguns autores supõem que possa haver um desequilíbrio de ligação com outro fator genético ou alteração na estabilidade do RNAm (134,153,154).

Em relação às doenças infecciosas como a tuberculose, Selvaraj et al. (2004) sugeriram que os SNPs *Bsm* (rs1544410) e *Taq* (rs731236) e os haplótipos *Bsm/Apa/Taq* reduziram atividade fagocítica de macrófagos infectados com *M. tuberculosis* (155). Salimi et al. (2015) também encontraram associação do polimorfismo *Fok* (rs731236) com a susceptibilidade de tuberculose pulmonar (134). Neela et al. (2015) encontraram associação entre as variantes *Fok* (rs731236) e *Apa* (rs7975232) com a hanseníase bem como genótipos que podem contribuir para o risco de desenvolvimento da doença (156).

1.3. Vitamina D e o Sistema Imune

A hipovitaminose D também tem papel importante no sistema imune do organismo, devido a sua atividade imunomoduladora (157,158). Os níveis circulantes de vitamina D têm influência direta sobre a maturação, crescimento, diferenciação, apoptose, adesão celular, produção e inibição de citocinas, expressão de peptídeos antimicrobianos em diferentes células do sistema imune e aumento do “burst oxidativo”, sobretudo em macrófagos (159–162). A vitamina D também facilita a motilidade dos neutrófilos e a função fagocítica, reduzindo as respostas inflamatórias locais e sistêmicas (141,163). Isso pode estar relacionado ao fato de que o VDR está expresso nas células do sistema imunológico (161).

A forma ativa da vitamina D, a $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, inibe a proliferação de linfócitos B e induz a apoptose, reduzindo a geração de células B de memória, a diferenciação em plasmócitos e produção de imunoglobulinas (164). Em células dendríticas, a $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ também pode estimular a produção de IL-10, inibir o desenvolvimento celular, diminuir a capacidade de apresentação de antígeno – reduzindo a expressão de MHC-II e moléculas coestimuladoras –, e produção de IL-12, com consequente desenvolvimento de linfócitos Th1 (164–167). Nos monócitos e macrófagos, a $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pode aumentar a capacidade de quimiotaxia, fagocitária e produção de IL-10 e catelicidinas (168).

Nas células T ativas a expressão de VDR e 1- α -hidroxilase reduz a produção de INF- γ , IL-2, IL-6, IL-17, IL-22 e IL-23 e aumenta a produção de IL-4, IL-5 e IL-10 (164,167–171). Há também a inibição da estimulação de Th1 e Th17 e proliferação de Th2 e outras células T (169–174). A estimulação de resposta baseada em Th2 pode combater infecções causadas por microrganismos extracelulares como

parasitas, protozoários e fungos através de imunoglobulinas IgE e eosinofilia (175–177)

Enfim, pouco se sabe sobre quais são os níveis ideais de vitamina D que podem influenciar o bom funcionamento do sistema imunológico. Porém, estima-se que o mesmo seja diferente do necessário para prevenir a hipovitaminose D e a hipocalcemia (118).

A capacidade da vitamina D em modular o sistema imune inato representa um importante papel no combate a diversas doenças infecciosas. Isso se dá pelo fato de que a vitamina D regula a expressão de peptídeos antimicrobianos, que são responsáveis pela eliminação de patógenos e por isso considerados antibióticos endógenos. Esses peptídeos antimicrobianos possuem um espectro de atividade contra diversos microrganismos como bactérias gram-positivas e gram-negativas, vírus e fungos (178). Dentre os peptídeos antimicrobianos produzidos e que sofrem influência da vitamina D é possível citar a catelicidina e β -defensinas, que são encontrados em neutrófilos, monócitos, células NK e células epiteliais que revestem o trato respiratório (179,180).

O uso de vitamina D na prevenção e tratamento de doenças bacterianas, como a tuberculose, tem sido amplamente discutido. A administração de altas doses pode aumentar significativamente o ganho de peso e reduzir as taxas de conversão da tuberculina. Outros estudos sugerem que a ação antimicrobiana da vitamina D está relacionada ao estímulo da produção de catelicidina e o aumento de INF- γ induzido pelo *Mycobacterium tuberculosis* (181–184).

Em infecções virais, Aloia et al. (2007) observaram que houve uma diminuição nos sintomas da gripe e resfriado em pessoas que fizeram a suplementação com vitamina D (185). Nas infecções causadas pelo HIV, Chun et al.

(2015) confirmaram que a suplementação com vitamina D melhora a resposta imunológica antibacteriana em indivíduos com HIV (186). Em outro estudo conduzido por Guzmán-Fulgencio et al. (2014), os mesmos associaram a deficiência de vitamina D com a gravidade da doença hepática em pacientes coinfectados com HIV e HCV (187). Na infecção pelo HCV, Villar et al. (2013) observaram a deficiência de vitamina D nos indivíduos e boa resposta virológica contra o HCV em indivíduos com níveis elevados ou sob uso de suplementação de vitamina D (VILLAR et al., 2013).

Os estudos sobre a suplementação de vitamina D em outras doenças infecciosas causadas por fungos, protozoários e outros parasitas são limitados (188). Um estudo conduzido por Lim et al. (2015) demonstrou que pacientes infectados com *Candida albicans* possuíam níveis baixos de vitamina D e que a suplementação em baixas doses da mesma aumenta a imunidade do hospedeiro e melhora a resistência contra a infecção (189). Snyman et al. (1997) observaram que a suplementação de vitamina D na esquistossomose aumentou os níveis de eosinófilos ativados e anticorpos específicos quando combinado com terapia antiparasitária (190).

O uso de vitamina D como terapia adjuvante no controle de infecções causadas por *Leishmania spp* é sugerido por Ramos-Martínez et al. (2015), já que a mesma tem envolvimento com inflamação e cicatrização de feridas (191).

Na malária cerebral alguns autores sugerem que a vitamina D tem influência na patogênese imune. Em um estudo experimental observou-se que a vitamina D reduziu o risco da doença em camundongos (192). Em outro estudo, verificou-se que a hipovitaminose D pode desempenhar um papel no desenvolvimento da malária cerebral grave em crianças (193).

Na infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, Leon Rodriguez et al. (2016) sugeriram que a vitamina D influencia a resposta inflamatória, regulando a expressão

de citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ , IL-12 e IL-17 e assim favorecendo a persistência parasitária, o que pode aumentar a predisposição para o desenvolvimento de complicações mais graves da DC (194).

1.4. Catelicidina e os Peptídeos Antimicrobianos

Os peptídeos antimicrobianos são moléculas responsáveis pela eliminação de patógenos, influenciados ou não pela vitamina D. Possuem atividade contra diversos microrganismos como bactérias, vírus, fungos e parasitas, sendo assim considerados antibióticos endógenos (178,195–197). Dentre os peptídeos antimicrobianos produzidos e que sofrem influência da vitamina D é possível citar a catelicidina e β -defensinas, que são encontrados em diversas células do sistema imune como neutrófilos, monócitos, macrófagos, células dendríticas, células NK e linfócitos (179,180,198,199).

As catelicidinas estão presentes em diversas espécies de mamíferos. Em humanos, a catelicidina possui apenas um gene ativo identificado, o *LL-37*, um peptídeo longo com 37 aminoácidos e ampla atividade antimicrobiana (200). A produção da catelicidina ocorre a partir da proteína antimicrobiana catiônica humana de 18 kDa (hCAP18), que tem sua forma precursora inativa em grânulos de neutrófilos. Em infecções ou dano celular, a ativação de receptores tipo Toll (TLR) ou citocinas estimulam a degranulação dessas células fazendo com que a hCAP18 seja liberada no meio intracelular e processado por proteases no peptídeo LL-37, a forma ativa da catelicidina (201–203).

O LL-37 também modula a resposta imune, aumentando a liberação de citocinas e quimiocinas com efeitos quimiotáticos em diversas células, favorecendo a defesa do hospedeiro e a inflamação, com a angiogênese, arteriogênese e

cicatrização de feridas (204–209). Diversos estudos ainda relacionam o LL-37 como modulador do crescimento tumoral e metástase de diversos tipos de cânceres (204,210).

Além de células do sistema imune, o LL-37 também é expresso no sistema tegumentar, respiratório, reprodutor, células epiteliais do intestino e na superfície ocular (211–214). O mesmo também pode ser detectado em diversos fluídos corporais tais como plasma, suor, sêmen, urina e leite materno (215–218).

A atividade antibacteriana do LL-37 está relacionada à sua capacidade de rompimento de membranas devido a sua formação em α -hélice em solução aquosa, e tem sido relacionada à capacidade de combater diversas bactérias como *Neisseria gonorrhoeae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* (200,219–222). Além disso, alguns estudos sugerem que o LL-37 tem importante papel na prevenção da formação de biofilmes bacterianos (223,224).

O LL-37 também tem se mostrado efetiva no tratamento e prevenção de infecções fúngicas como as causadas por *Candida albicans* (225,226). Essa atividade está relacionada com a capacidade do LL-37 comprometer a membrana fúngica, induzir a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (197).

O papel do LL-37 em infecções virais têm sido objeto de estudo por diversos autores com atividade para diversos tipos de vírus. O LL-37 vem sendo descrito como um potente antiviral em infecções causadas pelo vírus da Influenza, sobretudo na proteção e no aumento na defesa do hospedeiro humano (196,227,228). A atividade antiviral também foi demonstrada *in vitro* por Currie et al. (2013) contra o Vírus Sincicial Respiratório (RSV), responsável por uma das principais doenças do trato respiratório (229). Nas infecções pelo Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1 (HIV-1), foi verificado que o LL-37 inibe a replicação do vírus e contribui para a proteção

local contra a infecção (230). Além disso, Honda et al. (2014) verificaram que pacientes com HIV-1 não tratados possuíam menores níveis de LL-37, sugerindo a adoção de terapias que aumentem os níveis de catelicidina e melhorem a condição clínica desses pacientes (231).

Os estudos referentes à atividade antiparasitária dos peptídeos antimicrobianos, sobretudo das catelicidinas, são escassos. Rico-Mata et al. (2013) investigaram os efeitos da catelicidina e três peptídeos derivados desta molécula sobre a integridade de trofozoítos de *Entamoeba histolytica*, verificando que a mesma possui atividade contra a integridade do protozoário (195). McWire et al. (2003) também estudaram a atividade dos peptídeos antimicrobianos experimentalmente na infecção pelo *Trypanosoma brucei*, agente causador da doença do sono, a qual a catelicidina foi a mais efetiva ao eliminar os tripanosomas de insetos e da circulação sanguínea (232).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

- **Artigo I:**

- o Verificar as comorbidades associadas ao risco cardiovascular e obesidade na doença de Chagas;

- **Artigo II:**

- o Determinar os níveis séricos de 25(OH)D₃, catelicidina LL-37 e polimorfismos do gene *VDR* em pacientes adultos do sexo masculino na fase crônica da doença de Chagas com as formas clínicas cardíaca e indeterminada.

2.2. Objetivos Específicos

- **Artigo I:**

- o Descrever e conhecer os fatores de risco e características clínicas e epidemiológicas para doenças cardiovasculares e obesidade na população de indivíduos com doença de Chagas Crônica atendidos no Ambulatório de Doenças Tropicais do Hospital das Clínicas de Botucatu.

- **Artigo II:**

- o Determinar os níveis séricos de 25(OH)D₃ e catelicidina LL-37 e sua relação com as formas clínicas da DC e índice de massa corpórea (IMC);
- o Caracterizar os polimorfismos Fok (rs731236), Bsm (rs1544410), Apa (rs7975232) e Taq (rs731236) do gene *VDR* e associar com os níveis séricos de 25(OH)D e catelicidina LL-37;

- o Relacionar a frequência dos polimorfismos Fok (rs731236), Bsm (rs1544410), Apa (rs7975232) e Taq (rs731236) do gene VDR com as formas clínicas da DC.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Malafaia G, Rodrigues ASL. Centenário do descobrimento da doença de Chagas: desafios e perspectivas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010;43(5):483–5.
2. Chagas C. Nova tripanozomíase humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1909;1(2):159–218.
3. Dias J, Silveira A, Schofield C. The impact of chagas disease control in Latin America - a review. *Mem Inst Oswaldo*. 2002;97(5):603–12.
4. Chagas disease in the 21st century: a public health success or an emerging threat? *Parasite*. 2014;21:11.
5. Pereira PC, Navarro E, Pereira PCM, Navarro EC. Challenges and perspectives of Chagas disease: a review. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2013;19(1):34.
6. Nóbrega AA, Araújo WN, Vasconcelos AMN. Mortality due to chagas disease in Brazil according to a specific cause. *Am J Trop Med Hyg*. 2014;91(3):528–33.
7. Hotez PJ, Bottazzi ME, Strych U, Chang L-Y, Lim YAL, Goodenow MM, et al. Neglected tropical diseases among the Association of Southeast Asian Nations (ASEAN): overview and update. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(4):e0003575.
8. Perez-Molina JA, Perez-Ayala A, Parola P, Jackson Y, Odolini S, Lopez-Velez R. EuroTravNet: imported Chagas disease in nine European countries, 2008 to 2009. *Euro Surveill*. 2011;16(37):1–5.
9. Kirchhoff LV. Epidemiology of American trypanosomiasis (Chagas disease). *Adv Parasitol*. 2011;75:1–18.
10. Bern C, Montgomery SP. An estimate of the burden of Chagas disease in the United States. *Clin Infect Dis*. 2009;49(5):e52-4.
11. Gascon J, Bern C, Pinazo MJ. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Trop*. 2010;115(1-2):22–7.
12. Bern C, Kjos S, Yabsley MJ, Montgomery SP. *Trypanosoma cruzi* and chagas' disease in the United States. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24(4):655–81.
13. Rassi Jr A, Rassi A, Marcondes de Rezende J. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). *Infect Dis Clin North Am*. 2012;26(2):275–91.
14. Lee BY, Bacon KM, Bottazzi ME, Hotez PJ. Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(4):342–8.
15. Franco-Paredes C, Von A, Hidron A, Rodríguez-Morales AJ, Tellez I, Barragán M, et al. Chagas disease: an impediment in achieving the Millennium Development Goals in Latin America. *BMC Int Health Hum Rights*. 2007;7(1):7.
16. WHO Expert Committee on the Control of Chagas Disease. Control of Chagas disease: second report of the WHO expert committee. Geneva: World Health

- Organization; 2002. (WHO technical report series; 905.
17. Castillo-Riquelme M, Guhl F, Turriago B, Pinto N, Rosas F, Martínez MF, et al. The costs of preventing and treating Chagas disease in Colombia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(11):e336.
 18. Moncayo Á, Silveira AC. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104 Suppl 1:17–30.
 19. Ministério da Saúde (BR). Guia de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2014. 812 p.
 20. Galvão C, Carcavallo RU, Da Silva Rocha D, Jurberg J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa*. 2003;36(202):1–36.
 21. Costa J, Almeida CE, Dotson EM, Lins A, Vinhaes M, Silveira AC, et al. The Epidemiologic importance of triatoma brasiliensis as a Chagas disease vector in Brazil: a revision of domiciliary captures during 1993-1999. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003;98(4):443–9.
 22. Schofield CJ, Galvão C. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. *Acta Trop*. 2009;110(2–3):88–100.
 23. Dias JCP. Southern Cone Initiative for the elimination of domestic populations of *Triatoma infestans* and the interruption of transfusion Chagas disease: historical aspects, present situation, and perspectives. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102 Suppl 1:11–8.
 24. Gourbière S, Dorn P, Tripet F, Dumonteil E. Genetics and evolution of triatomines: from phylogeny to vector control. *Heredity (Edinb)*. 2012;108(3):190–202.
 25. Silveira AC. New challenges and the future of control. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2011;44(2):122–4.
 26. Organização Pan-Americana da Saúde. Doença de Chagas: guia para vigilância , prevenção, controle e manejo clínico da doença e chagas aguda transmitida por alimentos. Rio de Janeiro: PANAFTOSA-VP/OPAS/OMS; 2009. 92 p.
 27. Dias JCP. Doença de Chagas e transfusão de sangue no Brasil: vigilância e desafios. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2006;28(2):83–4.
 28. Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiology & risk factors. Atlanta: CDC; 2015.
 29. Garcia ES, Ratcliffe NA, Whitten MM, Gonzalez MS, Azambuja P. Exploring the role of insect host factors in the dynamics of *Trypanosoma cruzi*-*Rhodnius prolixus* interactions. *J Insect Physiol*. 2007;53(1):11–21.

30. Souza W, Maria T, Carvalho U, Barrias ES, Souza W, Carvalho TMU. Review on *Trypanosoma cruzi*: Host Cell Interaction. *Int J Cell Biol*. 2010; pii:295394. doi: 10.1155/2010/295394.
31. Higgs HN, Peterson KJ. Phylogenetic analysis of the formin homology 2 domain. *Mol Biol Cell*. 2005;16(1):1–13.
32. Junqueira Jr LF. Insights into the clinical and functional significance of cardiac autonomic dysfunction in Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2012;45(2):243–52.
33. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis*. 2001;1(2):92–100.
34. Rassi A, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet*. 2010;375(9723):1388–402.
35. Martins-Melo FR, Ramos AN, Alencar CH, Heukelbach J. Prevalence of Chagas disease in Brazil: A systematic review and meta-analysis. *Acta Trop*. 2014;130(1):167–74.
36. Navarro EC, Abreu MM, Tavares FC, Corrente JE, Arruda CM, Câmara P, et al. Indeterminate form of Chagas' disease and metabolic syndrome: a dangerous combination. *Am J Med Sci*. 2013;3(4):68–73.
37. Rocha MOC, Ribeiro ALP, Teixeira MM. Clinical management of chronic Chagas cardiomyopathy. *Front Biosci*. 2003;8:e44-54.
38. Figueirêdo SS, Carvalho TN, Nóbrega BB, Ribeiro FAS, Teixeira K-I-SS, Ximenes CA. Caracterização radiográfica das manifestações esofagogastrointestinais da doença de Chagas. *Radiol Bras*. 2002;35(5):293–7.
39. Santos CM, Cassiani RA, Dantas RO. Avaliação clínica da deglutição na doença de Chagas. *Rev Soc Bras Fonoaudiol*. 2011;16(2):215–20.
40. Nunes MCP, Dones W, Morillo CA, Encina JJ, Ribeiro AL. Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(9):767–76.
41. Coura JR. Chagas disease: what is known and what is needed - A background article. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;102 Suppl 1:113–22.
42. Rocha MOC, Nunes MCP, Ribeiro AL. Morbidity and prognostic factors in chronic chagasic cardiopathy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104 Suppl 1:159–66.
43. Rassi Jr A, Marin Neto JA, Rassi A, Rassi Jr A, Marin Neto JA, Rassi A. Chronic Chagas cardiomyopathy: a review of the main pathogenic mechanisms and the efficacy of aetiological treatment following the BENznidazole Evaluation for Interrupting Trypanosomiasis (BENEFIT) trial. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2017;112(3):224–35.

44. Coura JR, Dias JCP. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease: 100 years after its discovery. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104 Suppl 1:31–40.
45. Britto C, Silveira C, Cardoso MA, Marques P, Luquetti A, Macêdo V, et al. Parasite persistence in treated chagasic patients revealed by xenodiagnosis and polymerase chain reaction. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001;96(6):823–6.
46. Dias JCP, Ramos Jr NA, Gontijo ED, Luquetti A, Shikanai-Yasuda AM, Coura JR, et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. *Epidemiol Serv Saúde*. 2016;25(21):1–10.
47. Duffy T, Bisio M, Altcheh J, Burgos JM, Diez M, Levin MJ, et al. Accurate real-time PCR strategy for monitoring bloodstream parasitic loads in chagas disease patients. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(4):e419.
48. Leirião P, Rodrigues CD, Albuquerque SS, Mota MM. Survival of protozoan intracellular parasites in host cells. *EMBO Rep*. 2004;5(12):1142–7.
49. Denkers EY, Butcher BA. Sabotage and exploitation in macrophages parasitized by intracellular protozoans. *Trends Parasitol*. 2005;21(1):35–41.
50. Golgher D, Gazzinelli RT. Innate and acquired immunity in the pathogenesis of Chagas disease. *Autoimmunity*. 2004;37(5):399–409.
51. Junqueira C, Caetano B, Bartholomeu DC, Melo MB, Ropert C, Rodrigues MM, et al. The endless race between *Trypanosoma cruzi* and host immunity: lessons for and beyond Chagas disease. *Expert Rev Mol Med*. 2010;12:e29.
52. Gazzinelli RT, Denkers EY. Protozoan encounters with Toll-like receptor signalling pathways: implications for host parasitism. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(12):895–906.
53. Antúnez MI, Cardoni RL. IL-12 and IFN- γ production, and NK cell activity, in acute and chronic experimental *Trypanosoma cruzi* infections. *Immunol Lett*. 2000;71(2):103–9.
54. Aliberti JC, Cardoso MA, Martins GA, Gazzinelli RT, Vieira LQ, Silva JS. Interleukin-12 mediates resistance to *Trypanosoma cruzi* in mice and is produced by murine macrophages in response to live trypomastigotes. *Infect Immun*. 1996;64(6):1961–7.
55. Gazzinelli RT, Oswald IP, Hieny S, James SL, Sher A. The microbicidal activity of interferon- γ -treated macrophages against *Trypanosoma cruzi* involves an L-arginine-dependent, nitrogen oxide-mediated mechanism inhibitable by interleukin-10 and transforming growth factor- β . *Eur J Immunol*. 1992;22(10):2501–6.
56. Silva JS, Vespa GN, Cardoso MA, Aliberti JC, Cunha FQ. Tumor necrosis factor alpha mediates resistance to *Trypanosoma cruzi* infection in mice by inducing nitric oxide production in infected gamma interferon-activated macrophages. *Infect Immun*. 1995;63(12):4862–7.

