

INFECÇÃO EXPERIMENTAL PELO *TRYPANOSOMA CRUZI* EM CAMUNDONGOS: INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO *VERSUS* LINHAGENS E SEXOS



EXPERIMENTAL INFECTION WITH *TRYPANOSOMA CRUZI* IN MICE: INFLUENCE OF EXERCISE *VERSUS* STRAINS AND SEXES

Roberta Cristhiany Occhi Soares¹
Cristiano Schebeleski Soares²
Solange Marta Franzói-de-Moraes³
Márcia Regina Batista⁴
Heloisa Nakai Kwabara⁴
André Morelli Rodrigues de Sousa⁵
Neide Martins Moreira¹
Mônica Lúcia Gomes⁶
Silvana Marques de Araújo⁶

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Universidade Estadual de Maringá, PR, Brasil.
2. Departamento de Educação Física – Centro Universitário de Maringá, PR, Brasil.
3. Departamento de Ciências Fisiológicas – Universidade Estadual de Maringá, PR, Brasil.
4. Departamento de Análises Clínicas – Universidade Estadual de Maringá, PR, Brasil.
5. Departamento de Odontologia – Universidade Estadual de Maringá, PR, Brasil.
6. Departamento de Ciências Básicas da Saúde – Universidade Estadual de Maringá, PR, Brasil.

Correspondência:

Departamento de Ciências Básicas da Saúde, Bloco I-90 – Universidade Estadual de Maringá
Av. Colombo, 5.790, Jd. Universitário – 87020-900 – Maringá, PR, Brasil
E-mail: robertacocchi@bol.com.br

RESUMO

Introdução: A doença de Chagas é uma infecção causada pelo *Trypanosoma cruzi* que afeta oito milhões de pessoas na América Latina. Um fator ligado ao estilo de vida que interfere significativamente na resposta à infecção é o exercício físico, dependendo do tipo, intensidade e frequência da atividade praticada. **Objetivo:** Avaliar a influência do exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção na evolução da infecção experimental pelo *T. cruzi* em camundongos de duas linhagens distintas pertencentes aos dois sexos. **Métodos:** Camundongos Swiss e BALB/c (machos e fêmeas) com 30 dias de idade foram divididos em quatro grupos para cada linhagem e sexo (total de 16) e nomeados como segue: SM (Swiss machos), SF (Swiss fêmeas), BM (BALB/c machos) e BF (BALB/c fêmeas). Os grupos foram: NT+NI (não treinado+não infectado), T+NI (treinado+não infectado), NT+I (não treinado+infectado) e T+I (treinado+infectado). O programa de exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção foi realizado durante oito semanas, com uma sessão diária de treinamento, cinco vezes na semana. O inóculo foi de 1.400 tripomastigotas sanguíneos da cepa Y do *T. cruzi*, via intraperitoneal. Foi avaliado o pico de parasitos, parasitemia total média e as medidas das atividades séricas de CK e CK-MB. **Resultados e Conclusão:** O treinamento físico promoveu nas duas linhagens e em ambos os sexos redução no pico de parasitos e na parasitemia total média em animais infectados pelo *T. cruzi*. O treinamento físico promoveu redução nas atividades séricas de CK e CK-MB em animais infectados pelo *T. cruzi*, de ambos os sexos, das duas linhagens, exceto para fêmeas Swiss na atividade de CK e CK-MB.

Palavras-chave: treinamento físico, *Trypanosoma cruzi*, creatina quinase (CK), creatina quinase-MB (CK-MB), parasitemia.

ABSTRACT

Background: Chagas disease is an infection caused by *Trypanosoma cruzi* that affects eight million people in Latin America. One factor linked to the lifestyle that significantly interferes in the response to infection is physical exercise, depending on the kind, intensity and frequency of the activity practiced. **Objective:** To evaluate the influence of pre-infection chronic moderate aerobic exercise in the development of experimental infection with *T. cruzi* in mice of two distinct lineages from both sexes. **Methods:** 30-day old Swiss and BALB/c mice (male and female) were divided into four groups for each strain and sex (total 16) and named as follows: SM (Swiss males), SF (Swiss females) BM (BALB/c mice) and BF (BALB/c mice). The groups were: NT NI (untrained uninfected) T NI (trained not infected); NT I (untrained infected), TI (trained infected). The aerobic exercise pre-moderate chronic infection training was performed with one daily session for eight weeks, five times a week. The inoculum was 1,400 blood trypomastigotes of Y strain of *T. cruzi* intraperitoneally. The peak of parasites, parasitemia total and average measurements of the serum activities of CK and CK-MB were evaluated. **Results and Conclusions:** The physical training promoted reduction in peak, parasitemia parasites and total average in animals infected with *T. cruzi* in both strains and sexes. Physical training induced reduction in serum activities of CK and CK-MB in animals infected with *T. cruzi* of both sexes and from the two strains, except for females in the Swiss CK activity.

Keywords: physical training, *Trypanosoma cruzi*, creatine kinase (CK), creatine kinase-MB (CK-MB), parasite

INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é uma infecção causada pelo *Trypanosoma cruzi* que afeta oito milhões de pessoas na América Latina¹. Um fator ligado ao estilo de vida que interfere significativamente na resposta à infecção é o exercício físico, dependendo do tipo, intensidade e frequência da atividade praticada^{2,3}.

A literatura tem referido que uma ou poucas sessões de exercício,

quer seja realizado em intensidade moderada quer seja extenuante ou de longa duração, inibem linfócitos T *helper* do tipo 1 (Th1), de caráter inflamatório, e estimulam linfócitos T *helper* do tipo 2 (Th2), de caráter anti-inflamatório⁴. A diferença entre a intensidade de realização do exercício reside no fato de que o exercício físico moderado, mesmo durante a infecção, pode não alterar ou melhorar a resposta imunológica do hospedeiro, tanto em infecções virais⁵ quanto em in-

fecções parasitárias^{3,6}, enquanto que o exercício extenuante promove maior risco para o desenvolvimento de infecções⁷ e piora a resposta imunológica do hospedeiro⁸.

Um estudo recente utilizando programa de treinamento físico com intensidade moderada para camundongos BALB/c concluiu que o exercício crônico é capaz de melhorar a resposta do organismo à infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, diminuindo significativamente o pico de parasitos e aumentando a sobrevida³.

A diferença da resposta entre sexos também é um fator que afeta a relação entre exercício e infecção. Na maioria dos estudos com doenças parasitárias, inclusive com o *T. cruzi*, os hormônios sexuais femininos aparecem relacionados diretamente com uma melhor resposta do organismo à infecção, enquanto os hormônios sexuais masculinos aparecem associados a um aumento de suscetibilidade⁹. Em roedores, a ovariectomia esteve relacionada a uma menor resistência de fêmeas à infecção pelo *T. cruzi*¹⁰, enquanto a orquiectomia se relacionou com uma melhora da resposta de machos à infecção^{11,12}. Nas infecções por vírus o estrogênio possui atividade de redução da resposta pró-inflamatória e de estimulação da resposta anti-inflamatória, que está ligada a uma melhor resposta à infecção¹³.

A creatina fosfoquinase (CPK) é uma grande proteína encontrada em duas ou mais formas. Estas formas – isoenzimas diméricas – são constituídas por duas subunidades polipeptídicas distintas, M e B. Três isoenzimas de CPK são naturalmente encontradas em tecidos humanos: CK-MM (músculo esquelético), CK-MB (músculo cardíaco) e CK-BB (cérebro)^{14,15}.

Devido ao tamanho restritivo das CKs que as impede de serem liberadas do tecido hospedeiro para a corrente sanguínea, salvo em caso de lesão da membrana, a presença destas proteínas no soro é utilizada para diagnosticar e avaliar os danos celulares causados por fatores tais como doenças ou exercício físico. Assim, CK e CK-MB são as enzimas mais amplamente utilizadas como marcadores no diagnóstico da lesão do miocárdio e músculo esquelético¹⁶.

Na infecção experimental pelo *T. cruzi* foi observada uma correlação positiva entre os níveis plasmáticos de CK-MB e os infiltrados inflamatórios e uma não correlação desta enzima com os ninhos de parasitos. Tais informações sugerem que as lesões no miocárdio ocorrem em função da resposta inflamatória e não do efeito direto do *T. cruzi* e que a medida da atividade da CK-MB pode ser usada como um marcador de lesão cardíaca¹⁷.

Na literatura não são encontradas referências que avaliam a relação da atividade de CK e CK-MB, *T. cruzi*, exercício físico, diferença entre sexos e linhagens em camundongos ou ratos. As informações obtidas são encontradas em trabalhos comparando somente duas das três variáveis e, em alguns casos, utilizando outro tipo de intervenção e/ou tratamento.

O estudo da influência do exercício físico aeróbio na evolução da infecção experimental pelo *T. cruzi* relacionando sexo, atividade de CK e CK-MB e genética do hospedeiro apresenta inúmeros pontos interessantes que podem ser elucidados, trazendo novas informações tanto com relação ao exercício em si como novas alternativas para o tratamento e qualidade de vida de pacientes infectados pelo *T. cruzi*.