57. Hunter CA, Ellis-Neyes LA, Slifer T, Kanaly S, Grünig G, Fort M, et al. IL-10 is required to prevent immune hyperactivity during infection with *Trypanosoma cruzi*. *J Immunol*. 1997;158(7):3311–6.
58. Vago AR, Andrade LO, Leite AA, d'Avila Reis D, Macedo AM, Adad SJ, et al. Genetic characterization of *Trypanosoma cruzi* directly from tissues of patients with chronic Chagas disease: differential distribution of genetic types into diverse organs. *Am J Pathol*. 2000;156(5):1805–9.
59. Macedo AM, Pena SDJ. Genetic variability of *Trypanosoma cruzi*: Implications for the pathogenesis of Chagas disease. *Parasitol Today*. 1998;14(3):119–24.
60. Macedo AM, Machado CR, Oliveira RP, Pena SD. *Trypanosoma cruzi*: genetic structure of populations and relevance of genetic variability to the pathogenesis of chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99(1):1–12.
61. Urbina JA, Docampo R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends Parasitol*. 2003;19(11):495–501.
62. Marin-Neto JA, Rassi Jr A, Avezum Jr A, Mattos AC, Rassi A. The BENEFIT trial: testing the hypothesis that trypanocidal therapy is beneficial for patients with chronic Chagas heart disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104(6):319–24.
63. Chagas' disease--an epidemic that can no longer be ignored. *Lancet*. 2006;368(9536):619.
64. Oliveira BG, Abreu MNS, Abreu CDG, Rocha MOC, Ribeiro AL. Health-related quality of life in patients with Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2011;44(2):150–6.
65. Jessup M, Abraham WT, Casey DE, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, et al. 2009 focused update: ACCF/AHA Guidelines for the Diagnosis and Management of Heart Failure in Adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: developed in collaboration with t. *Circulation*. 2009;119(14):1977–2016.
66. Munari DB, Lucchese R, Medeiros M. Reflexões sobre o uso de atividades grupais na atenção a portadores de doenças crônicas. *Ciênc Cuid Saúde*. 2009;8:148–54.
67. Kamiji MM, Oliveira RB. O perfil dos portadores de doença de Chagas, com ênfase na forma digestiva, em hospital terciário de Ribeirão Preto, SP. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38(4):305–9.
68. Almeida EA, Barbosa Neto RM, Guariento ME, Wanderley JS, Souza ML. Apresentação clínica da doença de Chagas crônica em indivíduos idosos. Clinical presentation of chronic Chagas disease in elderly individuals. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(3):311–5.
69. Alves RMA, Thomaz RP, De Almeida EA, Wanderley JS, Guariento ME. Chagas' disease and ageing: The coexistence of other chronic diseases with Chagas'

- disease in elderly patients. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42(6):622–8.
70. Gallo Júnior L, Morelo Filho J, Maciel BC, Marin Neto JA, Martins LE, Lima Filho EC. Functional evaluation of sympathetic and parasympathetic system in Chagas' disease using dynamic exercise. *Cardiovasc Res*. 1987;21(12):922–7.
 71. Gurgel CBFM, Miguel Junior A, Mendes CR, Zerbini CO, Carcioni TM. Frequency of hypertension in chronic Chagas' disease: retrospective clinical study. *Arq Bras Cardiol*. 2003;81(6):545–8.
 72. Guariento ME, Orosz JEB, Gontijo JAR. Interação clínica entre moléstia de Chagas e hipertensão arterial primária em um serviço de referência ambulatorial. *Arq Bras Cardiol*. 1998;70(6):431–4.
 73. Teston EF, Cecilio HPM, Santos AL, Arruda GO, Radovanovic CAT, Marcon SS. Factors associated with cardiovascular diseases in adults. *Medicina (Ribeirao Preto)*. 2016;49(2):95.
 74. Pozzan R, Pozzan R, Magalhães MEC, Brandão AA, Brandão AP. Dislipidemia, síndrome metabólica e risco cardiovascular. *Rev SOCERJ*. 2004;17(2):97–102.
 75. Costa JV, Duarte JS. Tecido adiposo e adipocinas. Vol. 19, *Acta Medica Portuguesa*. 2006;19:251–6.
 76. Silva CC, Santos CA, Mostarda C, Krieger EM, Lopes HF. Blood pressure, metabolic and autonomic responses to insulin and intralipid infusion in chagasic patients. *Arq Bras Cardiol*. 2012;98(3):225–33.
 77. Nagajyothi F, Machado FS, Burleigh BA, Jelicks LA, Scherer PE, Mukherjee S, et al. Mechanisms of *Trypanosoma cruzi* persistence in Chagas disease. *Cell Microbiol*. 2012;14(5):634–43.
 78. Ferreira AVM, Segatto M, Menezes Z, Macedo AM, Gelape C, Oliveira Andrade L, et al. Evidence for *Trypanosoma cruzi* in adipose tissue in human chronic Chagas disease. *Microbes Infect*. 2011;13(12–13):1002–5.
 79. Tanowitz HB, Jelicks LA, Machado FS, Esper L, Qi X, Desruisseaux MS, et al. Adipose tissue, diabetes and Chagas disease. *Adv Parasitol*. 2011;76:235–50.
 80. Santos VM, Cunha SFC, Teixeira VPA, Monteiro JP, Santos JAM, Santos TAM, et al. Frequência de diabetes mellitus e hiperglicemia em mulheres chagásicas e não-chagásicas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1999;32(5):489–96.
 81. Lopes HF, Egan BM. Desequilíbrio autonômico e síndrome metabólica: parceiros patológicos em uma pandemia global emergente. *Arq Bras Cardiol*. 2006;87(4):538–47.
 82. Barbosa JB, Silva AAM, Barbosa FF, Monteiro Jr FC, Figueiredo Neto JA, Nina VJS, et al. Síndrome metabólica em ambulatório cardiológico. *Arq Bras Cardiol*. 2010;94(1):46–54.
 83. McLellan KCP, Barbalho SM, Cattalini M, Lerario AC. Diabetes mellitus do tipo

- 2, síndrome metabólica e modificação no estilo de vida. *Rev Nutr.* 2007;20(5):515–24.
84. Ribeiro Filho FF, Mariosa LS, Ferreira SRG, Zanella MT. Gordura visceral e síndrome metabólica: mais que uma simples associação. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006;50(2):230–8.
 85. Siqueira AFA, Abdalla DSP, Ferreira SRG. LDL: da síndrome metabólica à instabilização da placa aterosclerótica. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006;50(2):334–43.
 86. Mello VD, Laaksonen DE. Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no diabetes melito tipo 2. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009;53(5):509–18.
 87. Barroso E, Fernandez LP, Milne RL, Pita G, Sendagorta E, Floristan U, et al. Genetic analysis of the vitamin D receptor gene in two epithelial cancers: melanoma and breast cancer case-control studies. *BMC Cancer.* 2008;8(1):385.
 88. Navarro EC, Goto RL, Ricoboni IS, Corrente JE, Henriques RMS, Neves SL, et al. Seroprevalence of chagasic infection in young individuals in a Blood Center in the State of São Paulo, Brasil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2013;55(4):245–50.
 89. Geraix J, Ardisson LP, Marcondes-Machado J, Pereira PCMCM. Clinical and nutritional profile of individuals with chagas disease. *Braz J Infect Dis.* 2007;11(4):411–4.
 90. Lips P. Worldwide status of vitamin D nutrition. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010;121(1–2):297–300.
 91. González L, Ramos-Trautmann G, Díaz-Luquis GM, Pérez CM, Palacios C. Vitamin D status is inversely associated with obesity in a clinic-based sample in Puerto Rico. *Nutr Res.* 2015;35(4):287–93.
 92. Pereira-Santos M, Costa PR, Assis AMO, Santos CAST, Santos DB. Etiology and pathophysiology obesity and vitamin D deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2015;16(4):341–9.
- D deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2015;16:341–9.
93. Anderson JL, May HT, Horne BD, Bair TL, Hall NL, Carlquist JF, et al. Relation of vitamin D deficiency to cardiovascular risk factors, disease status, and incident events in a general healthcare population. *Am J Cardiol.* 2010;106(7):963–8.
 94. Kendrick J, Targher G, Smits G, Chonchol M. 25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis.* 2009;205(1):255–60.
 95. Maeda SS, Borba VZC, Camargo MBR, Silva DMW, Borges JLC, Bandeira F, et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D. *Arq Bras*

- Endocrinol Metabol. 2014;58(5):411–33.
96. Miller WL, Portale AA. Genetics of vitamin D biosynthesis and its disorders. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2001;15(1):95–109.
 97. Schmidt M, Duncan B, Silva G, Menezes A, Monteiro C, Barreto S. Doenças crônicas não-transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais. *Lancet.* 2011;377(9781):1949-62.
 98. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357(3):266–81.
 99. Norman AW, Bouillon R. Vitamin D nutritional policy needs a vision for the future. *Exp Biol Med.* 2010;235(9):1034–45.
 100. Holick MF. Vitamin D: evolutionary, physiological and health perspectives. *Curr Drug Targets.* 2011;12(1):4–18.
 101. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(4):1080S–6S.
 102. Prosser DE, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem Sci.* 2004;29(12):664–73.
 103. van Leeuwen JPTM, van den Bemd GJ, van Driel M, Buurman CJ, Pols HAP. 24,25-Dihydroxyvitamin D3 and bone metabolism. *Steroids.* 2001;66(3–5):375–80.
 104. James WPT. 22nd Marabou Symposium: the changing faces of vitamin D. *Nutr Rev.* 2008;66(10 Suppl 2):S213–7.
 105. Dawson-Hughes B, Harris SS, Palermo NJ, Ceglia L, Rasmussen H. Meal conditions affect the absorption of supplemental vitamin D3 but not the plasma 25-hydroxyvitamin D response to supplementation. *J Bone Miner Res.* 2013;28(8):1778–83.
 106. Donkena KV, Young CYF. Vitamin D, Sunlight and prostate cancer risk. *Adv Prev Med.* 2011;2011:1–13. doi: 10.4061/2011/281863.
 107. Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol.* 2009;19(2):73–8.
 108. Mosekilde L. Vitamin D and the elderly. *Clin Endoc (Oxf).* 2005;62(3):265–81.
 109. Heaney RP, Holick MF. Why the IOM recommendations for vitamin D are deficient. *J Bone Miner Res.* 2011;26(3):455–7.
 110. Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, Arnaud S, Galan P, Hercberg S, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int.* 1997;7(5):439–43.
 111. Obi Y, Hamano T, Isaka Y. Prevalence and prognostic implications of vitamin d deficiency in chronic kidney disease. *Dis Markers.* 2015;868961. doi:

10.1155/2015/868961.

112. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):1911–30.
113. Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr.* 2008;88(2):491S–9S.
114. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Guidelines for Preventing and Treating Vitamin D Deficiency and Insufficiency Revisited. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(4):1153–8.
115. Vieth R, Bischoff-Ferrari H, Boucher BJ, Dawson-Hughes B, Garland CF, Heaney RP, et al. The urgent need to recommend an intake of vitamin D that is effective. *Am J Clin Nutr.* 2007;85(3):649–50.
116. Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB, editors. Dietary reference intakes for calcium and vitamin D. Washington: National Academies Press; 2011.
117. Heaney RP, Dowell MS, Hale CA, Bendich A. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr.* 2003;22(2):142–6.
118. Bandeira F, Griz L, Freese E, Lima DC, Thé AC, Diniz ET, et al. Vitamin D deficiency and its relationship with bone mineral density among postmenopausal women living in the tropics. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2010;54(2):227–32.
119. Bandeira F, Griz L, Freese E, Lima DC, Thé AC, Diniz ET, et al. Vitamin D deficiency and its relationship with bone mineral density among postmenopausal women living in the tropics. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2010;54(2):227–32.
120. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2004;80(6):1678S–88S.
121. Souberbielle J-C, Cormier C, Kindermans C, Gao P, Cantor T, Forette F, et al. Vitamin D Status and Redefining Serum Parathyroid Hormone Reference Range in the Elderly. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(7):3086–90.
122. Vinh Quốc L Ng K, Nguyễn LTH. The beneficial role of vitamin D in obesity: possible genetic and cell signaling mechanisms. *Nutr J.* 2013;12(1):89. doi: 10.1186/1475-2891-12-89.
123. Sutton ALM, MacDonald PN. Vitamin D: more than a “bone-a-fide” hormone. *Mol Endocrinol.* 2003;17(5):777–91.
124. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, et al. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev.* 2008;29(6):726–76.

125. Carrillo-López N, Fernández-Martín JL, Cannata-Andía JB. Papel de calcio, calcitriol y sus receptores en la regulación de la paratiroides. *Nefrologia (Madr)*. 2009;29(2):103–8.
126. Borradaile D, Kimlin M. Vitamin D in health and disease: an insight into traditional functions and new roles for the “sunshine vitamin”. *Nutr Res Rev*. 2009;22(2):118–36.
127. Valdivielso JM, Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta*. 2006;371(1–2):1–12.
128. Hewison M. Vitamin D and immune function: autocrine, paracrine or endocrine? *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 2012;243:92–102.
129. Ramagopalan SV, Heger A, Berlanga AJ, Maugeri NJ, Lincoln MR, Burrell A, et al. A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution. *Genome Res*. 2010;20(10):1352–60.
130. Peixoto PV, Klem MAP, França TN, Nogueira VA. Vitamin D poisoning in animals. *Pesqui Vet Bras*. 2012;32(7):573–94.
131. Pike JW, Meyer MB. The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2010;39(2):255–69.
132. Hewison M, Zehnder D, Bland R, Stewart PM. 1 α -Hydroxylase and the action of vitamin D. *J Mol Endocrinol*. 2000;25(2):141–8.
133. Morris HA, Anderson PH. Autocrine and paracrine actions of vitamin d. *Clin Biochem Rev*. 2010;31(4):129–38.
134. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JBJ, Pols HAP, Van Leeuwen JPTM. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*. 2004;338(2):143–56.
135. Fang Y, van Meurs JBJ, D'Alesio A, Jhamai M, Zhao H, Rivadeneira F, et al. Promoter and 3'-untranslated-region haplotypes in the vitamin d receptor gene predispose to osteoporotic fracture: the rotterdam study. *Am J Hum Genet*. 2005;77(5):807–23.
136. Burton PR, Tobin MD, Hopper JL. Key concepts in genetic epidemiology. *Lancet*. 2005;366(9489):941–51.
137. Guerra R, Yu Z. Single nucleotide polymorphisms and their applications. In: Zhang W, Shmulevich I, editors. *Computational and statistical approaches to genomics*. 2nd ed. New York: Springer; 2006. Chap. 16, p. 311–49.
138. Colombini A, Brayda-Bruno M, Lombardi G, Croiset SJ, Ceriani C, Buligan C, et al. BsmI, Apal and TaqI polymorphisms in the Vitamin D Receptor gene (VDR) and association with lumbar spine pathologies: An Italian case-control study. *PLoS One*. 2016;11(5):e0155004.

139. Harvey JJ, Brant SR, Knutson JR, Han MK. SNP analysis using catacleave probes. *J Clin Lab Anal.* 2008;22(3):192–203.
140. Park K, Elias PM, Oda Y, Mackenzie D, Mauro T, Holleran WM, et al. Regulation of cathelicidin antimicrobial peptide expression by an endoplasmic reticulum (ER) stress signaling, vitamin D receptor-independent pathway. *J Biol Chem.* 2011;286(39):34121–30.
141. Jeng L, Yamshchikov AV, Judd SE, Blumberg HM, Martin GS, Ziegler TR, et al. Alterations in vitamin D status and anti-microbial peptide levels in patients in the intensive care unit with sepsis. *J Transl Med.* 2009;7:28. doi: 10.1186/1479-5876-7-28.
142. Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature.* 1994;367(6460):284–7.
143. Gross C, Krishnan A V., Malloy PJ, Eccleshall TR, Zhao X-Y, Feldman D. The Vitamin D Receptor Gene Start Codon Polymorphism: A Functional Analysis of FokI Variants. *J Bone Miner Res.* 1998;13(11):1691–9.
144. Faraco JH, Morrison NA, Baker A, Shine J, Frossard PM. Apal dimorphism at the human vitamin D receptor gene locus. *Nucleic Acids Res.* 1989;17(5):2150.
145. Zhao D-D, Yu D-D, Ren Q-Q, Dong B, Zhao F, Sun Y-H. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with susceptibility to childhood asthma: A meta-analysis. *Pediatr Pulmonol.* 2017;52(4):423–9.
146. Whitfield GK, Remus LS, Jurutka PW, Zitzer H, Oza AK, Dang HT, et al. Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene. *Mol Cell Endocrinol.* 2001;177(1–2):145–59.
147. Jurutka PW, Remus LS, Whitfield GK, Thompson PD, Hsieh J-C, Zitzer H, et al. The Polymorphic N Terminus in Human Vitamin D Receptor Isoforms Influences Transcriptional Activity by Modulating Interaction with Transcription Factor IIB. *Mol Endocrinol.* 2000;14(3):401–20.
148. Colin EM, Weel AE, Uitterlinden AG, Buurman CJ, Birkenhäger JC, Pols HA, et al. Consequences of vitamin D receptor gene polymorphisms for growth inhibition of cultured human peripheral blood mononuclear cells by 1, 25-dihydroxyvitamin D3. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2000;52(2):211–6.
149. Jakubowska-Pietkiewicz E, Młynarski W, Klich I, Fendler W, Chlebna-Sokół D. Vitamin D receptor gene variability as a factor influencing bone mineral density in pediatric patients. *Mol Biol Rep.* 2012;39(5):6243–50.
150. Cox MB, Ban M, Bowden NA, Baker A, Scott RJ, Lechner-Scott J. Potential association of vitamin D receptor polymorphism Taq1 with multiple sclerosis. *Mult Scler J.* 2012;18(1):16–22.
151. Barroso E, Fernandez LP, Milne RL, Pita G, Sendagorta E, Floristan U, et al. Genetic analysis of the vitamin D receptor gene in two epithelial cancers: melanoma and breast cancer case-control studies. *BMC Cancer.* 2008;8(1):385.

152. Ozisik G, Mergen H, Ozata M, Uyanik C, Caglayan S, Turan M, et al. Vitamin d-receptor gene polymorphisms and vertebral bone density in men with idiopathic hypogonadotrophic hypogonadism. *Med Sci Monit.* 2001;7(1234–1010):233–7.
153. Liu Y-Z, Liu Y-J, Recker RR, Deng H-W. Molecular studies of identification of genes for osteoporosis: the 2002 update. *J Endocrinol.* 2003;177(2):147–96.
154. van den Oord EJCG, MacGregor AJ, Snieder H, Spector TD. Modeling with Measured Genotypes: Effects of the Vitamin D Receptor Gene, Age, and Latent Genetic and Environmental Factors on Bone Mineral Density. *Behav Genet.* 2004;34(2):197–206.
155. Selvaraj P, Kurian SM, Chandra G, Reetha AM, Charles N, Narayanan PR. Vitamin D receptor gene variants of BsmI, ApaI, TaqI, and FokI polymorphisms in spinal tuberculosis. *Clin Genet.* 2004;65(1):73–6.
156. Neela VSK, Suryadevara NC, Shinde VG, Pydi SS, Jain S, Jonnalagada S, et al. Association of Taq I, Fok I and Apa I polymorphisms in Vitamin D Receptor (VDR) gene with leprosy. *Hum Immunol.* 2015;76(6):402–5.
157. Veldman CM, Cantorna MT, DeLuca HF. Expression of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) receptor in the immune system. *Arch Biochem Biophys.* 2000;374(2):334–8.
158. Toubi E, Shoenfeld Y. The role of vitamin D in regulating immune responses. *Isr Med Assoc J.* 2010;12(3):174–5.
159. Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, Holick MF, Grant WB, Madronich S, et al. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect.* 2006;134(6):1129–40.
160. Etten E van, Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: Basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005;97(1–2):93–101.
161. Alvarez-Rodriguez L, Lopez-Hoyos M, Garcia-Unzueta M, Amado JA, Cacho PM, Martinez-Taboada VM. Age and low levels of circulating vitamin D are associated with impaired innate immune function. *J Leukoc Biol.* 2012;91(5):829–38.
162. Staeva-Vieira TP, Freedman LP. 1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits IFN-gamma and IL-4 levels during in vitro polarization of primary murine CD4⁺ T cells. *J Immunol.* 2002;168(3):1181–9.
163. Lorente F, Fontan G, Jara P, Casas C, Garcia-Rodriguez MC, Ojeda JA. Defective neutrophil motility in hypovitaminosis D rickets. *Acta Paediatr Scand.* 1976;65(6):695–9.
164. Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory Effects of 1,25-Dihydroxyvitamin D3 on Human B Cell Differentiation. *J Immunol.* 2007;179(3):1634–47.
165. Mathieu C, Gysemans C, Giuliatti A, Bouillon R. Vitamin D and diabetes. *Diabetologia.* 2005;48(7):1247–57.