Diante do apresentado, a proposta deste trabalho foi avaliar a influência do exercício físico moderado na evolução da infecção experimental pelo *T. cruzi* em camundongos de duas linhagens distintas pertencentes aos dois sexos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEAE/UEM) sob o parecer 076/2008.

Animais

Foram utilizados camundongos das linhagens Swiss e BALB/c (machos e fêmeas), com aproximadamente 30 dias de idade. Quatro grupos para cada linhagem e sexo (total de 16) foram constituídos para a realização dos experimentos: NT+NI (não treinado+não infectado), T+NI (treinado+não infectado), NT+I (não treinado+infectado) e T+I (treinado+infectado) (tabela 1).

Tabela 1. Número total de animais utilizados nos experimentos com camundongos das linhagens Swiss e BALB/c (machos e fêmeas), submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção e infectados ou não com a cepa Y do *T. cruzi*.

Experimentos	Linhagem			
	SWISS		BALB/c	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
NT+NI	17	13	10	29
NT+I	10	30	25	38
T+NI	19	14	10	46
T+I	16	28	10	41
Total	62	85	55	154

Os animais foram condicionados em caixas de polipropileno (dimensão 414 x 344 x 168mm) tampadas com grade zincada com depressão central para deposição da ração e para garrafa de água. As caixas foram mantidas em biotério climatizado (temperatura entre 22 e 24°C) com ciclo claro/escuro de 12 horas, forradas com maravalha e limpas três vezes na semana, com água (clorada) e ração (Nuvilab Cr-1[®] da Nuvital[®]) disponíveis *ad libitum*.

Para avaliar a evolução da infecção, 50% dos animais foram sacrificados no oitavo dia de infecção e a outra metade foi mantida viva para o acompanhamento da parasitemia.

Protocolo de exercício físico

Os animais foram submetidos ao exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção em esteira rolante (Inbrasport[®] modelo Classic CI[®]) com adaptador para treinamento de animais de pequeno porte e com um sistema que permite a programação das sessões de treinamento e controle digital da velocidade com sensibilidade de dois metros por minuto (m/min). O protocolo de exercício físico utilizado corresponde a um esforço moderado^{3,18}. Não foram utilizados mecanismos de choque ou similares para induzir o animal a se exercitar. Foi considerado um período inicial de uma semana de treinamento para excluir animais considerados inaptos para o exercício físico.

O programa de exercício físico foi realizado durante oito semanas, sendo composto por uma sessão diária de treinamento, cinco vezes na semana, com duração de 30 a 45 minutos com velocidade de seis a 14m/min na primeira semana, 45 a 60 minutos e velocidade de oito a 16m/min na segunda semana e 60 minutos com velocidade de 10 a 20m/min nas demais (velocidade média de 13m/min nas quatro primeiras semanas e de 17,5m/min nas quatro últimas).

Infecção

O inóculo utilizado foi de 1.400 formas tripomastigotas sanguíneas da cepa Y do *T. cruzi*¹⁹, via intraperitoneal. Os animais foram infectados três dias após o término do programa de exercício físico crônico pré-infecção.

Curva de parasitemia

A parasitemia foi avaliada utilizando a técnica de Brener²⁰ retirando 5µL de sangue da cauda e examinando-se 50 campos entre lâmina e

lamínula (22mm x 22mm), diariamente, do quarto ao 11º dia de infecção. A curva de parasitemia foi traçada utilizando a média da contagem de parasitos dos animais inoculados para cada grupo.

Coleta de material biológico

No oitavo dia de infecção, 50% dos animais foram sacrificados por meio do aprofundamento da anestesia inalatória com éter etílico (etoxietano). Posteriormente, foi realizada punção cardíaca para coleta de sangue. Com uma seringa heparinizada era obtido cerca de 1mL de sangue para camundongos BALB/c e de 2mL de sangue para camundongos Swiss. Em tubos de ensaio (tipo hemólise) o sangue foi mantido em banho de gelo até ser centrifugado a 2.000 RPM, o sobrenadante retirado e centrifugado a 4.000 RPM, em centrifuga refrigerada a 4°C e em seguida dividido em alíquotas de 85µL em tubos tipo Eppendorf, sendo congelado a -70°C para avaliar a medida das atividades séricas de CK e CK-MB.