166. Hart PH, Gorman S, Finlay-Jones JJ. Modulation of the immune system by UV radiation: more than just the effects of vitamin D? *Nat Rev Immunol*. 2011;11(9):584–96.
167. Baeke F, Korf H, Overbergh L, van Etten E, Verstuyf A, Gysemans C, et al. Human T lymphocytes are direct targets of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the immune system. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2010;121(1–2):221–7.
168. Mora JR, Iwata M, von Andrian UH. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nat Rev Immunol*. 2008;8(9):685–98.
169. Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, Heath VL, Savelkoul HF, O'Garra A. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin d3 has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol*. 2001;167(9):4974–80.
170. Barrat FJ, Cua DJ, Boonstra A, Richards DF, Crain C, Savelkoul HF, et al. In vitro generation of interleukin 10-producing regulatory CD4(+) T cells is induced by immunosuppressive drugs and inhibited by T helper type 1 (Th1)- and Th2-inducing cytokines. *J Exp Med*. 2002;195(5):603–16.
171. Adorini L, Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008;4(8):404–12.
172. Bikle DD. Vitamin D and the immune system: role in protection against bacterial infection. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2008;17(4):348–52.
173. Khoo A-L, Joosten I, Michels M, Woestenenk R, Preijers F, He X-H, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits proliferation but not the suppressive function of regulatory T cells in the absence of antigen-presenting cells. *Immunology*. 2011;134(4):459–68.
174. Sigmundsdottir H. From the bench to the clinic: New aspects on immunoregulation by vitamin D analogs. *Dermatoendocrinol*. 2011;3(3):187–92.
175. Cox FEG, Liew FY. T-cell subsets and cytokines in parasitic infections. *Immunol Today*. 1992;13:445–8.
176. Romani L. Cell mediated immunity to fungi: a reassessment. *Med Mycol*. 2008;46(6):515–29.
177. Díaz A, Allen JE. Mapping immune response profiles: The emerging scenario from helminth immunology. *Eur J Immunol*. 2007;37(12):3319–26.
178. Niyonsaba F, Ushio H, Nakano N, Ng W, Sayama K, Hashimoto K, et al. Antimicrobial peptides human beta-defensins stimulate epidermal keratinocyte migration, proliferation and production of proinflammatory cytokines and chemokines. *J Invest Dermatol*. 2007;127(3):594–604.
179. Bartley J. Vitamin D: emerging roles in infection and immunity. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010;8(12):1359–69.
180. Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA. Association between serum 25-

- hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med*. 2009;169(4):384–90.
181. Hewison M. Antibacterial effects of vitamin D. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;7(6):337–45.
 182. Wejse C, Gomes VF, Rabna P, Gustafson P, Aaby P, Lisse IM, et al. Vitamin D as Supplementary Treatment for Tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;179(9):843–50.
 183. Salahuddin N, Ali F, Hasan Z, Rao N, Aqeel M, Mahmood F. Vitamin D accelerates clinical recovery from tuberculosis: results of the SUCCINCT Study [Supplementary Cholecalciferol in recovery from tuberculosis]. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of vitamin D supplementation in patients with pulmonar. *BMC Infect Dis*. 2013;13(1):22.
 184. Nursyam EW, Amin Z, Rumende CM. The effect of vitamin D as supplementary treatment in patients with moderately advanced pulmonary tuberculous lesion. *Acta Med Indones*. 2006;38(1):3–5.
 185. Aloia JF, Li-Ng M. Re: epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect*. 2007;135(7):1095-6-8.
 186. Chun RF, Liu NQ, Lee T, Schall JI, Denburg MR, Rutstein RM, et al. Vitamin D supplementation and antibacterial immune responses in adolescents and young adults with HIV/AIDS. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015;148:290–7.
 187. Guzmán-Fulgencio M, García-Álvarez M, Berenguer J, Jiménez-Sousa MÁ, Cosín J, Pineda-Tenor D, et al. Vitamin D deficiency is associated with severity of liver disease in HIV/HCV coinfectd patients. *J Infect*. 2014;68(2):176–84.
 188. Yamshchikov A, Desai N, Blumberg H, Ziegler T, Tangpricha V. Vitamin D for Treatment and Prevention of Infectious Diseases: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Endocr Pract*. 2009;15(5):438–49.
 189. Lim JHJ, Ravikumar S, Wang Y-M, Thamboo TP, Ong L, Chen J, et al. Bimodal Influence of Vitamin D in Host Response to Systemic Candida Infection—Vitamin D Dose Matters. *J Infect Dis*. 2015;212(4):635–44.
 190. Snyman JR, de Sommers K, Steinmann MA, Lizamore DJ. Effects of calcitriol on eosinophil activity and antibody responses in patients with schistosomiasis. *Eur J Clin Pharmacol*. 1997;52(4):277–80.
 191. Ramos-Martínez E, Gutierrez-Kobeh L, Villaseñor-Cardoso MI. The role of vitamin D in the control of Leishmania infection 1. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015;93(5):369–76.
 192. He X, Yan J, Zhu X, Wang Q, Pang W, Qi Z, et al. Vitamin D Inhibits the Occurrence of Experimental Cerebral Malaria in Mice by Suppressing the Host Inflammatory Response. *J Immunol*. 2014;193(3):1314–23.
 193. Cusick SE, Opoka RO, Lund TC, John CC, Polgreen LE. Vitamin D insufficiency

- is common in Ugandan children and is associated with severe malaria. *PLoS One*. 2014;9(12):e113185.
194. Leon Rodriguez DA, Carmona FD, González CI, Martin J. Evaluation of VDR gene polymorphisms in *Trypanosoma cruzi* infection and chronic Chagasic cardiomyopathy. *Sci Rep*. 2016;6:31263.
 195. Rico-Mata R, De Leon-Rodriguez LM, Avila EE. Effect of antimicrobial peptides derived from human cathelicidin LL-37 on *Entamoeba histolytica* trophozoites. *Exp Parasitol*. 2013;133(3):300–6.
 196. Barlow PG, Svoboda P, Mackellar A, Nash AA, York IA, Pohl J, et al. Antiviral Activity and Increased Host Defense against Influenza Infection Elicited by the Human Cathelicidin LL-37. *PLoS One*. 2011;6(10):e25333.
 197. Wong JH, Ng TB, Legowska A, Rolka K, Hui M, Cho CH. Antifungal action of human cathelicidin fragment (LL13–37) on *Candida albicans*. *Peptides*. 2011;32(10):1996–2002.
 198. Sonawane A, Santos JC, Mishra BB, Jena P, Progida C, Sorensen OE, et al. Cathelicidin is involved in the intracellular killing of mycobacteria in macrophages. *Cell Microbiol*. 2011;13(10):1601–17.
 199. Sigurdardottir SL, Thorleifsdottir RH, Guzman AM, Gudmundsson GH, Valdimarsson H, Johnston A. The anti-microbial peptide LL-37 modulates immune responses in the palatine tonsils where it is exclusively expressed by neutrophils and a subset of dendritic cells. *Clin Immunol*. 2012;142(2):139–49.
 200. Braff MH, Gallo RL. Antimicrobial peptides: an essential component of the skin defensive barrier. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2006;306:91–110.
 201. Sørensen OE, Follin P, Johnsen AH, Calafat J, Tjabringa GS, Hiemstra PS, et al. Human cathelicidin, hCAP-18, is processed to the antimicrobial peptide LL-37 by extracellular cleavage with proteinase 3. *Blood*. 2001;97(12):3951–9.
 202. Zasloff M. Fighting infections with vitamin D. *Nat Med*. 2006;12(4):388–90.
 203. Gombart AF, Borregaard N, Koeffler HP. Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *FASEB J*. 2005;19(9):1067–77.
 204. Wu WKK, Wang G, Coffelt SB, Betancourt AM, Lee CW, Fan D, et al. Emerging roles of the host defense peptide LL-37 in human cancer and its potential therapeutic applications. *Int J Cancer*. 2010;127(8):1741–7.
 205. Salvado MD, Di Gennaro A, Lindbom L, Agerberth B, Haeggstrom JZ. Cathelicidin LL-37 Induces Angiogenesis via PGE₂-EP₃ Signaling in Endothelial Cells, In Vivo Inhibition by Aspirin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(8):1965–72.
 206. Ramos R, Silva JP, Rodrigues AC, Costa R, Guardão L, Schmitt F, et al. Wound

- healing activity of the human antimicrobial peptide LL37. *Peptides*. 2011;32(7):1469–76.
207. Coffelt SB, Marini FC, Watson K, Zvezdaryk KJ, Dembinski JL, LaMarca HL, et al. The pro-inflammatory peptide LL-37 promotes ovarian tumor progression through recruitment of multipotent mesenchymal stromal cells. *Proc Natl Acad Sci*. 2009;106(10):3806–11.
 208. Koczulla AR, Bals R. Antimicrobial peptides: current status and therapeutic potential. *Drugs*. 2003;63(4):389–406.
 209. Schaubert J, Gallo RL. Expanding the roles of antimicrobial peptides in skin: alarming and arming keratinocytes. *J Invest Dermatol*. 2007;127(3):510–2.
 210. Piktel E, Niemirowicz K, Wnorowska U, Wątek M, Wollny T, Głuszek K, et al. The Role of Cathelicidin LL-37 in Cancer Development. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2016;64(1):33–46.
 211. Frasca L, Lande R. Role of defensins and cathelicidin LL37 in auto-immune and auto-inflammatory diseases. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012;13(10):1882–97.
 212. Tecle T, Tripathi S, Hartshorn KL. Review: Defensins and cathelicidins in lung immunity. *Innate Immun*. 2010;16(3):151–9.
 213. Peric M, Koglin S, Ruzicka T, Schaubert J. Cathelicidine: multifunktionelle Abwehrmoleküle der Haut. *DMW - Dtsch Medizinische Wochenschrift*. 2009;134(01/02):35–8.
 214. Witkowska D, Bartyś A, Gamian A. [Defensins and cathelicidins as natural peptide antibiotics]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2008;62:694–707.
 215. Murakami M, Ohtake T, Dorschner RA, Gallo RL, Schitteck B, Garbe C. Cathelicidin Anti-Microbial Peptide Expression in Sweat, an Innate Defense System for the Skin. *J Invest Dermatol*. 2002;119(5):1090–5.
 216. Murakami M, Dorschner RA, Stern LJ, Lin KH, Gallo RL. Expression and Secretion of Cathelicidin Antimicrobial Peptides in Murine Mammary Glands and Human Milk. *Pediatr Res*. 2005;57(1):10–5.
 217. Nielsen KL, Dynesen P, Larsen P, Jakobsen L, Andersen PS, Frimodt-Møller N. Role of Urinary Cathelicidin LL-37 and Human -Defensin 1 in Uncomplicated *Escherichia coli* Urinary Tract Infections. *Infect Immun*. 2014;82(4):1572–8.
 218. Agier J, Efenberger M, Brzezińska-Blaszczyk E. Cathelicidin impact on inflammatory cells. *Centr Eur J Immunol*. 2015;40(2):225–35. doi: 10.5114/cej.2015.51359.
 219. Zanetti M. Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity. *J Leukoc Biol*. 2004;75(1):39–48.
 220. Blodkamp S, Kadlec K, Gutschmann T, Naim HY, von Köckritz-Blickwede M, Schwarz S. In vitro activity of human and animal cathelicidins against livestock-

- associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Vet Microbiol*. 2016;194:107–11.
221. Kovach MA, Ballinger MN, Newstead MW, Zeng X, Bhan U, Yu F, et al. Cathelicidin-related antimicrobial peptide is required for effective lung mucosal immunity in Gram-negative bacterial pneumonia. *J Immunol*. 2012;189(1):304–11.
 222. Bergman P, Johansson L, Asp V, Plant L, Gudmundsson GH, Jonsson A-B, et al. *Neisseria gonorrhoeae* downregulates expression of the human antimicrobial peptide LL-37. *Cell Microbiol*. 2005;7(7):1009–17.
 223. Overhage J, Campisano A, Bains M, Torfs ECW, Rehm BHA, Hancock REW. Human Host Defense Peptide LL-37 Prevents Bacterial Biofilm Formation. *Infect Immun*. 2008;76(9):4176–82.
 224. Dhall S, Do D, Garcia M, Wijesinghe DS, Brandon A, Kim J, et al. A Novel Model of Chronic Wounds: Importance of Redox Imbalance and Biofilm-Forming Bacteria for Establishment of Chronicity. *PLoS One*. 2014;9(10):e109848.
 225. López-García B, Lee PHA, Yamasaki K, Gallo RL. Anti-Fungal Activity of Cathelicidins and their Potential Role in *Candida albicans* Skin Infection. *J Invest Dermatol*. 2005;125(1):108–15.
 226. Tsai P-W, Yang C-Y, Chang H-T, Lan C-Y. Human antimicrobial peptide LL-37 inhibits adhesion of *Candida albicans* by interacting with yeast cell-wall carbohydrates. *PLoS One*. 2011;6(3):e17755.
 227. Tripathi S, Tecle T, Verma A, Crouch E, White M, Hartshorn KL. The human cathelicidin LL-37 inhibits influenza A viruses through a mechanism distinct from that of surfactant protein D or defensins. *J Gen Virol*. 2013;94(Pt_1):40–9.
 228. Tripathi S, Wang G, White M, Qi L, Taubenberger J, Hartshorn KL. Antiviral Activity of the Human Cathelicidin, LL-37, and Derived Peptides on Seasonal and Pandemic Influenza A Viruses. *PLoS One*. 2015;10(4):e0124706.
 229. Currie SM, Findlay EG, McHugh BJ, Mackellar A, Man T, Macmillan D, et al. The human cathelicidin LL-37 has antiviral activity against respiratory syncytial virus. *PLoS One*. 2013;8(8):e73659.
 230. Peter Bergman BSP, Lilian Walter-Jallow BSP, Kristina Broliden BSP, Birgitta Agerberth BSP, Johan Soderlund BSP, Peter Bergman, et al. The Antimicrobial Peptide LL-37 Inhibits HIV-1 Replication. *Curr HIV Res*. 2007;5(4):410–5.
 231. Honda JR, Connick E, MaWhinney S, Chan ED, Flores SC. Plasma LL-37 correlates with vitamin D and is reduced in human immunodeficiency virus-1 infected individuals not receiving antiretroviral therapy. *J Med Microbiol*. 2014;63(Pt 7):997–1003.
 232. McGwire BS, Olson CL, Tack BF, Engman DM. Killing of African Trypanosomes by Antimicrobial Peptides. *J Infect Dis*. 2003;188(1):146–52.

CAPÍTULO II

ARTIGO I: Fatores
de Risco
Cardiovascular
Associados à
Doença de Chagas
Crônica

FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR ASSOCIADOS À DOENÇA DE CHAGAS CRÔNICA.

Luiz Roberto de Oliveira Junior¹, Thaysa Buss Carvalho¹, Érika Alessandra Pellison Nunes da Costa¹, Paulo Câmara Marques Pereira¹, Cilmerly Suemi Kurokawa¹.

¹Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina de Botucatu

Correspondência: Luiz Roberto de Oliveira Junior

Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP, Brasil

CEP: 18618-970, Fone: (14)3811-6274

email: luizroliveirajr@icloud.com

Resumo

INTRODUÇÃO: O tratamento da DC constitui um importante desafio para os serviços de saúde, principalmente quando a doença está associada com comorbidades que aumentam o risco cardiovascular, tais como HA, DM, dislipidemias, obesidade, hipotireoidismo e hábitos de vida que comprometem a saúde do indivíduo.

OBJETIVO: Descrever e conhecer o perfil epidemiológico, comorbidades e fatores de risco cardiovascular nos pacientes com DC crônica.

MATERIAL E MÉTODOS: Estudo transversal, descritivo em 168 pacientes com diagnóstico de DC crônica com as formas cardíaca, digestiva, indeterminada e mista. Foram avaliadas a presença de HA, DM, dislipidemias, IMC, hipotireoidismo, complicações cardiovasculares e hábitos de vida.

RESULTADOS: A percentagem de paciente do sexo feminino foi de 50,6%. A média da idade foi $60,8 \pm 8,5$ anos. Desses pacientes 53,7% tinham a FCI, 20,8% a FCD, 19,6% a FCC e 5,9% a FCM. O sobrepeso/obesidade esteve presente em 65,5% dos pacientes, HA em 51,2%, dislipidemias 45,8%, DM 23,8%, hipotireoidismo 6,5% e complicações cardiovasculares 5,3%. Quanto aos hábitos de vida, 75,6% eram sedentários, 14,3% fumantes e 23,8% mencionaram consumo de bebidas alcoólicas.

CONCLUSÃO: Neste estudo foi possível observar que os indivíduos com DC crônica são idosos e apresentam comorbidades relacionadas à idade e ao aumento do risco cardiovascular, o que pode agravar a situação de saúde dos indivíduos infectados. Na ausência de tratamento específico para a DC crônica é importante a adoção de medidas que visem o controle dessas comorbidades e que favoreçam a qualidade de vida desses indivíduos.

Introdução

A doença de Chagas (DC) é endêmica em 21 países latino-americanos, incluindo o Brasil, e uma das 17 doenças tropicais negligenciadas em todo mundo. A DC tem como agente etiológico o protozoário *Trypanosoma cruzi* e sua principal forma de transmissão é a vetorial, que acontece através do contato com as fezes do inseto vetor da família *Reduviidae*, subfamília *Triatominae* (1).

Atualmente a DC afeta de 6 a 7 milhões de pessoas no mundo, sobretudo na América Latina, e estima-se que existam mais de 25 milhões de pessoas em área de risco de transmissão (2). Além de sua importância clínica e epidemiológica, a DC também possui grande impacto econômico, já que pode apresentar sintomas precoces com tratamentos de longo prazo e, quando necessário, a realização de procedimentos cirúrgicos (3).

Os países da América Latina têm realizado grandes progressos no controle da DC. Entre 1991, quando deram início às medidas de controle da DC, e 2010, sua prevalência global estimada reduziu aproximadamente 12 milhões de infectados (4). No Brasil estima-se que o país tenha atualmente 3 milhões de infectados, que resultam em aproximadamente 6 mil mortes por ano. (2).

Mesmo declarado livre do principal vetor, o *T. infestans*, em 2006 pela Organização Pan Americana de Saúde, existem ainda outros mecanismos de transmissão que sustentam a permanência da DC, tais como transfusões sanguíneas, transplantes de órgãos, acidentes com material biológico contaminado, congênita (vertical) e oral, através do consumo de alimentos contaminados (4).

Apesar dos esforços para redução da DC nos países endêmicos, a migração da população de áreas rurais para áreas urbanas e imigração da população para países desenvolvidos têm resultado no aumento da detecção do *T. cruzi* pelo mundo. A imigração da América Latina para países como Estados Unidos da América (EUA), Canadá, Austrália, Japão e o continente Europeu caracteriza a DC como um problema de saúde pública emergente nestes países e continentes (5). Em 2009, estimou-se que existiam 23 milhões de imigrantes provenientes de áreas endêmicas vivendo nos EUA. Quanto ao número de pessoas infectadas, os EUA ocupam o sétimo lugar com aproximadamente 300 mil infectados (6).

A interrupção da transmissão vetorial e os esforços para detecção da DC nas triagens em bancos de sangue reduziu significativamente os casos agudos no Brasil. Para Lee et al. (2013), os gastos globais com a DC são estimados em US\$ 7,19 bilhões por ano, superior aos gastos com doenças como câncer de colo de útero e infecções por rotavírus (3). Em países como a Colômbia, os custos no tratamento da DC em 2008 foram estimados em US\$ 267 milhões, o que contrasta com o controle

do vetor através da pulverização de inseticidas que tem seus custos estimados em US\$ 5 milhões por ano (7).

Por outro lado, cabe salientar que pacientes com a DC estão envelhecendo e a presença de fatores de risco associados ao envelhecimento nesta população também é observado. Nesse sentido aumenta-se a frequência de comorbidades associadas, em sua maioria crônico-degenerativas, dentre elas hipertensão arterial, diabetes mellitus, dislipidemias, hipotireoidismo, sobrepeso e outras como cardiopatias, dificultando o tratamento da DC pelos serviços de saúde e a qualidade de vida dos indivíduos infectados (8–10).

Assim, o objetivo do presente estudo foi descrever a população de indivíduos na fase crônica da DC atendidos no Ambulatório de Doenças Tropicais do Hospital das Clínicas de Botucatu, suas características clínicas, epidemiológicas e os fatores de risco para doenças cardiovasculares.

Pacientes e Métodos

Estudo transversal, descritivo, quantitativo não experimental. Foram incluídos pacientes com diagnóstico de DC em sua fase crônica, de ambos os sexos, atendidos no Ambulatório de Doenças Tropicais do Hospital das Clínicas de Botucatu, entre Março de 2016 a Março de 2017.

Os dados foram coletados através de entrevista médica, referentes à idade, sexo, naturalidade, procedência, tabagismo, etilismo, hipertensão arterial (HA), diabetes *mellitus* (DM), sedentarismo, dislipidemia, calculado o índice de massa corpórea (IMC) e realizada a classificação quanto à forma clínica.

Para classificar o tabagismo, os pacientes foram agrupados em três categorias, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), sendo que “não

fumantes” foram aqueles que não fumaram ou fumaram menos de 100 cigarros durante toda a vida; “ex-fumantes” foram aqueles que já fumaram pelo menos 100 cigarros durante a vida, mas haviam parado de fumar e; “fumantes atuais” foram aqueles que já fumaram 100 ou mais cigarros durante a vida e que continuam fumando (11).

O sedentarismo foi verificado através de adaptações das orientações do Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ). A classificação do nível de atividade física foi dividida em três categorias, sendo: “sedentário” quando não realiza nenhuma atividade física; “ativo” quando realiza qualquer atividade física vigorosa mais de três vezes por semana com tempo superior a 20 minutos e; “muito ativo” quando realiza qualquer atividade física vigorosa mais de cinco vezes por semana com tempo superior a 30 minutos (12).

Para a determinação do grau do etilismo foram utilizados os critérios adotados pela OMS, sendo “consumo moderado” para aqueles que faz o uso de pelo menos duas doses de álcool por dia ou mais que duas vezes por semana; “beber social” quando consomem álcool na companhia de outras pessoas e somente por razões e de maneira socialmente aceitáveis; “não consome” para aqueles que relataram nunca terem consumido álcool. Outras definições não estão relatadas, já que não foram encontrados relatos em nosso estudo (13).

Após a obtenção de dados antropométricos (peso e altura), foi realizada a classificação do Índice de Massa Corpórea (IMC) através de parâmetros estabelecidos pela OMS com a fórmula $\frac{Peso (Kg)}{Altura^2(m)}$. Os pacientes foram agrupados em: Baixo Peso (IMC < 18,5), Eutrófico (IMC 18,5 – 24,9), Sobrepeso (IMC 25,0 – 29,9), Obesidade I (IMC 30,0 – 34,9), Obesidade II (IMC 35,0 – 39,9) e Obesidade III (IMC ≥ 40) (14).

O diagnóstico de HA, DM, dislipidemias, hipotireoidismo e complicações cardiovasculares (infarto agudo de miocárdio e acidente vascular cerebral) foi realizado pelo profissional médico durante o acompanhamento do paciente, que foram classificados de acordo com a presença ou não da doença através da consulta do Prontuário Eletrônico do Paciente.

Considerou-se como hipotireoidismo os pacientes, sintomáticos ou não, que apresentaram alterações em exames laboratoriais dos hormônios estimuladores da tireoide (TSH) e/ou da tetraiodotironina (T4 livre) de acordo com a Sociedade Brasileira de Endocrinologia. As definições das formas clínicas seguiram os critérios do II Consenso Brasileiro de DC, sendo elas a cardiopatia chagásica crônica (CCC), a forma crônica digestiva (FCD), a forma crônica indeterminada (FCI) e a forma crônica mista (FCM), quando apresentaram sintomas clínicos presentes na CCC e FCD. Foram diagnosticados como CCC aqueles que apresentaram alterações no eletrocardiograma (ECG) e/ou ecocardiograma e apresentaram sintomas clínicos como palpitações, arritmias, incluindo extra-sístole ventricular, taquicardia e diferentes graus de bloqueios cardíacos. Para a FCD, foram diagnosticados aqueles que tiveram alterações radiológicas no esôfago e cólon, através de enema opaco e estudo contrastado de esôfago-estômago-duodeno (EED). Os pacientes com a FCI foram aqueles com ECG, enema opaco e EED sem alterações e ausência de sintomas clínicos.

Os dados foram inseridos no software Microsoft Office Excel 2013 e analisados por meio do software Epi-Info™, versão 7.2, disponibilizado pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), que possibilitou a análise descritiva da frequência e associação de variáveis.

Todos os pacientes foram submetidos a sorologia para confirmação de diagnóstico de DC através de ensaio imunoenzimático (ELISA), hemaglutinação indireta (HAI) e imunofluorescência indireta (IFI) com pesquisa de IgG.

O consentimento para participação no trabalho foi obtido após informação e esclarecimento sobre os objetivos da pesquisa e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. A pesquisa foi submetida à aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

Resultados

Foram incluídos no estudo 168 pacientes com a DC em sua fase crônica, sendo 85 (50,6%) do sexo feminino e 83 (49,4%) do masculino. A idade dos pacientes variou de 36 a 89 anos, com média de $60,8 \pm 8,5$ anos, para o sexo feminino foi de $60,1 \pm 8,2$ anos e $61,5 \pm 8,8$ para o sexo masculino. O perfil dos pacientes incluídos está na **Tabela 1**. Cabe destacar que 63,8% dos pacientes do sexo masculino tinham idades acima de 60 anos enquanto que as 51,7% das mulheres tinham menos que 60 anos. As formas clínicas CCC, FCD e FCM foram predominantes em indivíduos com idade superior a 60 anos (69,2%).

Tabela 1: Variáveis epidemiológicas de 168 indivíduos com DC crônica.

	Masculino		Feminino		Total	
	n = 83	%	n = 85	%	n = 168	%
Faixa Etária						
30 a 39 anos	0	0,00	1	1,18	1	0,60
40 a 49 anos	9	10,84	5	5,88	14	8,33
50 a 59 anos	21	25,30	38	44,71	59	35,12
60 a 69 anos	39	46,99	31	36,47	70	41,67
70 a 79 anos	13	15,66	9	10,59	22	13,10
80 a 89 anos	1	1,20	1	1,18	2	1,19
Etnia						
Branca	62	74,70	71	83,53	133	79,17
Negra	12	14,46	10	11,76	22	13,10
Parda	9	10,84	4	4,71	13	7,74
Forma Clínica						
Cardíaca	18	21,69	15	17,65	33	19,64
Digestiva	13	15,66	22	25,88	35	20,83
Mista	6	7,23	4	4,71	10	5,95
Indeterminada	46	55,42	44	51,76	90	53,57
Atividade Física						
Muito ativo	12	14,46	12	14,12	24	14,29
Ativo	7	8,43	10	11,76	17	10,12
Sedentário	64	77,11	63	74,12	127	75,60
Tabagismo						
Fumante	12	14,46	12	14,12	24	14,29
Ex-Fumante	43	51,81	18	21,18	61	36,31
Não fumante	28	33,73	55	64,71	83	49,40
Etilismo						
Diariamente	2	2,41	2	2,35	4	2,38
Ocasionalmente	29	34,94	7	8,24	36	21,43
Não consome	52	62,65	76	89,41	128	76,19

Quanto a naturalidade, a **Figura 1A** mostra que 125 (74,4%) nasceram no Estado de São Paulo, 22 (13,1%) no Estado do Paraná, 11 (6,5%) no Estado de Minas Gerais e 10 (5,9%) nos demais Estados. Dos pacientes nascidos no Estado de São Paulo, 54 (43,2%) pertenciam a municípios da microrregião de Itapeva, dentre eles Itaporanga (17,6%), Taquarituba (9,6%) e Coronel Macedo (5,6%). Em relação a moradia atual foram citados 70 municípios, porém destacam-se 3: Itaporanga (22 – 13,1%), Itaí (14 – 8,3%) e Taquarituba (12 – 7,1%), **Figura 1B**.

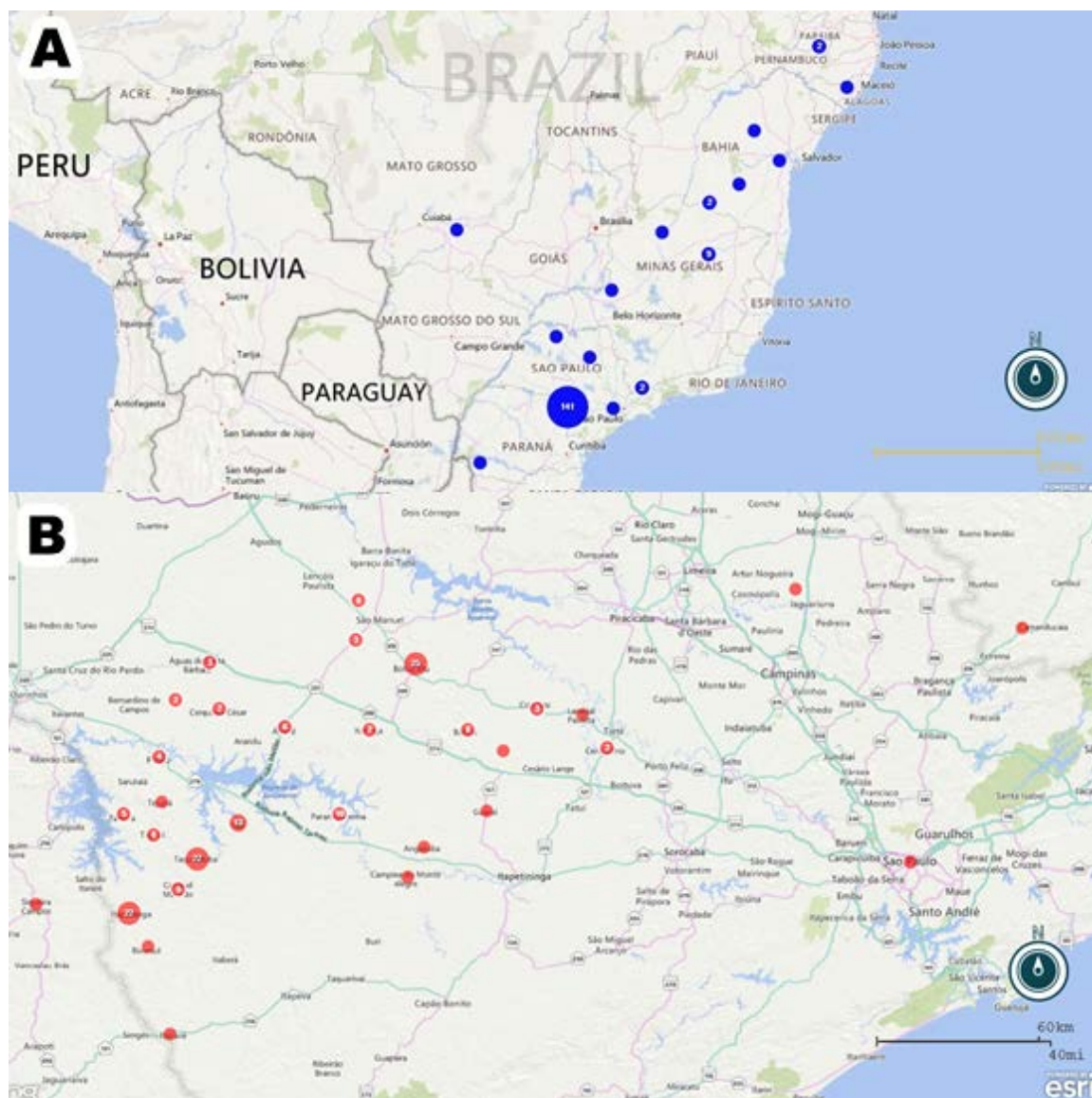


Figura 1: Naturalidade (A) e procedência (B) dos pacientes com DC crônica atendidos no Ambulatório de Doenças Tropicais do Hospital das Clínicas de Botucatu.

A percentagem da forma clínica FCI foi de 53,7% (n=90), seguida da FCD com percentagem de 20,8% (n=35), 19,6% com a forma CCC (n=33) e 5,9% com a forma FCM (n=10). A percentagem da forma clínica FCI entre os sexos foram semelhantes, porém, para as formas clínicas sintomáticas (CCC, FCD e FCM), os pacientes de sexo feminino apresentaram 25,8% da FCD; – enquanto o sexo masculino apresentou 21,6% da forma clínica CCC.

Tabela 2: Comorbidades em pacientes com a doença de Chagas Crônica.

	Cardíaca		Digestiva		Mista		Indeterminada		Total	
	n = 33	%	n = 35	%	n = 10	%	n = 90	%	n = 168	%
IMC										
Baixo Peso ($\leq 18,5$)	0	0,00	1	2,86	0	0,00	1	1,11	2	1,19
Eutrófico ($> 18,5$ e $\leq 24,9$)	12	36,36	11	31,43	6	60,00	27	30,00	56	33,33
Sobrepeso ($\geq 25,0$ e $\leq 29,9$)	10	30,30	7	20,00	2	20,00	43	47,78	62	36,90
Obesidade I ($\geq 30,0$ e $\leq 34,9$)	7	21,21	11	31,43	2	20,00	14	15,56	34	20,24
Obesidade II ($\geq 35,0$ e $\leq 39,9$)	4	12,12	4	11,43	0	0,00	3	3,33	11	6,55
Obesidade III ($\geq 40,0$)	0	0,00	1	2,86	0	0,00	2	2,22	3	1,79
Hipertensão										
Sim	24	72,73	18	51,43	6	60,00	38	42,22	86	51,19
Não	9	27,27	17	48,57	4	40,00	52	57,78	82	48,81
Diabetes										
Sim	11	33,33	6	17,14	1	10,00	22	24,44	40	23,81
Não	22	66,67	29	82,86	9	90,00	68	75,56	128	76,19
Dislipidemia										
Sim	20	60,61	19	54,29	5	50,00	33	36,67	77	45,83
Não	13	39,39	16	45,71	5	50,00	57	63,33	91	54,17
Hipotireoidismo										
Sim	4	12,12	2	5,71	0	0,00	5	5,56	11	6,55
Não	29	87,88	33	94,29	10	100,00	85	94,44	157	93,45
Complicações Cardiovasculares										
Sim	1	3,03	3	8,57	1	10,00	4	4,44	9	5,36
Não	32	96,97	32	91,43	9	90,00	86	95,56	159	94,64

Quanto ao IMC, 110 (65,5%) pacientes tinham sobrepeso, dos quais 48 (28,5%) apresentavam algum grau de obesidade. Ao serem questionados sobre os hábitos de vida, 127 (75,6%) não realizam nenhum tipo de atividade física, 24 (14,3%) eram tabagistas e 40 (23,8%) relataram consumo de álcool diariamente ou ocasionalmente.

Tabela 3: Distribuição das comorbidades nos pacientes com DC crônica.

Quantidade de Comorbidades	Distribuição	%
4 Comorbidades	7	4,2%
3 Comorbidades	14	8,3%
2 Comorbidades	46	27,4%
1 Comorbidades	61	36,3%
Nenhuma Comorbidade	40	23,8%

Conforme pode ser observado na **Tabela 2**, dos 168 pacientes com DC crônica, 86 (51,2%) tinham como comorbidade a HA, 77 (45,8%) dislipidemia, 40 (23,8%) DM, 11 (6,5%) hipotireoidismo e 9 (5,3%) alguma complicação cardiovascular, como o acidente vascular cerebral e o infarto agudo do miocárdio. Na **Tabela 3**, foi realizada a distribuição das comorbidades nos pacientes incluídos no estudo.

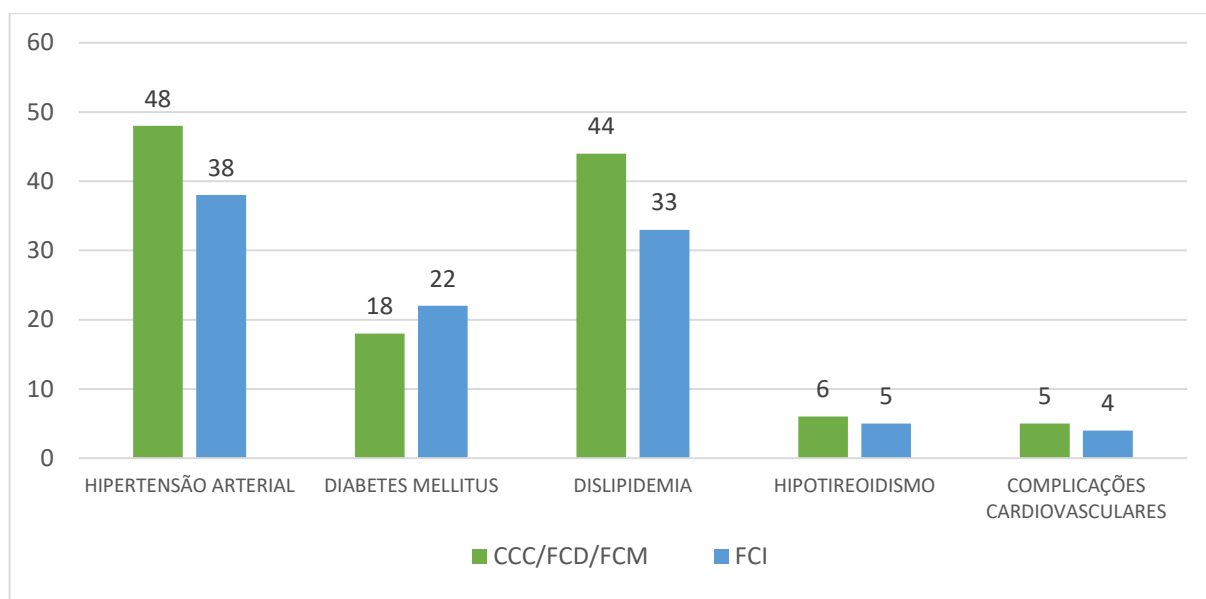


Figura 2: Comparação entre a frequência de comorbidades presentes nos indivíduos e forma clínica da DC crônica. CCC: Cardiopatia Chagásica Crônica; FCD: Forma Crônica Digestiva; FCM: Forma Crônica Mista; FCI: Forma Crônica Indeterminada.

Vale ressaltar que, conforme demonstrado na **Figura 2**, a HA, dislipidemia, hipotireoidismo e complicações cardiovasculares foram frequentes em pacientes que apresentavam forma clínica definida, com exceção do DM. Desta forma, cabe destacar a HA e a dislipidemia como as comorbidades frequentes à DC crônica, com 55,8% e 57,1% respectivamente. A incidência das comorbidades também foi maior na faixa etária superior aos 60 anos, no qual a HA (40,1%) e as dislipidemias (33,6%) também foram frequentes.

Discussão

Como referido anteriormente a DC é um problema de saúde pública com vários aspectos ainda não esclarecidos, particularmente os fatores de risco cardiovascular relacionados à essa doença. O presente estudo não observou diferença significativa entre os sexos, embora a maioria dos indivíduos do sexo masculino incluídos no estudo foram diagnosticados em bancos de sangue após triagem sorológica realizada na doação. Desta forma, os dados condizem com aqueles encontrados na literatura, que afirmam que a DC afeta homens e mulheres indistintamente. Por outro lado, alguns autores sugerem que a prevalência masculina na DC seja significativamente menor em relação à feminina, já que as mulheres procuram mais os serviços de saúde para realização de exames de rotina e prevenção do que os homens (15,16).

Em relação a idade geral dos pacientes ($60,8 \pm 8,5$ anos) ou agrupada por sexo, os dados foram inferiores aos achados de Almeida et. al (2007) e Alves et. al (2009), porém, ainda dentro da faixa etária considerada de idosos jovens. A média de idade dos indivíduos mais jovens (menores de 60 anos) foi de $53,4 \pm 5,6$ anos, que pode significar o envelhecimento de indivíduos infectados nessa faixa etária. Desta

forma, o envelhecimento dessa população pode favorecer o surgimento de comorbidades que afetem a qualidade de vida do paciente, que associada a essa doença pode agravar o prognóstico. A associação da DC crônica com comorbidades como HA, DM e dislipidemias representam um importante desafio para a saúde pública (16–18).

No que se refere às formas clínicas da DC crônica, houve um predomínio (53,5%) da FCI para ambos os sexos, o que já foi observado e descrito por outros autores. Isto pode estar relacionado com o fato do estudo ter sido realizado em pacientes em seguimento ambulatorial. Quando comparado à faixa etária, a FCI foi mais frequente (67,5%) em menores de 60 anos, enquanto as formas clínicas sintomáticas foram mais frequentes em indivíduos maiores de 60 anos (69,2%). Embora assintomática, a presença dos parasitas pode desencadear respostas inflamatórias, o que contribui para o surgimento e agravamento de alterações cardiovasculares. Essas alterações e outras comorbidades podem diminuir o tempo e a qualidade de vida dos indivíduos infectados (8,19–21).

Já as formas clínicas sintomáticas (CCC, FCD e FCM) são as manifestações da fase crônica da DC. Podem ser desenvolvidas tardiamente por aproximadamente 30 a 40% dos indivíduos infectados. Dentre elas a CCC é a forma mais grave da doença, com fisiopatologia complexa e grande impacto nos indicadores de morbimortalidade. Assim, os dados encontrados estão de acordo com vários autores, que relacionam a CCC ao sexo masculino. No presente estudo a CCC foi relatada em 21,7% dos homens enquanto das mulheres foram 17,6% (9-10,23–24).

A FCD afeta aproximadamente 10% dos indivíduos com DC crônica, com manifestações digestivas como megacólon e megaesôfago. Os sinais clínicos variam

desde distúrbios de motilidade assintomáticos até mais graves como disfagia, refluxo gastroesofágico, constipação intestinal crônica e perda de peso (25).

Diante da problemática em se tratar o indivíduo com DC crônica com drogas pouco eficazes e potencialmente tóxicas, o objetivo deve sempre prezar pelo controle dos sintomas e melhora da qualidade de vida. Dessa forma, o tratamento das comorbidades que os afetam pode evitar complicações futuras e aumentar a taxa de sobrevivência desses indivíduos. As comorbidades avaliadas no estudo – obesidade, HA, DM, dislipidemia, hipotireoidismo, complicações cardiovasculares, tabagismo, etilismo e sedentarismo – além da mortalidade, podem causar danos irreversíveis e afetar diretamente a qualidade de vida dos indivíduos e, ocorrendo simultaneamente, podem aumentar o risco quando comparadas isoladamente (26,27).