Determinação das atividades séricas de CK E CK-MB

Para a análise foram utilizados os kits comerciais para dosagem de CK-NAC FS IFCC e CK-MB FS, ambos fabricados por DiaSys Diagnostic Systems GmbH & Co. KG, importados e distribuídos por Biosys Ltda. Para realização dos testes utilizou-se do aparelho Selectra E, um analisador automático bioquímico fotométrico. O método de leitura deste aparelho é feito através de teste UV otimizado de acordo com DGKC (Sociedade Germânica de Química Clínica) e IFCC (Federação Internacional de Química Clínica) expressando os resultados em U/l.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

As comparações estatísticas foram realizadas através do programa Assstat versão 7.5 (disponibilizado pela Universidade Federal de Campina Grande, Brasil), utilizando-se de análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey (para resultados que apresentaram normalidade), teste de Mann-Whitney (teste U) (para resultados da parasitemia que não apresentaram normalidade), teste de Kruskal-Wallis (para os demais resultados que não apresentaram normalidade), e também o programa Microsoft Excel, versão 2007 (Microsoft). Os dados foram expressos como média ± desvio padrão, sendo adotado nível de significância de 10%.

RESULTADOS

Tanto na linhagem Swiss quanto na BALB/c, para ambos os sexos, os grupos treinados e infectados (T+I) apresentaram pico de parasitos menor que seus respectivos controles (NT+I). A diferença foi significativa para machos Swiss e fêmeas BALB/c (figuras 1 e 2).

Nas figuras 3 e 4 pode ser observado que o pico de parasitos foi estatisticamente maior em animais BALB/c machos do grupo treinado e infectado (T+I) que em animais Swiss do mesmo sexo ($p < 0,10$). Para a comparação de fêmeas, o pico de parasitos foi maior em animais Swiss (SF e BF/T+I) ($p < 0,05$). Fêmeas Swiss (SF) treinadas e infectadas (T+I) apresentaram maior pico de parasitos que machos da mesma linhagem e grupo (SM/T+I) ($p < 0,05$).

A parasitemia total média foi estatisticamente menor para camundongos da linhagem Swiss, de ambos os sexos, pertencentes ao grupo treinado e infectado (T+I) (tabela 2).

Para animais machos não treinados e infectados (NT+I), a parasitemia total média foi maior para a linhagem Swiss ($p < 0,10$). Entre camundongos fêmeas, a parasitemia total média também foi estatisticamente maior para a linhagem Swiss do grupo não treinado e infectado (SF/NT+I – $p < 0,05$). Para os grupos treinados e infectados (SF e BF/T+I), a parasitemia foi maior para a linhagem BALB/c ($p < 0,05$) (figura 5).

Para animais treinados e infectados (T+I), a comparação entre sexos apresentou maior parasitemia total média somente para camundongos machos da linhagem Swiss (SM) ($p < 0,05$) (figura 6).

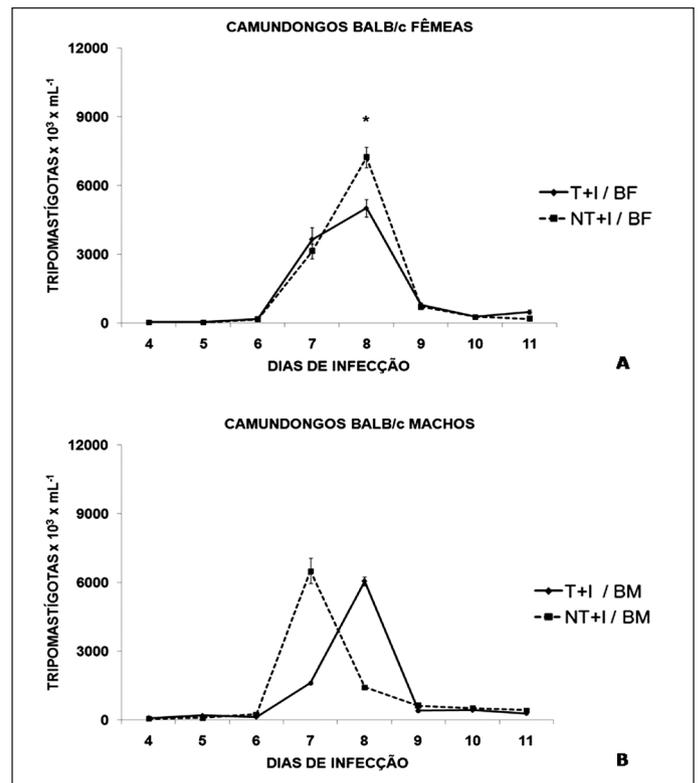


Figura 1. Curva de parasitemia (média ± desvio padrão) demonstrando o pico de parasitos observados em camundongos das linhagens BALB/c (machos e fêmeas), submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbico moderado crônico pré-infecção e infectados com a cepa Y do *T. cruzi*. Comparação realizada entre os grupos NT+I e T+I, isoladamente, para cada linhagem e sexo. NT+I, não treinado+infectado; T+I, treinado+infectado. A) BF, camundongos BALB/c fêmeas. B) BM, camundongos BALB/c machos. * = $p < 0,05$.