A HA no Brasil afeta aproximadamente 32,5% da população adulta e é responsável direta ou indiretamente por 50% das mortes por doenças cardiovasculares. No presente estudo, a HA foi a comorbidade mais relatada (51,2%) entre os indivíduos com DC crônica, o mesmo encontrado em diversos estudos, como por Silva et. al (2010) que encontrou HA em 64% dos indivíduos estudados. Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia (2016), cerca de 60% dos indivíduos hipertensos são idosos acima de 60 anos, semelhante ao presente estudo que encontrou 63,9%. Esses dados sugerem que a DC pode ser responsável pela elevação da pressão arterial, principalmente quando acompanhada do avanço da idade dos indivíduos. (16,28–30)

Avaliando todas as formas clínicas, a HA foi mais frequente na FCI, no entanto, ao se analisar as formas clínicas individualmente, o predomínio foi nos indivíduos com CCC. Essa prevalência também foi encontrada por Bertanha et. al (2008) e pode ser justificada faixa etária mais avançada dos pacientes com CCC e o

maior tempo de evolução da doença. Assim, a incidência da HA junto da DC crônica é um fator que deve ser considerado no seguimento do indivíduo, já que essa situação pode acarretar em um comprometimento funcional do sistema cardiovascular. (31,32)

A dislipidemia foi a segunda comorbidade que mais afetou os indivíduos com DC crônica, no qual esteve presente em 41,6% deles, superior ao encontrado por Alves et. al (2009) em um estudo com indivíduos com DC crônica no Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas. As dislipidemias em conjunto com a HA representam importantes fatores de desencadeantes e de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Em outro estudo realizado por Teston et. al (2016) em adultos do sexo masculino foi encontrado mais de 50% de indivíduos com alterações nos níveis lipídicos, com chances 2,6 maiores de desenvolver doença cardiovascular que indivíduos normais. (33–35)

A frequência de DM no presente estudo foi baixa. São encontrados poucos estudos que relacionam o DM com a DC crônica, porém, Campos e Cançado (1962) demonstraram que os pacientes com a FCI da DC crônica mostraram resistência insulínica. Já Oliveira et. al (1993) demonstraram deservação parassimpática e lesão nas células pancreáticas pela DC. Dos indivíduos com DM, 75% apresentavam sobrepeso e obesidade. Essa associação entre excesso de peso e DM se torna ainda mais importante na população brasileira, onde existem estudos que afirmam que mais da metade estão acima do peso. Dessa forma, sugere-se que a DM seja uma comorbidade relacionada a fatores de risco modificáveis como hábitos alimentares e sedentarismo; e quando associada a outras comorbidades eleva o risco de doenças cardiovasculares. (36–39)

Outro aspecto relevante no presente estudo está associado ao excesso de peso. Esse achado pode contribuir pela prevalência de HA e dislipidemia já

observado. No presente estudo, mais de 65% dos indivíduos apresentavam sobrepeso e obesidade. Isso demonstra a importância de adoção de estratégias que visem incentivar hábitos alimentares saudáveis e prática de atividade física, para que se controle diversos fatores de risco para doenças cardiovasculares.

Entre os hábitos de vida, o tabagismo e o alcoolismo não foram significativos (14,3% e 23,8%, respectivamente), porém, o sedentarismo foi observado em 75,6% dos indivíduos. A avaliação do sedentarismo é de suma importância no desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A cada ano, aproximadamente 3,2 milhões de mortes são ocasionadas pela prática insuficiente de atividade física fator já considerado como prioridade de saúde pública no mundo. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no Brasil, o sedentarismo atinge cerca de 80,8% dos adultos. Sendo que, somente na cidade de São Paulo, Mello et. al (1998) verificaram uma taxa 68,7% de adultos sedentários. Em um estudo realizado em Bambuí, Minas Gerais, o sedentarismo foi observado em 29,8% de 1.479 pacientes com doença de Chagas (> 60 anos). Valores similares ao nosso, foram encontrados por Geraix et. al (2007), em uma coleta de dados retrospectivo com pacientes chagásicos atendidos no mesmo ambulatório de nosso estudo, no qual relataram que 83,3% eram sedentários. Isso mostra que em nossa população de estudo, muitos indivíduos são adeptos ao sedentarismo. Esse fator é bastante preocupante pois o sedentarismo pode atuar negativamente quanto às funções cognitivas, aumentar o risco de infarto do miocárdio como também ser um fator de risco para diversas doenças crônicas. (21,40–43)

Quanto ao hipotireoidismo, foi observado baixa frequência nos indivíduos estudados. O hipotireoidismo é uma das desordens endócrinas mais comuns e é caracterizado pela deficiência na produção do hormônio da tireoide. A sua prevalência

é variável, mas sabe-se que indivíduos em idade avançada e mulheres são os mais acometidos. Embora os sintomas não sejam específicos, sabe-se que o hipotireoidismo está associado ao ganho de peso, hipertensão e alterações cardiovasculares, que constituem comorbidades importantes também na DC crônica. (44–46)

Não houve associação entre a baixa frequência de complicações cardiovasculares e outras comorbidades, bem como a forma clínica da DC crônica.

Conclusão

Enfim, podemos concluir que grande parte dos indivíduos com DC crônica identificados no serviço ambulatorial são idosos, uma população particularmente vulnerável tanto pela DC presente quanto pela associação de comorbidades. Essas comorbidades, individuais ou associadas, podem agravar a situação de saúde do indivíduo e causar danos cardiovasculares graves. Na ausência de um tratamento específico para a DC crônica, é importante a adoção de medidas que visem o controle dessas comorbidades e que favoreçam a qualidade de vida desses indivíduos.

Agradecimentos

Os autores agradecem a equipe de enfermagem e médicos do Ambulatório de Doenças Tropicais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu e ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP). Este trabalho obteve auxílio de bolsa de mestrado CAPES para o aluno Luiz Roberto de Oliveira Junior e Thaysa Buss Carvalho.

Referências

1. Ministério da Saúde (BR). Guia de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2014. 812 p.
2. Martins-Melo FR, Ramos AN, Alencar CH, Heukelbach J. Prevalence of Chagas disease in Brazil: A systematic review and meta-analysis. *Acta Trop*. 2014;130(1):167–74.
3. Lee BY, Bacon KM, Bottazzi ME, Hotez PJ. Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(4):342–8.
4. Rassi Jr A, Rassi A, Marcondes de Rezende J. American Trypanosomiasis (Chagas Disease).
5. Perez-Molina JA, Perez-Ayala A, Parola P, Jackson Y, Odolini S, Lopez-Velez R. EuroTravNet: imported Chagas disease in nine European countries, 2008 to 2009. *Euro Surveill*. 2011;16(37):1–5.
6. Bern C, Montgomery SP. An estimate of the burden of Chagas disease in the United States. *Clin Infect Dis*. 2009;49(5):e52-4.
7. Castillo-Riquelme M, Guhl F, Turriago B, Pinto N, Rosas F, Martínez MF, et al. The costs of preventing and treating Chagas disease in Colombia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(11):e336.
8. Junqueira Jr LF. Insights into the clinical and functional significance of cardiac autonomic dysfunction in Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2012;45(2):243–52.
9. Guariento ME, Alliegro FC, De Almeida EA, Original A. Chagas' disease associated with chronic infirmities in outpatients followed in a university hospital. *Rev Bras Clin Med*. 2009;7:84–8.
10. Almeida EA, Barbosa Neto RM, Guariento ME, Wanderley JS, Souza ML. Apresentação clínica da doença de Chagas crônica em indivíduos idosos. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(3):311–5.
11. World Health Organization. Guidelines for controlling and monitoring the tobacco epidemic. Geneva: WHO; 1998.
12. Matsudo S, Araújo T, Matsudo V, Andrade D, Andrade E, Oliveira LC, et al. Questionário Internacional de Atividade Física (Ipaq): estupo de validade e reprodutibilidade no Brasil. *Rev Bras Ativ Fís Saúde*. 2012;6(2):5–18.
13. World Health Organization. Lexicon of alcohol and drug terms [Internet]. Geneva: WHO; 2010 [cited 2017 Apr 18]. Available from: http://www.who.int/substance_abuse/terminology/who_lexicon/en/#.WPX-DmsRJ98.mendeley&title=WHO %7C Lexicon of alcohol and drug terms published by the World Health Organization

14. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: WHO; 2000.
15. Gomes R, Nascimento EF, Araújo FC. Por que os homens buscam menos os serviços de saúde do que as mulheres? As explicações de homens com baixa escolaridade e homens com ensino superior. *Cad Saude Publica*. 2007;23(3):565–74.
16. Alves RMA, Thomaz RP, De Almeida EA, Wanderley JS, Guariento ME. Chagas' disease and ageing: The coexistence of other chronic diseases with Chagas' disease in elderly patients. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42(6):622–8.
17. Guariento ME, Carrijo CM, Almeida EA, Magna LA. Perfil clínico de idosos portadores de doença de Chagas atendidos em serviço de referência. *Rev Bras Clin Med*. 2011;9(1):20–4.
18. Almeida EA, Barbosa Neto RM, Guariento ME, Wanderley JS, Souza ML. Apresentação clínica da doença de Chagas crônica em indivíduos idosos. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(3):311–5.
19. Navarro EC, Abreu MM, Tavares FC, Corrente JE, Arruda CM, Câmara P, et al. Indeterminate form of Chagas' disease and metabolic syndrome: a dangerous combination. *Am J Med Sci*. 2013;3(4):68–73.
20. Bozelli CE, Araújo SM, Guilherme ALF, Gomes ML. Perfil clínico-epidemiológico de pacientes com doença de Chagas no Hospital Universitário de Maringá, Paraná, Brasil. *Cad Saude Publica*. 2006;22(5):1027–34.
21. Geraix J, Ardisson LP, Marcondes-Machado J, Pereira PCMCM. Clinical and nutritional profile of individuals with chagas disease. *Braz J Infect Dis*. 2007;11(4):411–4.
22. Borges-Pereira J, Zauza PL, Galhardo MC, Nogueira JD, Pereira GR, Cunha RV. Doença de Chagas na população urbana do distrito sanitário de Rio Verde, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001;34(5):459–66.
23. Assunção AN, Jerosch-Herold M, Melo RL, Mauricio A V, Rocha L, Torreão JA, et al. Chagas' heart disease: gender differences in myocardial damage assessed by cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2016;18(1):88.
24. Bonney KM. Chagas disease in the 21st century: a public health success or an emerging threat? *Parasite*. 2014;21:11.
25. Munari DB, Lucchese R, Medeiros M. Reflexões sobre o uso de atividades grupais na atenção a portadores de doenças crônicas. *Ciênc Cuid Saúde*. 2009;8:148–54.
26. Oliveira BG, Abreu MNS, Abreu CDG, Rocha MO da C, Ribeiro AL. Health-related quality of life in patients with Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2011;44(2):150–6.

27. Silva SM, Rocha MOC, Silva RC, Paixão GC, Buzzati H, Santos AN, et al. Estudo clínico-epidemiológico da doença de Chagas no distrito de Serra Azul, Mateus Leme, centro-oeste do Estado de Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43(2):178–81.
28. Sociedade Brasileira de Cardiologia. 7a Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. *Arq Bras Cardiol.* 2016;107(3 Supl 3):1-104.
29. Gurgel CBFM, Miguel Junior A, Mendes CR, Zerbini CO, Carcioni TM. Frequency of hypertension in chronic Chagas' disease: retrospective clinical study. *Arq Bras Cardiol.* 2003;81(6):545–8.
30. Bertanha L, Guariento ME, Magna LA, Almeida EA de. Caracterização clínico-laboratorial de chagásicos hipertensos sem insuficiência cardíaca manifesta. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008;41(2):163–8.
31. Guariento ME, Carrijo CM, Almeida EA, Magna LA. Perfil clínico de idosos portadores de doença de Chagas atendidos em serviço de referência. *Rev Bras Clin Med.* 2011;9(1):20–4.
32. Alves RM de ARM de A, Thomaz RP, Almeida EA de A de, Wanderley J da S, Guariento ME, De Almeida EA, et al. Chagas' disease and ageing: the coexistence of other chronic diseases with Chagas' disease in elderly patients. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009;42(6):622–8.
33. Moreira OC, Oliveira CEP de, Souza GC, Lizardo FB, Santos LA dos, Marins JCB. Fatores de risco de doença cardiovascular em técnicos administrativos da Universidade Federal de Viçosa. *Biosci J.* 2009;25(5):133–40.
34. Teston EF, Cecilio HPM, Santos AL, Arruda GO, Radovanovic CAT, Marcon SS. Factors associated with cardiovascular diseases in adults. *Medicina (Ribeirao Preto).* 2016;49(2):95.
35. Siqueira AFA, Almeida-Pititto B de, Ferreira SRG. Doença cardiovascular no diabetes mellitus: análise dos fatores de risco clássicos e não-clássicos. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2007;51(2):257–67.
36. Oliveira LC, Juliano Y, Novo NF, Neves MM. Blood glucose and insulin response to intravenous glucose by patients with chronic Chagas' disease and alcoholism. *Rev Bras Pesqui Med Biol.* 1993;26(11):1187–90.
37. Flor LS, Campos MR, Oliveira AF, Schramm JMA, Flor LS, Campos MR, et al. Diabetes burden in Brazil: fraction attributable to overweight, obesity, and excess weight. *Rev Saude Publica.* 2015;49:29.
38. Campos J, Cançado J. Curvas glicêmicas anormais observadas em pacientes com a forma crônica da moléstia da Chagas. *Hospital (Rio).* 1962;62:275-8.
39. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saúde [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE, Fiocruz; 2014 [cited 2017 Jul 4]. 181 p. Available from: <ftp://ftp.ibge.gov.br/PNS/2013/pns2013.pdf>

40. Volkers KM, Scherder EJA. Impoverished environment, cognition, aging and dementia. *Rev Neurosci*. 2011;22(3):259–66.
41. Gawryszewski, Vilma Pinheiro, Koizumi, Maria Sumie, & Mello-Jorge, Maria Helena Prado de. (2004). As causas externas no Brasil no ano 2000: comparando a mortalidade e a morbidade. *Cadernos de Saúde Pública*, 20(4), 995-1003. <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2004000400014>
42. WHO. WHO | Physical Inactivity: A Global Public Health Problem [Internet]. WHO. World Health Organization; 2014 [cited 2017 Jul 4]. Available from: http://www.who.int/dietphysicalactivity/factsheet_inactivity/en/
43. Epstein FH, Klein I, Ojamaa K. Thyroid Hormone and the Cardiovascular System. *N Engl J Med*. 2001;344(7):501–9.
44. Carlé A, Bülow Pedersen I, Knudsen N, Perrild H, Ovesen L, Laurberg P. Gender differences in symptoms of hypothyroidism: a population-based DanThyr study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015;83(5):717–25.
45. Vanderpump MPJ. The epidemiology of thyroid disease. *Br Med Bull*. 2011;99(1):39–51.

ARTIGO II:
Vitamina D₃,
Catelicidina LL-37 e
Polimorfismos do
Gene VDR em
Pacientes com a
Forma
Indeterminada e
Cardíaca da Doença
de Chagas

VITAMINA D₃, CATELICIDINA LL-37 E POLIMORFISMOS DO GENE VDR EM PACIENTES COM A FORMA INDETERMINADA E CARDÍACA DA DOENÇA DE CHAGAS.

Luiz Roberto de Oliveira Junior¹, Thaysa Buss Carvalho¹, Rodrigo Mattos dos Santos¹, Érika Alessandra Pellison Nunes da Costa¹, Paulo Câmara Marques Pereira¹, Cilmerly Suemi Kurokawa¹.

¹Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina de Botucatu

Correspondência: Luiz Roberto de Oliveira Junior

Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP, Brasil

CEP: 18618-970, Fone: (14)3811-6274

email: luizroliveirajr@icloud.com

Resumo

INTRODUÇÃO: A DC representa um importante desafio para a saúde pública no Brasil e no mundo com a necessidade de métodos alternativos para melhora da qualidade de vida desses pacientes. O envelhecimento dessa população favorece o surgimento de comorbidades que aumentam o risco de doenças cardiovasculares, sobretudo obesidade e hipovitaminose D. Dessa forma, acredita-se que a imunomodulação da vitamina D, principalmente na produção de peptídeos antimicrobianos como catelicidina LL-37, esteja relacionado com sintomas graves da DC.

OBJETIVO: Determinar os níveis séricos de vitamina D, LL-37 e os polimorfismos do gene VDR em pacientes com DC crônica.

MATERIAL E MÉTODOS: Estudo realizado com pacientes do sexo masculino com as formas cardíaca e indeterminada da DC no Ambulatório de Doenças Tropicais. Dados clínicos, antropométricos e sangue para análises laboratoriais foram obtidos. Os níveis séricos de 25(OH)D₃ e LL-37 foram determinados por quimiluminescência e ELISA, respectivamente. Os polimorfismos *Fok*(rs731236), *Bsm*(rs1544410), *Apa*(rs7975232) e *Taq*(rs731236) do gene VDR foram realizados através de PCR-RFLP.

RESULTADOS: Foram incluídos no estudo 64 pacientes, 18 cardíacos e 46 indeterminados. Diferenças entre os grupos para as variáveis idade, etnia, IMC, HA, DM e dislipidemias não foram encontradas, porém a forma cardíaca apresentou níveis séricos de 25(OH)D₃ inferiores a forma indeterminada; o mesmo não ocorreu com LL-37. A associação entre os polimorfismos, vitamina D e forma clínica não foi significativa.

CONCLUSÃO: Os níveis diminuídos de vitamina D sugere associação com a forma cardíaca da DC. Torna-se necessário estudos sobre o papel da vitamina D e LL-37 na resposta imune e na associação dos polimorfismos e susceptibilidade a doenças.

Introdução

A doença de Chagas (DC) é uma doença negligenciada causada pelo parasita protozoário *Trypanosoma cruzi* e presente em 21 países latino-americanos (1–3). Somente no Brasil estima-se que existam de 2 a 3 milhões de pessoas infectadas com 6 mil mortes por ano (4). Porém, a DC também é considerada um problema de saúde pública emergente na América do Norte, Europa e Japão devido a imigração de áreas endêmicas para essas regiões (5). Além de sua importância

clínica e epidemiológica, a DC ainda tem seu impacto financeiro nos serviços de saúde, já que o estabelecimento de sintomas precoces pode levar a tratamentos de longo prazo e procedimentos cirúrgicos de alta complexidade (6,7).

A DC possui duas fases distintas, sendo uma aguda que se desenvolve de 8 a 10 dias após a invasão do parasita; e uma crônica de 2 a 3 meses após a infecção inicial que pode durar por toda a vida (8,9). Cerca de 60 a 70% dos pacientes na fase crônica permanecem assintomáticos e o restante pode evoluir para a forma crônica sintomática com acometimento de órgãos do trato gastrointestinal e/ou coração (9–11). A forma cardíaca é considerada a manifestação mais importante da DC, tanto por sua frequência quanto por sua severidade, com sinais e sintomas que vão desde distúrbios no sistema condutor até condições mais graves como cardiomegalia, falência cardíaca e morte súbita (12–15)

Apesar de diversos estudos envolvendo a patogênese da DC, poucos deles procuram desvendar o motivo de alguns pacientes permanecerem assintomáticos e outros desenvolverem manifestações mais graves da DC. Ainda assim, alguns autores sugerem que isso possa estar relacionado com a resposta inflamatória, os mecanismos imunes envolvidos na eliminação do parasita e a interação genômica entre o parasita e o hospedeiro (16–18).

A indisponibilidade de drogas eficazes no combate à DC em sua fase crônica faz com que sejam necessárias a adoção de tratamentos alternativos que evitem complicações graves, limitem a progressão da doença, diminuam o risco cardiovascular e aumentem a sobrevida desses (19,20). Dessa forma, o controle de comorbidades crônico-degenerativas como hipertensão arterial (HA), diabetes mellitus (DM), dislipidemias e obesidade se torna essencial, já que as mesmas

dificultam o tratamento da DC e podem causar danos irreversíveis ao sistema cardiovascular (20–23).

Dentre as comorbidades relacionadas à DC, a obesidade tem ganho destaque. Um estudo conduzido por Navarro et al. (2013) identificou que o sobrepeso/obesidade estava presente em 86% dos pacientes com a forma indeterminada da DC, sugerindo que os mesmos cuidados direcionados à população geral devam ser realizados com esses pacientes (24). Dessa forma, identificar essas comorbidades na DC poderia contribuir para a melhora da qualidade de vida desses pacientes, sobretudo os que possuem a forma cardíaca da doença (25,26).

Por outro lado, a obesidade e o aumento, da circunferência abdominal, com consequente aumento do Índice de Massa Corpórea (IMC), também tem sido relacionado com a hipovitaminose D₃ e o risco para doenças cardiovasculares, tornando-se um importante problema de saúde. (27–29). Essa associação entre a hipovitaminose D₃ e o aumento de risco cardiovascular são importantes para a saúde pública, já que a suplementação com a vitamina D₃ é segura e de baixo custo (30).

Além do risco para doenças cardiovasculares, a vitamina D₃ também tem um importante papel na resposta imune do organismo devido à sua atividade imunomoduladora (31,32). Seus níveis séricos têm influência direta sobre macrófagos, aumentando o “burst oxidativo” – com a maturação e a produção de citocinas, de fosfatase ácida, de peróxido de hidrogênio e de peptídeos antimicrobianos – e impedindo a expressão de citocinas inflamatórias (33–36). Além disso, a vitamina D também facilita a motilidade de neutrófilos e sua função fagocítica, reduzindo as respostas inflamatórias locais e sistêmicas (37,38).