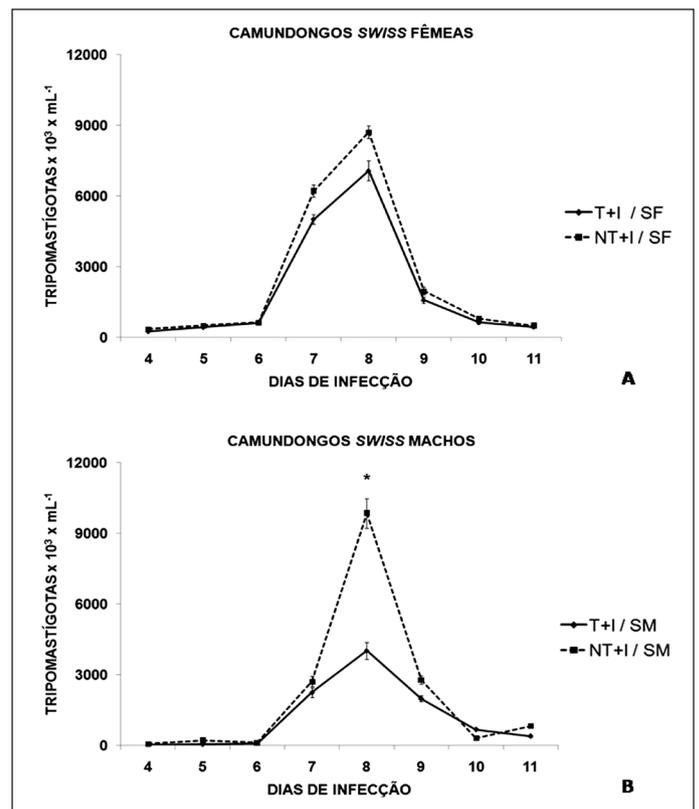


Figura 2. Curva de parasitemia (média ± desvio padrão) demonstrando o pico de parasitos observados em camundongos das linhagens Swiss (machos e fêmeas), submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbico moderado crônico pré-infecção e infectados com a cepa Y do *T. cruzi*. Comparação realizada entre os grupos NT+I e T+I, isoladamente, para cada linhagem e sexo. NT+I, não treinado+infectado; T+I, treinado+infectado. A) SF, camundongos Swiss fêmeas. B) SM, camundongos Swiss machos. * = $p < 0,05$.

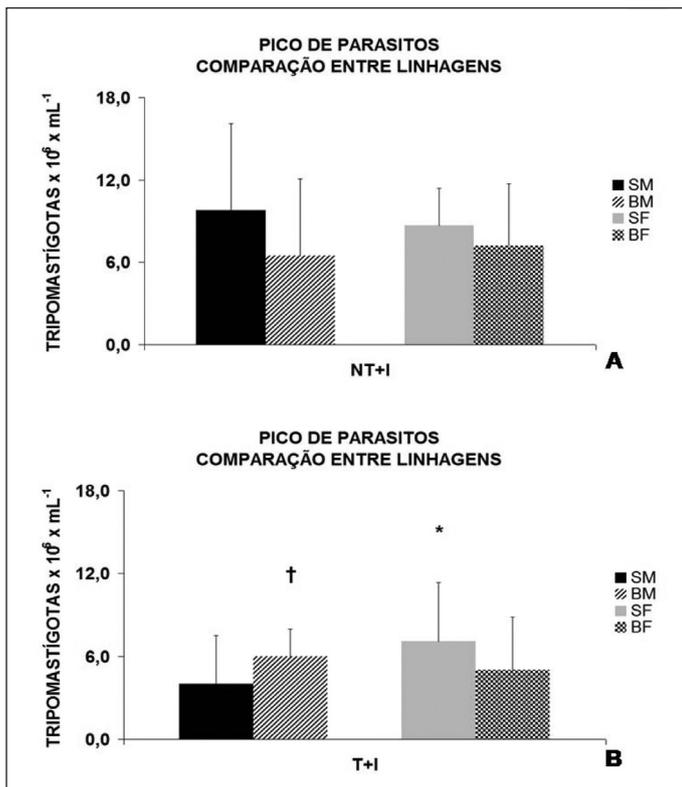


Figura 3. Pico de parasitos (média ± desvio padrão) observados em camundongos das linhagens Swiss e BALB/c (machos e fêmeas), submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção e infectados com a cepa Y do *T. cruzi*. NT+I, não treinado+infectado; T+I, treinado+infectado. SM – Swiss machos; SF – Swiss fêmeas; BM – BALB/c machos; BF – BALB/c fêmeas. A e B) Comparação entre linhagens (Swiss e BALB/c) de camundongos pertencentes ao mesmo sexo. * = p < 0,05; † = p < 0,10.

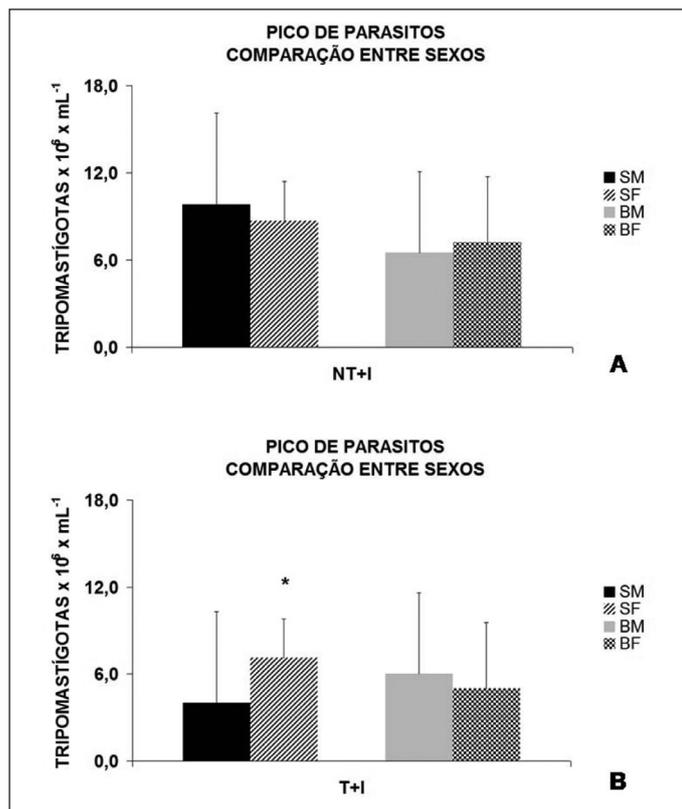


Figura 4. Pico de parasitos (média ± desvio padrão) observados em camundongos das linhagens Swiss e BALB/c (machos e fêmeas), submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção e infectados com a cepa Y do *T. cruzi*. NT+I, não treinado+infectado; T+I, treinado+infectado. SM – Swiss machos; SF – Swiss fêmeas; BM – BALB/c machos; BF – BALB/c fêmeas. A e B) Comparação entre os dois sexos (machos e fêmeas) pertencentes à mesma linhagem. * = p < 0,05.

Tabela 2. Parasitemia total média (média ± desvio padrão) observada em camundongos das linhagens Swiss e BALB/c (machos e fêmeas), submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção e infectados com a cepa Y do *T. cruzi*.

	NT+I	T+I	p
Parasitemia total média (tripomastigotas x 10⁶ x mL⁻¹)			
SM	16,9 ± 9,6	9,4 ± 4,6	< 0,05
SF	19,7 ± 6,1	6,0 ± 5,5	< 0,05
BM	9,9 ± 7,3	9,2 ± 1,5	NS
BF	11,7 ± 3,9	10,4 ± 5,8	NS

SM – Swiss machos; SF – Swiss fêmeas; BM – BALB/c machos; BF – BALB/c fêmeas. NT+I – não treinado+infectado; T+I – treinado+infectado. Comparação realizada entre os grupos NT+I e T+I, isoladamente, para cada linhagem e sexo. NS = não significativo.