Já a expressão de peptídeos antimicrobianos é responsável pela eliminação de diversos microrganismos como bactérias, vírus, fungos e parasitas,

sendo considerado um antibiótico endógeno (39–42). Um dos peptídeos antimicrobianos que sofre influência da vitamina D é a catelicidina LL-37 que é encontrado em diversas células do sistema imune, com a função de ativar e controlar as respostas imunes, aumentando a liberação de citocinas e quimiocinas (43–46). Além de seu papel na imunidade inata, defesa do hospedeiro e inflamação, a catelicidina LL-37 ainda está relacionada à angiogênese e arteriogênese (47).

Para que a vitamina D₃ exerça seus efeitos fisiológicos é necessária a ligação com o Receptor de Vitamina D (VDR), um receptor da família de receptores de hormônios esteroides situado no núcleo celular (48–51). Além do núcleo, acredita-se que o VDR esteja expresso em diversos tecidos e células do organismo, o que sugere o efeito parácrino/autócrino da vitamina D (49,52–54).

A síntese do receptor VDR é realizada pelo gene *VDR* localizado cromossomo 12, posição 12q13.11. Esse gene é composto por 11 éxons, sendo que a região codificante, responsável pela expressão de proteínas do receptor VDR, compreende os éxons 2 a 9 (55). Nesse gene ainda estão localizadas variações genéticas em sítios de enzimas de restrição que podem ou não terem efeitos fisiológicos, as quais são denominadas Polimorfismos de Nucleotídeos Únicos (SNPs) (56,57). Esses SNPs podem estar relacionados com as variações na susceptibilidade de desenvolvimento de doenças, sendo as variações *Fok* (rs731236), *Bsm* (rs1544410), *Apa* (rs7975232) e *Taq* (rs731236) as mais utilizadas para estudos de associação genética (58–62).

Sabendo que o grau de adiposidade ou obesidade pode interferir nos níveis de vitamina D e sua diminuição pode estar associada à menor produção de peptídeos antimicrobianos, acredita-se que isso contribua para o aparecimento de sintomas mais graves da DC. Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar os níveis séricos de

25(OH)D₃, catelicidina LL-37 e polimorfismos do gene VDR em pacientes adultos do sexo masculino na fase crônica da doença de Chagas com as formas clínicas cardíaca e indeterminada.

Pacientes e Métodos

Esse estudo foi autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu (Parecer nº. 1.576.519/2016). Todos os participantes foram informados a respeito do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Foram incluídos pacientes adultos do sexo masculino na fase crônica da DC com as formas cardíacas e indeterminadas atendidos no ambulatório que trata distúrbios nutricionais e metabólicos de pacientes portadores de doenças tropicais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

Não foram incluídos no estudo pacientes que possuíam as formas crônicas digestiva e mista da DC, bem como os que se negaram a realizar exames para confirmação da doença e sua forma clínica. Àqueles que se recusaram a assinar o TCLE ou que não compareceram aos compromissos agendados para o exame clínico e coleta de sangue também não foram incluídos.

Os portadores da forma indeterminada foram aqueles que apresentavam sorologia positiva em pelo menos dois métodos (quimioluminescência, hemaglutinação ou imunofluorescência indireta) e com eletrocardiograma (ECG), enema opaco e esôfagos-estômago-duodeno (EED) normais e ausência de sintomas clínicos.

Para a forma cardíaca foram incluídos os pacientes que, além de sorologias positivas, apresentavam alterações no ECG, radiografia de tórax e

sintomas clínicos como palpitações, arritmias, incluindo extra-sístole ventricular, taquicardia e diferentes graus de bloqueios cardíacos.

Os pacientes foram submetidos ao exame clínico para obtenção de dados antropométricos como peso (Kg), altura (m), índice de massa corpórea (IMC) e circunferência abdominal (cm). A consulta de prontuário foi realizada para verificar a idade (anos) e a existência de comorbidades como hipertensão arterial (HA), diabetes *mellitus* (DM) e dislipidemias. O IMC foi classificado de acordo com os parâmetros estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS), sendo Baixo Peso (IMC < 18,5 Kg/m²), Eutrófico (IMC 18,5 – 24,9 Kg/m²), Sobrepeso (IMC 25,0 – 29,9 Kg/m²), Obesidade I (IMC 30,0 – 34,9 Kg/m²), Obesidade II (IMC 35,0 – 39,9 Kg/m²) e Obesidade III (IMC ≥ 40 Kg/m²). Foram classificados como alto risco para doenças cardiovasculares os pacientes com circunferência abdominal > 102 cm de acordo com o *National Cholesterol Education Program (NCEP) - Adult Treatment Panel III (ATPIII)*.

Determinação dos Níveis Séricos de 25(OH)D₃

A determinação dos níveis séricos de 25(OH)D₃, catelicidina LL-37 e polimorfismos do gene *VDR* foram realizados a partir da coleta de 5 mL de sangue venoso periférico. Uma alíquota de 1 mL de sangue total foi separada para extração de DNA e o restante centrifugada para obtenção do soro para dosagem da 25(OH)D e catelicidina LL-37.

Os níveis séricos da 25(OH)D₃ foram determinados com Kit Abbott 25OHD (Abbott Laboratories, North Chicago, IL, USA) através do Imunoensaio Quimioluminescente de Micropartículas (CMIA) no equipamento Architect i2000SR (Abbott Laboratories, North Chicago, IL, USA) localizado no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas de Botucatu – SP, conforme as instruções do

fabricante. Os resultados foram classificados de acordo com a *Endocrine Society* para vitamina D, tendo como referência de suficiência os valores superiores a 30 ng/mL, insuficiência os valores entre 20 ng/mL e 30 ng/mL e deficiência os valores inferiores a 20 ng/mL.

Determinação dos Níveis Séricos de Catelicidina LL-37

A catelicidina LL-37 foi determinada pelo método *sandwich enzyme-linked immuno-sorbent* (ELISA) através do CAMP ELISA Kit Human OKEH00728 (Aviva Systems Biology, San Diego, CA), conforme instruções do fabricante. A placa contendo anticorpos para catelicidina LL-37 foi incubada com os padrões e amostras. Após a lavagem, foi adicionado um anticorpo detector biotinilado específico para catelicidina LL-37 e novamente incubado. Em seguida, a placa foi lavada e adicionado o conjugado de Avidina-Peroxidase. Após a incubação, adicionou-se o substrato TMB no qual gerou uma reação enzimática catalisada por HRP, gerando um produto de cor azul. Após a adição da solução de parada a coloração mudou para amarela, a qual foi lida por uma absorbância de 450 nm. A curva padrão utilizada foi de 0,125 a 8 ng/mL.

Caracterização dos Polimorfismos

Extração de DNA Genômico

Para a determinação dos polimorfismos o DNA genômico foi isolado a partir de leucócitos do sangue venoso periférico utilizando o Kit PureLink® Genomic DNA Mini Kits K182001 (Invitrogen, Carlsbad, USA), de acordo com as instruções do fabricante. O DNA extraído foi mantido em freezer -80°C até a realização das análises. A quantificação do DNA foi realizada no espectrofotômetro NanoVue Plus (GE Healthcare, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK). Os SNPs no gene *VDR* foram

selecionados a partir de busca na literatura e banco de dados dbSNP no NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP>) com as seguintes denominações *Fok* (rs731236), *Bsm* (rs1544410), *Apa* (rs7975232) e *Taq* (rs731236).

Reação em Cadeia de Polimerase para os SNPs

A amplificação de todos os SNPs pela PCR foi realizada em um volume de 25 µL contendo 50 ng de DNA genômico, água Mili-Q, tampão, 3,0 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada de dNTP, 20 pM de cada primer e 1 U de Taq DNA Polimerase (Cellco®, São Carlos, Brasil). As sequências nucleotídicas de cada primer e tamanho do fragmento estão descritas na **Tabela 1**.

Para os SNPs *Apa* (rs7975232) e *Taq* (rs731236) as condições para a PCR foram as seguintes: desnaturação inicial à 95°C por 5 minutos, 35 ciclos de desnaturação à 95°C por 20 segundos, anelamento à 59°C por 30 segundos e extensão à 72°C por 2 minutos; com uma extensão final de 72°C por 10 minutos. Para o SNP *Fok* (rs731236) foram: desnaturação inicial à 95°C por 5 minutos, 35 ciclos de desnaturação à 95°C por 45 segundos, anelamento à 58°C por 45 segundos e extensão à 72°C por 45 segundos; com uma extensão final de 72°C por 10 minutos. No SNP *Bsm* (rs1544410) as condições foram: desnaturação inicial à 94°C por 4 minutos, 35 ciclos de desnaturação à 94°C por 30 segundos, anelamento à 58,5°C por 30 segundos e extensão à 72°C por 30 segundos; com uma extensão final de 72°C por 5 minutos.

Todos os produtos de PCR monitorados por eletroforese em gel de agarose 2%, corado com brometo de etídeo a 0,1% (4 µL em 50 ml de gel de agarose) e visualizados e fotodocumentados em transiluminador ultravioleta (UVP, Upaland, CA, USA).

Tabela 1. *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), sequências nucleotídicas e tamanho de fragmento da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).

SNP	Reference Sequence	Primer Forward	Primer Reverse	Tamanho do Fragmento
Taq T/C	rs731236	5'CAGAGCATGGAC AGGGAGCAA3'	5'GCAACTCCTCAT GGCTGAGGTCTC3'	745 pb
Fok T/C	rs2228570	5'AGCTGGCCCTGG CACTGACTCTGGC TCTG3'	5'ATGGAAACACCT GCTTCTTCTCCCTC 3'	265 pb
Bsm A/G	rs1544410	5'AGTGTGCAGGCG ATTCGTAG3'	5'ATAGGCAGAACC ATCTCTCAG3'	191 pb
Apa T/G	rs7975232	5'CAGAGCATGGAC AGGGAGCAA3'	5'GCAACTCCTCAT GGCTGAGGTCTC3'	745 pb

Digestão dos Produtos de PCR para RFLP

Após a amplificação, 10 µL de cada produto de PCR foram submetidos à RFLP com 1 µL de sua enzima de restrição correspondente para o procedimento de digestão, sendo *FokI*, *Apal* e *BsmI* (New England BioLabs, Boston, MA, USA) e *TaqI* (Jena Bioscience, Munich, Germany). Nessa etapa, as enzimas são mantidas a uma temperatura constante de incubação por 1 hora, de acordo com as instruções do fabricante, para cortar o fragmento de DNA em regiões específicas e gerando novos fragmentos de diferentes tamanhos.

Os genótipos e alelos dos SNPs do gene *VDR* foram baseados de acordo com a ausência (letra maiúscula) ou a presença (letra minúscula) do sítio de restrição, conforme **Figura 1**. A temperatura de incubação, os sítios de restrição, as representações dos genótipos dos fragmentos estão descritas na **Tabela 2**.

Tabela 2. Temperatura de incubação, sítios de restrição e produtos de *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) das amostras analisadas.

Enzima de Restrição	Temperatura de Incubação	Sítio de Restrição	Produtos de RFLP (pb)
<i>TaqI</i>	65°C	5'- T↓CG A-3' 3'- A GC↑T-5'	TT - TT: 494 e 251 TC - Tt: 494, 293, 251 e 201 CC - tt: 293, 251 e 201
<i>FokI</i>	37°C	5'-GGATG N9↓-3' 3'-CCTAC N13↑-3'	CC - FF: 265 CT - Ff: 265, 196 e 69 TT - ff: 196 e 69
<i>BsmI</i>	65°C	5'- GAATGCN↓-3' 3'- CTTAC↑GN-5'	AA - BB: 191 AG - Bb: 191, 115 e 76 GG - bb: 115 e 76
<i>Apal</i>	25°C	5'- G GGCC↓C-3' 3'- C↑CCGG G-5'	AA - AA: 745 AC - Aa: 745, 531 e 214 CC - aa: 531 e 214

TaqI: *Thermus aquaticus*; *FokI*: *Flavobacterium okeanokoites*; *BsmI*: *Bacillus stearothermophilus*; *Apal*: *Arthrobacter luteus*; TT: homozigoto mutado; Tt: heterozigoto; tt: homozigoto selvagem; FF: homozigoto selvagem; Ff: heterozigoto; ff: homozigoto mutado; BB: homozigoto mutado; Bb: heterozigoto; bb: homozigoto selvagem; AA: homozigoto mutado; Aa: heterozigoto; aa: homozigoto selvagem; pb: pares de base.

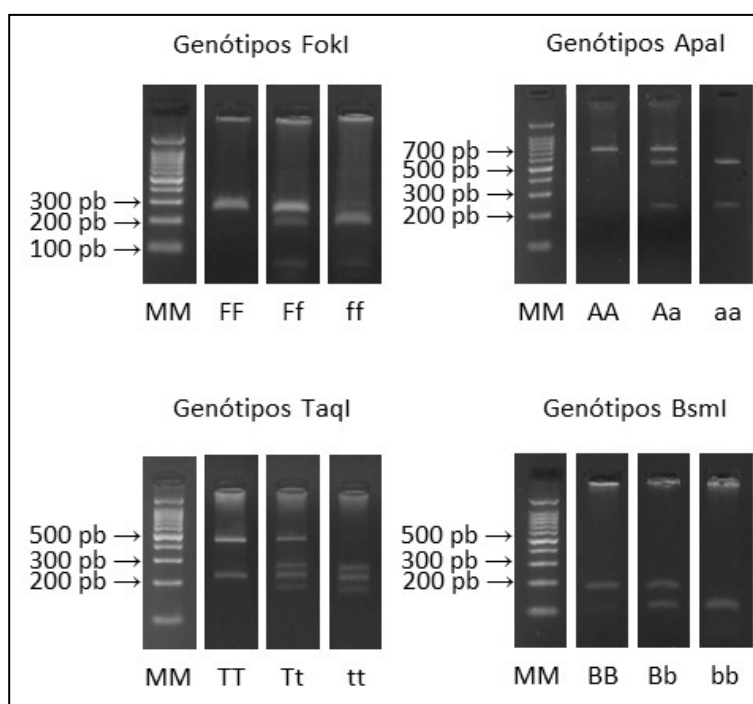


Figura 1: Géis representativos para determinação dos genótipos dos SNPs *Fok* (rs731236), *Bsm* (rs1544410), *Apa* (rs7975232) e *Taq* (rs731236). TT: homozigoto mutado; Tt: heterozigoto; tt: homozigoto selvagem; FF: homozigoto selvagem; Ff: heterozigoto; ff: homozigoto mutado; BB: homozigoto mutado; Bb: heterozigoto; bb: homozigoto selvagem; AA: homozigoto mutado; Aa: heterozigoto; aa: homozigoto selvagem; pb: pares de base.

Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas através do software SigmaPlot®, versão 12.5 para Windows® (Systat Software, Inc., San Jose, CA, USA). Os dados qualitativos foram analisados através do teste de qui-quadrado ou Teste Exato de Fischer, dependendo dos valores dos dados nas tabelas de contingência.

Para os dados quantitativos foram utilizadas análises paramétricas ANOVA e teste-t de Student para variáveis com distribuição normal; para as variáveis com distribuição assimétrica foram analisadas através de Kruskal Wallis e Mann-Whitney.

Para a correlação com os níveis de vitamina D, catelicidina, IMC e cintura foram utilizados o teste não paramétrico de Coeficiente de Correlação de Pearson. Foram considerados diferenças significativas entre os grupos para valores que $p < 0,05$.

Resultados

Foram incluídos no estudo 64 pacientes do sexo masculino, sendo 46 com a forma indeterminada e 18 com a forma cardíaca. A média de idade foi de $60,8 \pm 8,9$ anos para ambos os grupos e não houve diferença estatística entre as faixas etárias menor e maior que 60 anos e as formas clínicas da DC ($p = 0,646$). As demais características dos pacientes incluídos no estudo, agrupados por sua forma clínica, estão descritas na **Tabela 3**.

Não foram encontradas diferenças entre os grupos para as comorbidades associadas à obesidade, tais como idade, etnia, peso, altura, cintura, IMC, HA, DM e dislipidemias. Porém, as dislipidemias foram as comorbidades presentes em 62,5% dos pacientes. Ao se avaliar o IMC, pode-se observar que o sobrepeso (IMC $25,0 - 29,9 \text{ Kg/m}^2$) esteve presente em ambos os grupos.

Quanto aos níveis séricos de 25(OH)D₃ foi possível verificar que os pacientes com a forma cardíaca apresentavam níveis mais baixos que os pacientes com a forma indeterminada, sem diferença de IMC, peso, altura e idade (**Tabela 3**). Porém, apesar dos níveis séricos estarem diminuídos nos pacientes com a forma cardíaca, o mesmo não ocorreu com os níveis séricos de catelicidina, já que os pacientes de ambos os grupos apresentaram níveis semelhantes desse peptídeo antimicrobiano (**Tabela 4**).

Tabela 3. Características dos pacientes com DC.

Variáveis	Forma Indeterminada (n = 46)	Forma Cardíaca (n = 18)	Valor p
Idade (anos)¹	60,3 ± 8,1	62,2 ± 11,0	0,453
Etnia²			
Branco - n (%)	38 (82,6)	11 (61,1)	0,065
Pardo (%)	3 (6,5)	5 (27,8)	
Negro (%)	5 (10,9)	2 (11,1)	
Cintura¹ (cm)	96,3 ± 9,4	97,8 ± 12,5	0,592
Peso¹ (kg)	75,6 ± 11,5	75,0 ± 14,9	0,859
Altura¹ (m)	1,68 ± 0,06	1,69 ± 0,06	0,509
IMC¹ (Kg/m²)	26,9 ± 3,8	26,2 ± 4,3	0,506
Hipertensão Arterial²			
Sim	17 (37,0)	11 (61,1)	0,141
Não	29 (63,0)	7 (38,9)	
Diabetes Mellitus²			
Sim	13 (28,3)	7 (38,9)	0,600
Não	33 (71,7)	11 (61,1)	
Dislipidemias²			
Sim	32 (69,6)	8 (44,4)	0,114
Não	14 (30,4)	10 (55,6)	
25(OH)D₃¹ (ng/mL)	29,3 ± 5,8	25,4 ± 7,3	0,030
Catelicidina³ (ng/mL)	3,98 (0,01 - 33,41)	2,68 (0,03 - 18,76)	0,286

1: Valores expressos em Média ± Desvio Padrão, com Teste-t; 2: Valores expressos em n (%), com teste de Qui-Quadrado; 3: Valores expressos em Média (Mínimo - Máximo), com teste Mann-Whitney. cm: centímetros; kg: quilograma; m: metro; kg/m²: quilograma por metro quadrado; IMC: Índice de Massa Corpórea; ng/mL: nanograma por mililitro; 25(OH)D₃: 25 hidroxivitamina D₃.

Tabela 4. Níveis séricos de 25(OH)D₃ e catelicidina, segundo forma clínica da DC crônica.

Variáveis	Forma Indeterminada (n = 46)	Forma Cardíaca (n = 18)	Valor p
Vitamina D¹ (ng/mL)	29,3 ± 5,8	25,4 ± 7,3	0,030
Suficiente ²	19 (41,3)	4 (22,2)	0,119
Insuficiente ²	24 (52,2)	10 (55,6)	
Deficiente ²	3 (6,5)	4 (22,2)	
Catelicidina³ (ng/mL)	3,98 (0,01 - 33,41)	2,68 (0,03 - 18,76)	0,286

1: Valores expressos em Média ± Desvio Padrão, com Teste-t; 2: Valores expressos em n (%), com teste de Qui-Quadrado; 3: Valores expressos em Média (Mínimo - Máximo), com teste Mann-Whitney. ng/mL: nanograma por mililitro.

A correlação entre os níveis séricos de 25(OH)D₃ com catelicidina, IMC e cintura não foram estatisticamente significantes para ambas as formas clínicas (**Tabela 5**). O mesmo pode ser verificado para correlação da catelicidina com IMC e cintura.

Tabela 5. Correlação dos níveis séricos de 25(OH)D₃, catelicidina, Índice de Massa Corpórea (IMC) e cintura dos pacientes com DC.

Variáveis	25(OH)D ₃		Catelicidina	
	r ²	Valor p	r ²	Valor p
Catelicidina	-0,0336	0,792	-	-
IMC	0,0557	0,662	-0,0353	0,782
Cintura	-0,0534	0,675	0,0213	0,867

25(OH)D₃: 25 hidroxivitamina D₃.

Para análise dos SNPs do gene *VDR* foram excluídos 6 pacientes para o *Taq* (rs731236), 5 para o *Fok* (rs731236), 4 para o *Apa* (rs7975232) e 3 para o *Bsm* (rs1544410). A exclusão ocorreu devido a impossibilidade de extração do DNA e amplificação na PCR-RFLP ou insuficiência de material para análise. Quanto à

distribuição dos SNPs do gene *VDR* (**Tabela 6**), verifica-se que as frequências alélicas e genotípicas observadas para as variantes *Fok* (rs731236), *Bsm* (rs1544410), *Apa* (rs7975232) e *Taq* (rs731236) não apresentaram diferenças significativas entre os níveis séricos de 25(OH)D₃. A análise dos polimorfismos para o gene *VDR* e forma clínica da DC também não diferiu entre as formas clínicas analisadas, conforme demonstrado na **Tabela 7**.

Tabela 6. Distribuição de genótipos e frequência alélica (FA) entre os níveis séricos de 25(OH)D₃ em pacientes com DC crônica.