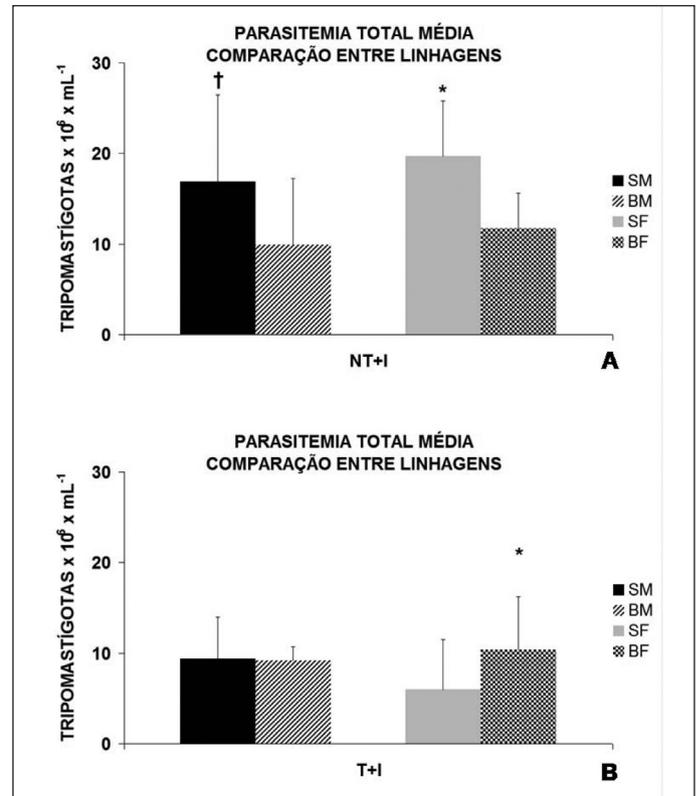


Figura 5. Parasitemia total média (média ± desvio padrão) observados em camundongos das linhagens Swiss e BALB/c (machos e fêmeas), submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção e infectados com a cepa Y do *T. cruzi*. NT+I, não treinado+infectado; T+I, treinado+infectado. SM – Swiss machos; SF – Swiss fêmeas; BM – BALB/c machos; BF – BALB/c fêmeas. A e B) Comparação entre linhagens (Swiss e BALB/c) de camundongos pertencentes ao mesmo sexo. * = p < 0,05; † = p < 0,10.

O treinamento físico promoveu redução estatística nas atividades séricas de CK e CK-MB para as duas linhagens, em ambos os sexos, exceto para camundongos Swiss fêmeas na atividade de CK e CK-MB (tabela 3).

Fêmeas Swiss tiveram níveis de atividade de CK e CK-MB estatisticamente menores em todos os grupos (figura 7).

Animais BALB/c machos (BM) treinados e infectados (T+I) apresentaram atividade sérica de CK e CK-MB significativamente menor que machos Swiss (SM) do mesmo grupo (figura 8).

Para a linhagem BALB/c, fêmeas não treinadas e infectadas (NT+I) mostraram níveis de atividade de CK e CK-MB significativamente menores que os machos do mesmo grupo (figura 9).

Fêmeas Swiss, não treinadas e infectadas (NT+I), apresentaram níveis de atividade de CK e CK-MB significativamente menores que machos Swiss do mesmo grupo (figura 10).

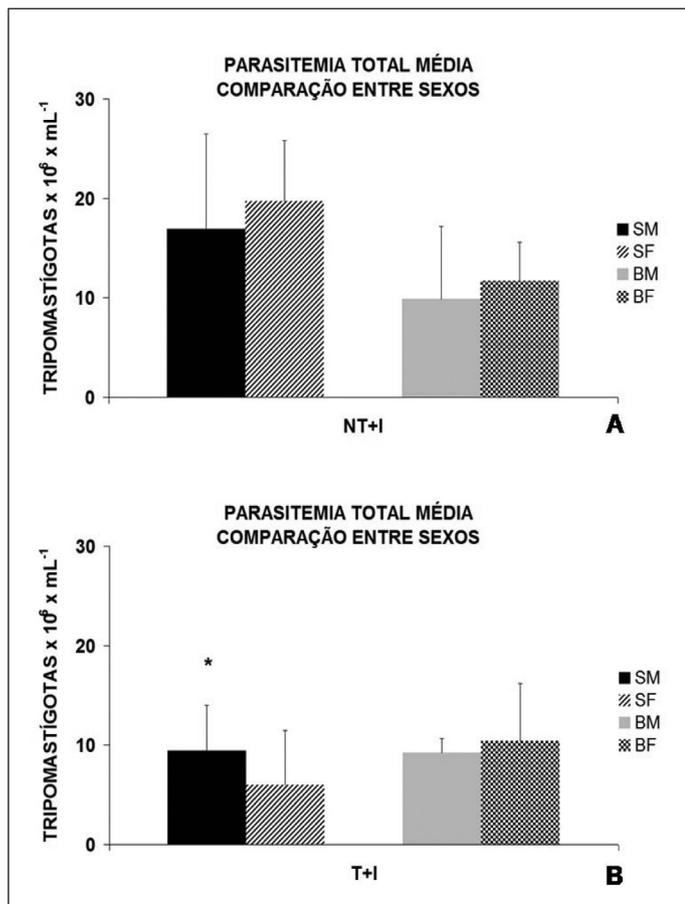


Figura 6. Parasitemia total média (média \pm desvio padrão) observados em camundongos das linhagens Swiss e BALB/c (machos e fêmeas), submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção e infectados com a cepa Y do *T. cruzi*. NT+I, não treinado+infectado; T+I, treinado+infectado. SM – Swiss machos; SF – Swiss fêmeas; BM – BALB/c machos; BF – BALB/c fêmeas. A e B) Comparação entre os dois sexos (machos e fêmeas) pertencentes à mesma linhagem. * = $p < 0,05$.