		Genótipo	Deficiente	Insuficiente	Suficiente	Total	Fr. Alélica		Valor p
							Alelo	FA	
Polimorfismo	<i>Taq</i> (rs731236)	TT (M)	5	16	10	31	T	0,74	0,617
		Tt (H)	1	13	10	24			
		tt (S)	0	2	1	3	t	0,26	
		n	6	31	21	58			
	<i>Fok</i> (rs731236)	FF (S)	3	8	7	18	F	0,56	0,767
		Ff (H)	2	17	11	30			
		ff (M)	2	5	4	11	f	0,44	
		n	7	30	22	59			
	<i>Apa</i> (rs7975232)	AA (M)	3	17	11	31	A	0,69	0,837
		Aa (H)	3	12	6	21			
		aa (S)	1	3	4	8	a	0,31	
		n	7	32	21	60			
	<i>Bsm</i> (rs1544410)	BB (M)	1	8	6	15	B	0,60	0,207
		Bb (H)	6	23	14	43			
		bb (S)	0	0	3	3	b	0,40	
		n	7	31	23	61			

M: Homozigoto Mutado; S: Homozigoto Selvagem; H: Heterozigoto.

Tabela 7. Distribuição de genótipos e frequência alélica entre as formas clínicas da DC crônica.

		Genótipo	Forma Indeterminada	Forma Cardíaca	Total	Fr. Alélica		Valor p
						Alelo	FA	
Polimorfismo	Taq (rs731236)	TT (M)	21	10	31	T	0,74	0,458
		Tt (H)	18	6	24			
		tt (S)	3	0	3	t	0,26	
		n	42	16	58			
	Fok (rs731236)	FF (S)	11	7	18	F	0,56	0,511
		Ff (H)	23	7	30			
		ff (M)	8	3	11	f	0,44	
		n	42	17	59			
	Apa (rs7975232)	AA (M)	26	5	31	A	0,69	0,078
		Aa (H)	13	8	21			
		aa (S)	4	4	8	a	0,31	
		n	43	17	60			
	Bsm (rs1544410)	BB (M)	12	3	15	B	0,6	0,422
		Bb (H)	30	13	43			
		bb (S)	3	0	3	b	0,4	
		n	45	16	61			

M: Homozigoto Mutado; S: Homozigoto Selvagem; H: Heterozigoto.

Discussão

Os níveis de vitamina D₃ encontrados neste estudo foram inferiores nos pacientes com a forma cardíaca da Doença de Chagas crônica. Cerca de 85% dos idosos possuem esta deficiência e 90% do institucionalizados e observada em 50% em indivíduos jovens (63). O fornecimento da Vitamina D pelo SUS já é mencionada e recomendada pelo Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) e sua suplementação já é uma preocupação mundial. Em nosso estudo a percentagem de pacientes com suficiência foi de 36%; e insuficiência e deficiência foram de 64%, percentagens superiores ao observado por Martini et al. (2012) em adultos e idosos (64). Os fatores como etnia, cor de pele, idade e IMC, que poderiam interferir nos níveis de vitamina D₃ não foram diferentes entre os grupos estudos, sugerindo que a

diferença dos níveis de vitamina D₃ esteja relacionado à forma clínica cardíaca da DC crônica.

Os pacientes com a forma cardíaca, de um modo geral, apresentam diversas alterações imunológicas que vão desde a presença de inflamação sistêmica até a inflamação dos tecidos comprometidos e infectados com o parasita. Dessa forma, a hipovitaminose D₃ pode ser um importante fator na resposta imune adequada ao *T. cruzi*. Isso porque a vitamina D₃ regula negativamente a resposta Th1 e suas citocinas (65–67). A supressão do perfil Th17 também é sugerida pelo fato de que a hipovitaminose D₃ também está presente em doenças autoimunes, nas quais a inflamação e a lesão de tecidos é mediada pelo mesmo (68,69). Este fato é reforçado por trabalhos que sugerem o aumento de IL-10 por Treg CD4+ e CD25+ (70).

A vitamina D₃ é capaz de suprimir a produção de citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ , IL-17 e IL-21, porém parece não afetar substancialmente a divisão de células T CD4+ e CD25+ (65–67,69). Além disso, tem ação anti-inflamatória (71) e propicia a formação do perfil Th2 e produção de peptídeos antimicrobianos como a catelicidina e defensinas (45). Os níveis baixos de vitamina D₃ poder favorecer a inflamação e ausentar o hospedeiro de uma resposta imune tipo Th1 não protetora. A formação de células Treg, CTLA-4+ e FoxP3+, linfócitos com grande capacidade supressora da resposta imune, também é estimulada pela presença de vitamina D₃ (69).

Em estudos experimentais com camundongos, a vitamina D₃ tem sua importância relacionada com a manutenção da integridade do epitélio pulmonar e supressão de citocinas inflamatórias no pulmão de camundongos BALB-C. A suplementação em camundongos deficientes diminuiu a produção de citocinas inflamatórias e número de macrófagos e neutrófilos em lavado broncoalveolar (72,73).

Outros efeitos são citados em infecções *in vitro* com o vírus da Dengue, no qual macrófagos humanos sob suplementação com vitamina D3 apresentaram diminuição de receptores para manose e secreção moderada de TNF- α e IL-1 β (74). A vitamina D3 também regula negativamente o acúmulo de depósitos de colesterol em macrófagos, reforçando a ideia da necessidade de reposição em pacientes com a forma cardíaca da DC crônica (75).

A hipovitaminose D observada deve ser decorrente também da idade e presença de sobrepeso/obesidade a qual os pacientes com DC crônica se encontram. Estas condições somadas a presença da doença podem agravar tanto a DC como as comorbidades associadas ao envelhecimento, apesar dos grupos estudados não apresentarem diferenças de idade, etnia e IMC. A hipovitaminose D encontrada na população de estudo pode ser considerada expressiva visto que os pacientes com a DC crônica na forma cardíaca apresentaram níveis mais baixos que pacientes com a forma indeterminada. A vitamina D3 é um mediador da atividade de macrófagos contra *M. tuberculosis*, expressando VDR e enzima CYP27B1 via estimulação de TLR-2/1. A interação entre VDR e vitamina D3 estimula a produção de peptídeos antimicrobianos como a catelicidina (76).

Através da determinação da vitamina D3 é possível propor novas terapias para tratamento de pacientes e posterior acompanhamento clínico. A diferença significativa dos níveis séricos de 25(OH)D₃ nos pacientes com a forma cardíaca em relação com a forma indeterminada da DC crônica reforça a necessidade de suplementação de vitamina D3 nesses pacientes. Porém, os níveis séricos de catelicidina LL-37 não diferiram entre as duas formas clínicas, bem como na sua correlação com os níveis séricos de vitamina D3 e nem com as formas clínicas estudadas. Isso não diminui a importância desse peptídeo na DC, visto que pode ser

modulado por citocinas. A catelicidina é produzida por macrófagos e pode sofrer influência de citocinas que regulam negativamente ou positivamente a resposta de macrófagos, particularmente IL-17 e IL-22 que são cruciais para a regulação positiva de catelicidina (77,78).

Dessa forma, a catelicidina age como imunorreguladora, atuando na angiogênese, proliferação celular, secreção de citocinas, quimiotaxia, degranulação de mastócitos, favorecimento da fagocitose e modulação da expressão gênica (79–81). Sua ação pró-inflamatória está relacionada à regulação de quimiocinas específicas (MCP-1 e IL-8) e ligação a receptores de quimiocinas, como IL-8RB, CCR e CXCR-4 (82). Além disso, a catelicidina LL-37 pode interagir gerar respostas imunes diretamente em células do hospedeiros, já que seus receptores são encontrados em diversas células como monócitos, mastócitos, células T-helper e epiteliais (83,84).

Os níveis séricos de catelicidina LL-37 encontrados nesse estudo foram semelhantes aos níveis plasmáticos encontrados em gestantes, que foi de 1,74 ng/mL, diferente dos $27,2 \pm 4,9$ ng/mL encontrado por Jeng et al. (2009) em indivíduos controle. Este fato sugere que a resposta imune desses indivíduos esteja comprometida e reforça sua relação com os níveis séricos de vitamina D, já que 64,1% os indivíduos apresentaram hipovitaminose D3 (37,85). Para Jeng et al. (2009), níveis séricos de vitamina D3 inferiores a 20 ng/mL interferem na capacidade de expressão completa da catelicidina LL-37 (37). Dessa forma, níveis inadequados de catelicidina LL-37 em relação aos níveis séricos encontrados em indivíduos normais deva ser decorrente da hipovitaminose D3 encontrada nos indivíduos com DC crônica, apesar de não diferir entre as formas clínicas incluídas no estudo.

Não houve diferença na frequência dos polimorfismos de nucleotídeo simples (SNP) *Fok* (rs731236), *Bsm* (rs1544410), *Apa* (rs7975232) e *Taq* (rs731236)

do gene *VDR* quando associados aos níveis séricos de 25(OH)D₃ e consequentemente a catelicidina LL-37. Para tanto, sabe-se que o SNP *Fok* (rs2228570) esteja relacionado com a maior atividade transcricional e melhor resposta à 1 α ,25(OH)₂D₃. Isso porque a troca de uma base timina por uma base citosina (T-C), cria um códon de início adicional (ATG $\rightarrow$ ACG) que muda o local de início da tradução e sintetiza uma proteína com 3 aminoácidos a menos (86).

Os polimorfismos do gene *VDR* e sua associação com a susceptibilidade ao desenvolvimento de doenças infecciosas tem sido amplamente discutido, já que as variações alélicas podem afetar a relação receptor e resposta imune específica (87). Na tuberculose, Selvaraj et al. (2004) sugeriram que os SNPs *Bsm* (rs1544410) e *Taq* (rs731236) e os haplótipos *Bsm/Apa/Taq* reduziram atividade fagocítica de macrófagos infectados com *M. tuberculosis* (88). Salimi et al. (2015) também encontraram associação do polimorfismo *Fok* (rs731236) com a susceptibilidade de tuberculose pulmonar (55). Neela et al. (2015) encontraram associação entre as variantes *Fok* (rs731236) e *Apa* (rs7975232) com a hanseníase bem como genótipos que podem contribuir para o risco de desenvolvimento da doença (89).

Os estudos que relacionam a associação desses SNPs com doenças parasitárias são escassos. Sortica et al. (2014) observaram que os SNPs do gene *VDR* influenciaram na resposta imune em infecções por *P. vivax*, sugerindo que o haplótipo *Taq|C/Bsm|A* possa ser um marcador de susceptibilidade para patógenos intracelulares (90). Nas infecções pelo *T. cruzi* é encontrado apenas um estudo na literatura que verifica a possível relação entre os SNPs do gene *VDR* e a susceptibilidade e manifestações clínicas na DC. Nesse estudo, Leon Rodriguez et al. (2016) observaram que existe uma associação entre o SNP *Fok* (rs2228570) e o risco para desenvolvimento da forma cardíaca da DC (91).

Como limitações, esse estudo não considerou a sazonalidade no período de coleta, não inclusão de mulheres e de pacientes com a forma digestiva e mista da DC crônica. O estudo não foi multicêntrico e não possuía a colaboração de outros centros de estudos sobre a DC e, mesmo incluindo todos os pacientes com as formas indeterminadas e cardíacas da doença atendidos no Ambulatório de Doenças Tropicais do HCFMB, o número de casos foi limitado.

Conclusão

Mesmo após 100 anos de sua descoberta, a DC ainda representa um importante desafio para a saúde pública no Brasil e no mundo. Além da descoberta de drogas eficazes e com efeitos adversos reduzidos, sobretudo para os pacientes na fase crônica da doença, deve-se buscar novos métodos de diagnóstico e tratamento dos pacientes já infectados. Para o tratamento é fundamental a atenção especial aos pacientes com comorbidades associadas ao risco cardiovascular, com o objetivo de melhorar a qualidade de vida e aumentar as taxas de sobrevivência. A reposição de vitamina D3 pode ser uma recomendação para o tratamento destes pacientes.

Enfim, foi observado que existe diferença dos níveis séricos de 25(OH)D3 em pacientes com a DC crônica, no qual pacientes com a forma cardíaca apresentou menor concentração sérica em relação aos pacientes com a forma indeterminada. Esses níveis séricos de 25(OH)D3 não têm correlação com os níveis séricos de catelicidina encontrados nos pacientes com DC. Quanto aos níveis séricos de catelicidina, a concentração foi semelhante entre as formas clínicas estudadas. Na associação entre os polimorfismos do gene VDR para as variações *Fok* (rs731236), *Bsm* (rs1544410), *Apa* (rs7975232) e *Taq* (rs731236), não houve diferença na frequência em relação aos níveis séricos de vitamina D3 e as formas clínicas da DC crônica analisadas no estudo. Porém, a associação entre os SNPs e a

susceptibilidade ao risco de doenças, bem como o papel imunomodulador da vitamina D3, sustentam a necessidade de um estudo mais abrangente desses polimorfismos.

Agradecimentos

Os autores agradecem equipe de enfermagem e médicos do Ambulatório de Doenças Tropicais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu e ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP). Este trabalho obteve auxílio de bolsa de mestrado CAPES para o aluno Luiz Roberto de Oliveira Junior e Thaysa Buss Carvalho.

Referências

1. Dias J, Silveira A, Schofield C. The Impact of Chagas Disease Control in Latin America - A Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz Rio Janeiro*. 2002;97(5):603–12.
2. Bonney KM. Chagas disease in the 21st century: a public health success or an emerging threat? *Parasite*. 2014;21:11.
3. Hotez PJ, Bottazzi ME, Strych U, Chang L-Y, Lim YAL, Goodenow MM, et al. Neglected tropical diseases among the Association of Southeast Asian Nations (ASEAN): overview and update. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(4):e0003575.
4. Nóbrega AA Da, Araújo WN De, Vasconcelos AMN. Mortality due to chagas disease in Brazil according to a specific cause. *Am J Trop Med Hyg*. 2014;91(3):528–33.
5. Perez-Molina J a, Perez-Ayala A, Parola P, Jackson Y, Odolini S, Lopez-Velez R. EuroTravNet: imported Chagas disease in nine European countries, 2008 to 2009. *Euro Surveill*. 2011;16(37):1–5.
6. Lee BY, Bacon KM, Bottazzi ME, Hotez PJ. Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(4):342–8.
7. Franco-Paredes C, Von A, Hidron A, Rodríguez-Morales AJ, Tellez I, Barragán M, et al. Chagas disease: an impediment in achieving the Millennium Development Goals in Latin America. *BMC Int Health Hum Rights*. 2007;7(1):7.
8. Higgs HN, Peterson KJ. Phylogenetic analysis of the formin homology 2 domain. *Mol Biol Cell*. 2005;16(1):1–13.
9. Junqueira Junior LF. Insights into the clinical and functional significance of

- cardiac autonomic dysfunction in Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2012;45(2):243–52.
10. Figueirêdo S da S, Carvalho TN, Nóbrega BB da, Ribeiro FA de S, Teixeira K-I-SS, Ximenes CA. Caracterização radiográfica das manifestações esofagogastrointestinais da doença de Chagas. *Radiol Bras.* 2002;35(5):293–7.
 11. Santos CM dos, Cassiani R de A, Dantas RO. Avaliação clínica da deglutição na doença de Chagas. *Rev da Soc Bras Fonoaudiol.* 2011;16(2):215–20.
 12. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis.* 2001;1(2):92–100.
 13. Nunes MCP, Dones W, Morillo CA, Encina JJ, Ribeiro AL. Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(9):767–76.
 14. Coura JR. Chagas disease: what is known and what is needed - A background article. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007;102 Suppl 1:113–22.
 15. Rocha MOC, Nunes MCP, Ribeiro AL. Morbidity and prognostic factors in chronic chagasic cardiopathy. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009;104 Suppl 1:159–66.
 16. Vago AR, Andrade LO, Leite AA, d'Avila Reis D, Macedo AM, Adad SJ, et al. Genetic characterization of *Trypanosoma cruzi* directly from tissues of patients with chronic Chagas disease: differential distribution of genetic types into diverse organs. *Am J Pathol.* 2000;156(5):1805–9.
 17. Macedo AM, Pena SDJ. Genetic Variability of *Trypanosoma cruzi*: Implications for the Pathogenesis of Chagas Disease. *Parasitol Today.* 1998;14(3):119–24.
 18. Macedo AM, Machado CR, Oliveira RP, Pena SD. *Trypanosoma cruzi*: genetic structure of populations and relevance of genetic variability to the pathogenesis of chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004;99(1):1–12.
 19. Oliveira BG, Abreu MNS, Abreu CDG, Rocha MO da C, Ribeiro AL. Health-related quality of life in patients with Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2011;44(2):150–6.
 20. Jessup M, Abraham WT, Casey DE, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, et al. 2009 focused update: ACCF/AHA Guidelines for the Diagnosis and Management of Heart Failure in Adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: developed in collaboration with t. *Circulation.* 2009;119(14):1977–2016.
 21. Munari DB, Lucchese R, Medeiros M. Reflexões sobre o uso de atividades grupais na atenção a portadores de doenças crônicas. *Ciência, Cuid e Saúde.* 2009;8(0):148–54.
 22. Kamiji MM, Oliveira RB de. O perfil dos portadores de doença de Chagas, com

- ênfase na forma digestiva, em hospital terciário de Ribeirão Preto, SP. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38(4):305–9.
23. Almeida EA de, Barbosa Neto RM, Guariento ME, Wanderley J da S, Souza ML de. Apresentação clínica da doença de Chagas crônica em indivíduos idosos
Clinical presentation of chronic Chagas disease in elderly individuals. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(3):311–5.
 24. Navarro EC, Goto RL, Ricoboni IS, Corrente JE, Henriques RMS, Neves SL, et al. Seroprevalence of chagasic infection in young individuals in a Blood Center in the State of São Paulo, Brasil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2013;55(4):245–50.
 25. Souza W De, Maria T, Carvalho U De, Barrias ES, de Souza W, de Carvalho TMU. Review on *Trypanosoma cruzi*: Host Cell Interaction. *Int J Cell Biol*. 2010;2010:1–19.
 26. Geraix J, Ardisson LP, Marcondes-Machado J, Pereira PCMCM. Clinical and nutritional profile of individuals with chagas disease. *Brazilian J Infect Dis*. 2007;11(4):411–4.
 27. Lips P. Worldwide status of vitamin D nutrition. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2010;121(1–2):297–300.
 28. González L, Ramos-Trautmann G, Díaz-Luquis GM, Pérez CM, Palacios C. Vitamin D status is inversely associated with obesity in a clinic-based sample in Puerto Rico. *Nutr Res*. 2015;35(4):287–93.
 29. Palacios C, Pérez CM, Guzmán M, Ortiz AP, Ayala A, Suárez E. Association between adiposity indices and cardiometabolic risk factors among adults living in Puerto Rico. *Public Health Nutr*. 2011;14(10):1714–23.
 30. Kendrick J, Targher G, Smits G, Chonchol M. 25-Hydroxyvitamin D deficiency is independently associated with cardiovascular disease in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis*. 2009;205(1):255–60.
 31. Veldman CM, Cantorna MT, DeLuca HF. Expression of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) receptor in the immune system. *Arch Biochem Biophys*. 2000;374(2):334–8.
 32. Toubi E, Shoenfeld Y. The role of vitamin D in regulating immune responses. *Isr Med Assoc J*. 2010;12(3):174–5.
 33. Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, Holick MF, Grant WB, Madronich S, et al. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect*. 2006;134(6):1129–40.
 34. Etten E van, Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3: Basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005;97(1–2):93–101.
 35. Alvarez-Rodriguez L, Lopez-Hoyos M, Garcia-Unzueta M, Amado JA, Cacho PM, Martinez-Taboada VM. Age and low levels of circulating vitamin D are associated with impaired innate immune function. *J Leukoc Biol*.

- 2012;91(5):829–38.
36. Staeva-Vieira TP, Freedman LP. 1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits IFN-gamma and IL-4 levels during in vitro polarization of primary murine CD4⁺ T cells. *J Immunol.* 2002;168(3):1181–9.
 37. Jeng L, Yamshchikov A V, Judd SE, Blumberg HM, Martin GS, Ziegler TR, et al. Alterations in vitamin D status and anti-microbial peptide levels in patients in the intensive care unit with sepsis. *J Transl Med.* 2009;7:28.
 38. Lorente F, Fontan G, Jara P, Casas C, Garcia-Rodriguez MC, Ojeda JA. Defective neutrophil motility in hypovitaminosis D rickets. *Acta Paediatr Scand.* 1976;65(6):695–9.
 39. Rico-Mata R, De Leon-Rodriguez LM, Avila EE. Effect of antimicrobial peptides derived from human cathelicidin LL-37 on *Entamoeba histolytica* trophozoites. *Exp Parasitol.* 2013;133(3):300–6.
 40. Barlow PG, Svoboda P, Mackellar A, Nash AA, York IA, Pohl J, et al. Antiviral Activity and Increased Host Defense against Influenza Infection Elicited by the Human Cathelicidin LL-37. *PLoS One.* 2011;6(10):e25333.
 41. Wong JH, Ng TB, Legowska A, Rolka K, Hui M, Cho CH. Antifungal action of human cathelicidin fragment (LL13–37) on *Candida albicans*. *Peptides.* 2011;32(10):1996–2002.
 42. Niyonsaba F, Ushio H, Nakano N, Ng W, Sayama K, Hashimoto K, et al. Antimicrobial peptides human beta-defensins stimulate epidermal keratinocyte migration, proliferation and production of proinflammatory cytokines and chemokines. *J Invest Dermatol.* 2007;127(3):594-604.
 43. Sonawane A, Santos JC, Mishra BB, Jena P, Progida C, Sorensen OE, et al. Cathelicidin is involved in the intracellular killing of mycobacteria in macrophages. *Cell Microbiol.* 2011;13(10):1601–17.
 44. Sigurdardottir SL, Thorleifsdottir RH, Guzman AM, Gudmundsson GH, Valdimarsson H, Johnston A. The anti-microbial peptide LL-37 modulates immune responses in the palatine tonsils where it is exclusively expressed by neutrophils and a subset of dendritic cells. *Clin Immunol.* 2012;142(2):139–49.
 45. Bartley J. Vitamin D: emerging roles in infection and immunity. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010;8(12):1359–69.
 46. Schaubert J, Gallo RL. Expanding the roles of antimicrobial peptides in skin: alarming and arming keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2007;127(3):510–2.
 47. Koczulla AR, Bals R. Antimicrobial peptides: current status and therapeutic potential. *Drugs.* 2003;63(4):389–406.
 48. Sutton ALM, MacDonald PN. Vitamin D: more than a “bone-a-fide” hormone. *Mol Endocrinol.* 2003;17(5):777–91.

49. Hewison M. Vitamin D and immune function: autocrine, paracrine or endocrine? *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2012;243:92–102.
50. Ramagopalan S V, Heger A, Berlanga AJ, Maugeri NJ, Lincoln MR, Burrell A, et al. A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution. *Genome Res.* 2010;20(10):1352–60.
51. Peixoto P V., Klem MAP, França TN, Nogueira VA. Vitamin D poisoning in animals. *Pesqui Veterinária Bras.* 2012;32(7):573–94.
52. Pike JW, Meyer MB. The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010;39(2):255–69. 53. Hewison M, Zehnder D, Bland R, Stewart PM. 1 α -Hydroxylase and the action of vitamin D. *J Mol Endocrinol.* 2000;25(2):141–8.
54. Morris HA, Anderson PH. Autocrine and paracrine actions of vitamin d. *Clin Biochem Rev.* 2010;31(4):129–38.
55. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JBJ, Pols HAP, Van Leeuwen JPTM. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene.* 2004;338(2):143–56.
56. Valdivielso JM, Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta.* 2006;371(1–2):1–12.
57. Fang Y, van Meurs JBJ, D'Alesio A, Jhamai M, Zhao H, Rivadeneira F, et al. Promoter and 3'-untranslated-region haplotypes in the vitamin d receptor gene predispose to osteoporotic fracture: the rotterdam study. *Am J Hum Genet.* 2005;77(5):807–23.
58. Harvey JJ, Brant SR, Knutson JR, Han MK. SNP analysis using catacleave probes. *J Clin Lab Anal.* 2008;22(3):192–203.
59. Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen T V., et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature.* 1994;367(6460):284–7.
60. Gross C, Krishnan A V., Malloy PJ, Eccleshall TR, Zhao X-Y, Feldman D. The Vitamin D Receptor Gene Start Codon Polymorphism: A Functional Analysis of FokI Variants. *J Bone Miner Res.* 1998;13(11):1691–9.
61. Faraco JH, Morrison NA, Baker A, Shine J, Frossard PM. Apal dimorphism at the human vitamin D receptor gene locus. *Nucleic Acids Res.* 1989;17(5):2150.
62. Zhao D-D, Yu D-D, Ren Q-Q, Dong B, Zhao F, Sun Y-H. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with susceptibility to childhood asthma: A meta-analysis. *Pediatr Pulmonol.* 2017;52(4):423–9.
63. Saraiva GL, Cendoroglo MS, Ramos LR, Araújo LMQ, Vieira JGH, Maeda SS, et al. Prevalência da deficiência, insuficiência de vitamina D e hiperparatireoidismo secundário em idosos institucionalizados e moradores na comunidade da cidade de São Paulo, Brasil. *Arq Bras Endocrinol Metabol;*

- 2007;51(3):437–42.
64. Martini LA, Verly E, Marchioni DML, Fisberg RM. Prevalence and correlates of calcium and vitamin D status adequacy in adolescents, adults, and elderly from the Health Survey—São Paulo. *Nutrition*. 2013;29(6):845–50.
 65. Adorini L. Intervention in autoimmunity: The potential of vitamin D receptor agonists. *Cell Immunol*. 2005;233(2):115–24.
 66. Adams JS, Hewison M. Unexpected actions of vitamin D: new perspectives on the regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2008;4(2):80–90.
 67. Kamen DL, Tangpricha V. Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity. *J Mol Med (Berl)*. 2010;88(5):441–50.
 68. Jeffery LE, Raza K, Hewison M. Vitamin D in rheumatoid arthritis—towards clinical application. *Nat Rev Rheumatol*. 2015;12(4):201–10.
 69. Jeffery LE, Burke F, Mura M, Zheng Y, Qureshi OS, Hewison M, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *J Immunol*. 2009;183(9):5458–67.
 70. Xystrakis E, Kusumakar S, Boswell S, Peek E, Urry Z, Richards DF, et al. Reversing the defective induction of IL-10-secreting regulatory T cells in glucocorticoid-resistant asthma patients. *J Clin Invest*. 2006;116(1):146–55.
 71. Pilz S, Tomaschitz A. Role of vitamin D in arterial hypertension. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2010;8(11):1599–608.
 72. Gorman S, Buckley AG, Ling K-M, Berry LJ, Fear VS, Stick SM, et al. Vitamin D supplementation of initially vitamin D-deficient mice diminishes lung inflammation with limited effects on pulmonary epithelial integrity. *Physiol Rep*. 2017;5(15).
 73. Fischer KD, Hall SC, Agrawal DK. Vitamin D Supplementation Reduces Induction of Epithelial-Mesenchymal Transition in Allergen Sensitized and Challenged Mice. Chu HW, editor. *PLoS One*. 2016;11(2):e0149180.
 74. Arboleda Alzate JF, Rodenhuis-Zybert IA, Hernández JC, Smit JM, Urcuqui-Inchima S. Human macrophages differentiated in the presence of vitamin D3 restrict dengue virus infection and innate responses by downregulating mannose receptor expression. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(10):e0005904.
 75. Riek AE, Oh J, Darwech I, Worthy V, Lin X, Ostlund RE, et al. Vitamin D3 supplementation decreases a unique circulating monocyte cholesterol pool in patients with type 2 diabetes. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017;
 76. Martineau AR, Wilkinson KA, Newton SM, Floto RA, Norman AW, Skolimowska K, et al. IFN-gamma- and TNF-independent vitamin D-inducible human

- suppression of mycobacteria: the role of cathelicidin LL-37. *J Immunol.* 2007;178(11):7190–8.
77. Kolls JK, McCray PB, Chan YR, Chan YR. Cytokine-mediated regulation of antimicrobial proteins. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(11):829–35.
 78. Johansson J, Gudmundsson GH, Rottenberg ME, Berndt KD, Agerberth B. Conformation-dependent antibacterial activity of the naturally occurring human peptide LL-37. *J Biol Chem.* 1998;273(6):3718–24.
 79. Bowdish DME, Davidson DJ, Hancock REW. A re-evaluation of the role of host defence peptides in mammalian immunity. *Curr Protein Pept Sci.* 2005;6(1):35–51.
 80. Niyonsaba F, Hirata M, Ogawa H, Nagaoka I. Epithelial cell-derived antibacterial peptides human beta-defensins and cathelicidin: multifunctional activities on mast cells. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2003;2(3):224–31.
 81. Oppenheim JJ, Biragyn A, Kwak LW, Yang D. Roles of antimicrobial peptides such as defensins in innate and adaptive immunity. *Ann Rheum Dis.* 2003;62 Suppl 2:ii17-21.
 82. Scott MG, Davidson DJ, Gold MR, Bowdish D, Hancock REW. The human antimicrobial peptide LL-37 is a multifunctional modulator of innate immune responses. *J Immunol.* 2002;169(7):3883–91.
 83. Tjabringa GS, Aarbiou J, Ninaber DK, Drijfhout JW, Sørensen OE, Borregaard N, et al. The antimicrobial peptide LL-37 activates innate immunity at the airway epithelial surface by transactivation of the epidermal growth factor receptor. *J Immunol.* 2003;171(12):6690–6.
 84. Yang D, Biragyn A, Hoover DM, Lubkowski J, Oppenheim JJ. Multiple Roles of Antimicrobial Defensins, Cathelicidins, and Eosinophil-Derived Neurotoxin in Host Defense. *Annu Rev Immunol.* 2004;22(1):181–215.
 85. Mandic Havelka A, Yektaei-Karin E, Hultenby K, Sørensen O, Lundahl J, Berggren V, et al. Maternal plasma level of antimicrobial peptide LL37 is a major determinant factor of neonatal plasma LL37 level. *Acta Paediatr.* 2010;99(6):836–41.
 86. Whitfield GK, Remus LS, Jurutka PW, Zitzer H, Oza AK, Dang HT, et al. Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene. *Mol Cell Endocrinol.* 2001;177(1–2):145–59.
 87. Bid HK, Mishra DK, Mittal RD. Vitamin-D receptor (VDR) gene (Fok-I, Taq-I & Apa-I) polymorphisms in healthy individuals from north indian population. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2005;6(2):147–52.
 88. Selvaraj P, Kurian SM, Chandra G, Reetha AM, Charles N, Narayanan PR. Vitamin D receptor gene variants of BsmI, ApaI, TaqI, and FokI polymorphisms in spinal tuberculosis. *Clin Genet.* 2004;65(1):73–6.

89. Neela VSK, Suryadevara NC, Shinde VG, Pydi SS, Jain S, Jonnalagada S, et al. Association of Taq I, Fok I and Apa I polymorphisms in Vitamin D Receptor (VDR) gene with leprosy. *Hum Immunol.* 2015;76(6):402–5.
90. Sortica VA, Cunha MG, Ohnishi MDO, Souza JM, Ribeiro-dos-Santos ÂKC, Santos SEB, et al. Role of IL6, IL12B and VDR gene polymorphisms in *Plasmodium vivax* malaria severity, parasitemia and gametocytemia levels in an Amazonian Brazilian population. *Cytokine.* 2014;65(1):42–7.
91. Leon Rodriguez DA, Carmona FD, González CI, Martin J. Evaluation of VDR gene polymorphisms in *Trypanosoma cruzi* infection and chronic Chagasic cardiomyopathy. *Sci Rep.* 2016;6:31263.

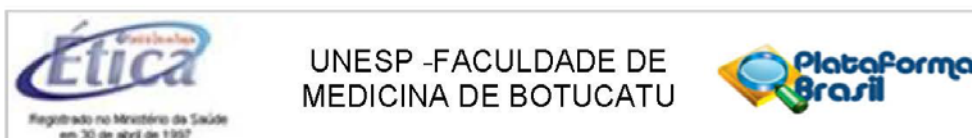
CONSIDERAÇÕES FINAIS

A DC em sua fase crônica está presente principalmente na população idosa, a qual também está sujeita ao surgimento de diversas comorbidades que podem intensificar as lesões cardiovasculares. Diante disso, torna-se necessário a adoção de medidas que acompanhem esses pacientes e controlem essas comorbidades.

A existência de uma relação entre a DC crônica em sua forma cardíaca e os baixos níveis séricos de vitamina D₃ – que tem um papel importante na defesa do organismo e no envelhecimento – reforça a presença desta comorbidade (hipovitaminose D₃), que se tratada poderia trazer benefícios no controle das comorbidades associadas à idade e à própria DC.

O tratamento dessas comorbidades, associadas ou não com a DC, poderiam trazer uma melhora na qualidade de vida do paciente, diminuindo o risco de doenças cardiovasculares e suas consequências.

ANEXOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: VITAMINA D E LL-37 EM PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS

Pesquisador: LUIZ ROBERTO DE OLIVEIRA JUNIOR

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 55366616.9.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.576.519

Apresentação do Projeto:

A Doença de Chagas (DC) tem como agente etiológico o parasita *Trypanosoma cruzi* e afeta atualmente de 8 a 10 milhões de pessoas no mundo. A transmissão para o ser humano pode ser vetorial, através das fezes dos triatomíneos, transfusão/transplante, congênita, acidental e oral. Entre 30% e 40% dos pacientes infectados desenvolvem a forma crônica sintomática, sendo elas a digestiva, a cardíaca e a mista.

A vitamina D é bem conhecida pelo seu efeito regulador da resposta imunológica, e, mais especificamente, atua na produção de peptídeos antimicrobianos, como a catelicidina, capazes de eliminar patógenos.

A catelicidina possui apenas um gene ativo identificado no homem, o LL-37, com a capacidade de rompimento das membranas bacterianas e virais, ativação e controle de respostas imunes e aumento da liberação de citocinas e quimiocinas. Os efeitos biológicos da vitamina D são mediados pelo receptor de vitamina D (VDR) situado no núcleo celular.

Serão incluídos indivíduos adultos do sexo masculino, positivos para DC, na forma cardíaca e indeterminada, matriculados no ambulatório que trata distúrbios nutricionais e metabólicos de pacientes portadores de doenças tropicais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP. O grupo controle será composto por servidores da UNESP, pareados por características clínicas semelhantes ao grupo de estudo, que serão convidados a participar do

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

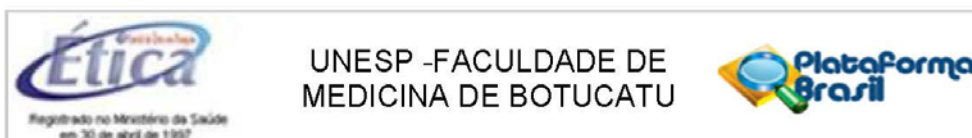
CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.576.519

estudo como voluntários. No total serão incluídos 150 pacientes, 50 em cada grupo.

A dosagem de vitamina D, dos peptídeos antimicrobianos e polimorfismos serão realizado nos Laboratórios Experimentais da Pediatria, sem custos para o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu. Os pacientes serão avaliados através de exame clínico, no próprio ambiente do ambulatório, em salas específicas para realização desses procedimentos, sendo garantidos individualidade, sigilo e confidencialidade. O exame clínico envolverá peso, altura, índice de massa corpórea (IMC), circunferência abdominal e pressão arterial. Além disso, será coletada uma amostra de sangue para realização de exames laboratoriais que envolvem: dosagem de vitamina D, quantificação de peptídeo antimicrobiano (catelicidina LL-37) e análise de polimorfismos de nucleotídeo simples (SNPs) do gene receptor da vitamina D (VDR). Todos os indivíduos comparecerão ao Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu em dias e horários pré-estabelecidos.

Objetivo da Pesquisa:

Verificar os níveis de vitamina D, sua associação com os níveis de LL-37 (catelicidina) e o polimorfismo do VDR, em pacientes com a forma indeterminada e forma cardíaca da DC comparados a controle.

Objetivo Secundário: Determinar os níveis séricos de vitamina D e catelicidina LL-37 em adultos de ambos os sexos nas formas clínicas da DC e controle; Correlacionar às concentrações séricas de vitamina D e catelicidina LL-37 nas formas clínicas da DC e controle.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos estão relacionados à coleta de sangue para realização de exames laboratoriais.

Em relação aos benefícios, esse trabalho poderá trazer novas perspectivas na compreensão da vitamina D na produção de fatores antimicrobianos, como a catelicidina LL-37 e propor novas terapias coadjuvantes com a Vitamina D no tratamento de pacientes com a forma indeterminada e cardíaca da DC. Além disso, a compreensão das alterações genômicas do hospedeiro e sua correlação com a forma da doença são de grande importância na identificação de subgrupos de pacientes para posterior acompanhamento clínico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto foi apresentado de forma adequada, contempla os dados suficientes para seu

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

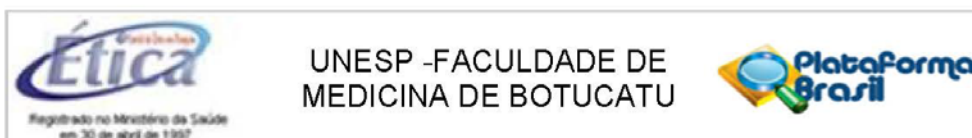
UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

CEP: 18.618-970

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.576.519

entendimento e justifica sua realização, com base na literatura e relevância.

Os objetivos são claros e metodologia bem descrita.

Prevê um custo de R\$ 41.000,00, com verba e equipamentos remanescentes de projetos anteriores.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os documentos exigidos foram apresentados. O TCLE foi escrito de forma adequada e clara, sendo elaborados dois diferentes documentos, um direcionado aos pacientes com Chagas e outro aos voluntários do grupo controle.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sou de parecer favorável à aprovação do projeto, sem necessidade de envio à CONEP.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto de Pesquisa APROVADO, deliberado em reunião do CEP de 06/06/2016, sem necessidade de envio à CONEP.

O CEP solicita aos pesquisadores que após a execução do projeto em questão, enviem para análise o respectivo "Relatório Final de Atividades", o qual deverá ser enviado via Plataforma Brasil na forma de "NOTIFICAÇÃO".

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_683690.pdf	20/04/2016 11:47:38		Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Assinada.pdf	20/04/2016 11:47:01	LUIZ ROBERTO DE OLIVEIRA JUNIOR	Aceito
Outros	Anuencia_EAP.pdf	20/04/2016 11:46:46	LUIZ ROBERTO DE OLIVEIRA JUNIOR	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Control.pdf	22/03/2016 14:12:40	LUIZ ROBERTO DE OLIVEIRA JUNIOR	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE_Estudo.pdf	22/03/2016 14:12:00	LUIZ ROBERTO DE OLIVEIRA JUNIOR	Aceito

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

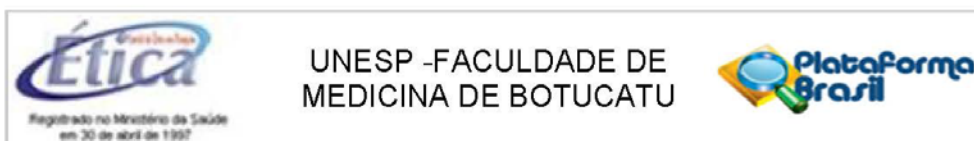
CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1608

E-mail: capellup@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 1.576.519

Ausência	TCLE_Estudo.pdf	22/03/2016 14:12:00	LUIZ ROBERTO DE OLIVEIRA JUNIOR	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Chagas_Plat_Brasil_2016.pdf	22/03/2016 14:11:47	LUIZ ROBERTO DE OLIVEIRA JUNIOR	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 06 de Junho de 2016

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignolli, s/n
Bairro: Rubião Junior
UF: SP **Município:** BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1608 **CEP:** 18.618-970
E-mail: capellup@fmb.unesp.br



**Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu**



Distrito Rubião Júnior, s/nº - Botucatu - SP

CEP: 18.618-970

Fone: (14) 3880-1608/3880-1609

E-mail Secretaria: capellup@fmb.unesp.br / kleber@fmb.unesp.br

E-mail Coordenadoria: smolina@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de Abril de 1997

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) – RESOLUÇÃO 466/2012

CONVIDO, o Senhor (a) _____

RG Hospitalar nº _____ para participar do meu Projeto de Pesquisa intitulado “**VITAMINA D E LL-37 EM PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS**”, que será desenvolvido por mim **LUIZ ROBERTO DE OLIVEIRA JUNIOR, FARMACÊUTICO**, com orientação da Biomédica e Professora **DRA. CILMERY SUEMI KUROKAWA** da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

Estou estudando a **DOENÇA DE CHAGAS**. Para que eu possa ter um resultado nesse momento preciso coletar 5 ml do seu sangue que será realizado os seguintes exames: **VITAMINA D, QUANTIFICAÇÃO DE PEPTÍDEOS ANTIMICROBIANOS E VERIFICAÇÃO DO POLIMORFISMO DO GENE VDR**. O risco com a coleta de sangue será a picadinha da agulha e uma possível manchinha roxa que desaparecerá bem rapidamente.

Solicito também seu consentimento para consultar seu prontuário médico para coletar outras informações lá contidas como **RESULTADOS DE EXAMES** referentes a consultas feitas anteriormente pelo(a) Senhor(a). Além disso o(a) Senhor(a) responderá um questionário que levará uns 15 minutos de duração.

Seu benefício em participar será o de **NOS AJUDAR A COMPREENDER MELHOR A VITAMINA D E SUA PRODUÇÃO DE FATORES QUE PODEM CONTRIBUIR PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS**.

Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo na continuidade do seu tratamento.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 02 vias de igual teor, o qual 01 via será entregue ao Senhor (a) devidamente rubricada, e a outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8 às 11:30 e das 14 às 17 horas, na Chácara Butignolli, s/nº, em Rubião Júnior – Botucatu/SP.

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, **CONCORDO EM PARTICIPAR** de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo que os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas, sem, no entanto, que minha identidade seja revelada.

Botucatu, _____ de _____ de _____.

Pesquisador

LUIZ ROBERTO DE OLIVEIRA JUNIOR
Rua Dr. José Barbosa de Barros, 1160 – Apto. 23A –
Jardim Paraíso – Botucatu/SP
Tel.: (14) 99734-9225
E-mail: luizroliveirajr@icloud.com

Participante da Pesquisa

PROFA. DRA. CILMERY SUEMI KUROKAWA
Rua Úrsula Camargo de Barros, 433 – Jardim Paraíso –
Botucatu/SP
Tel.: (14) 99691-6721
E-mail: cskurokawa@gmail.com