Tabela 3. Atividades séricas de CK e CK-MB (média \pm desvio padrão) observadas em camundongos das linhagens Swiss e BALB/c (machos e fêmeas), submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção, e infectados ou não com a cepa Y do *T. cruzi*.

	NT+NI	T+NI	NT+I	T+I	p
CK (U/l)					
SM	1,9 \pm 0,5	1,2 \pm 0,4	62,0 \pm 54	2,2 \pm 1,2	< 0,01
SF	2,5 \pm 2,8	0,8 \pm 0,5	1,2 \pm 0,5	1,5 \pm 0,3	N.S.
BM	53,1 \pm 75,2	1,9 \pm 2,4	97,4 \pm 85	0,1 \pm 0,0	< 0,01
BF	42,9 \pm 40,0	12,5 \pm 14,6	50,8 \pm 51,2	28,6 \pm 36,9	< 0,01
CK-MB (U/l)					
SM	0,9 \pm 0,7	0,7 \pm 0,4	32,4 \pm 28,5	1,3 \pm 0,8	< 0,01
SF	2,1 \pm 2,8	0,4 \pm 0,3	0,8 \pm 0,4	1,1 \pm 0,5	< 0,05
BM	44,5 \pm 63,5	1,3 \pm 1,8	73,3 \pm 65,9	0,0 \pm 0,0	< 0,01
BF	32,7 \pm 30,5	10,0 \pm 11,6	38,8 \pm 38,3	23,0 \pm 27,9	< 0,01

SM – Swiss machos; SF – Swiss fêmeas; BM – BALB/c machos; BF – BALB/c fêmeas. NT+NI – não treinado+não infectado; T+NI – treinado+não infectado; NT+I – não treinado+infectado; T+I – treinado+infectado. Comparação realizada entre não treinado e treinado isoladamente para cada linhagem e sexo. N.S. = não significativo.

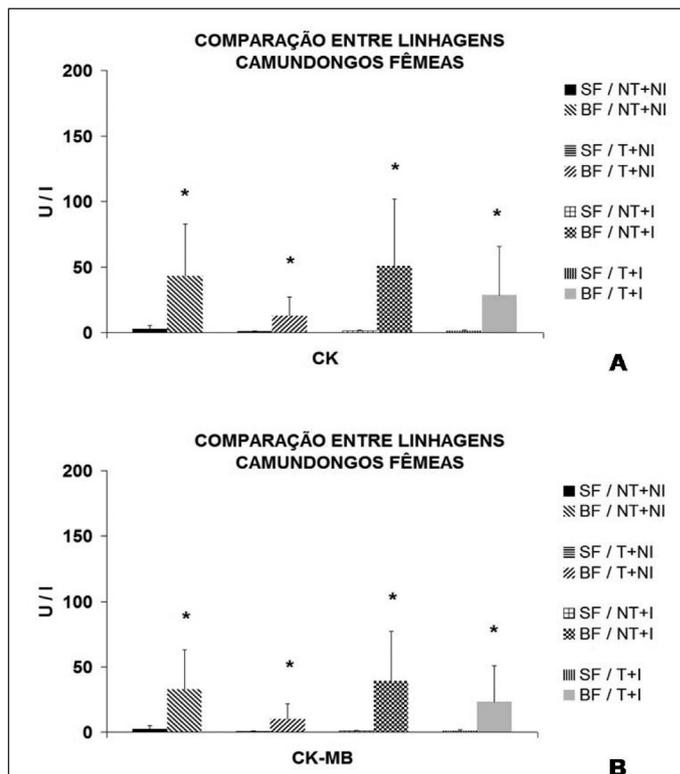


Figura 7. Atividades séricas de CK e CK-MB (média \pm desvio padrão) observadas em camundongos das linhagens Swiss e BALB/c, submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção, e infectados ou não com a cepa Y do *T. cruzi*. BF – BALB/c fêmeas; SF – Swiss fêmeas. NT+NI – não treinado+não infectado; T+NI – treinado+não infectado; NT+I – não treinado+infectado; T+I – treinado+infectado. A) Comparação entre linhagens (Swiss e BALB/c) da atividade sérica de CK de camundongos fêmeas. B) Comparação entre linhagens (Swiss e BALB/c) da atividade sérica de CK-MB de camundongos fêmeas. * = $p < 0,05$.

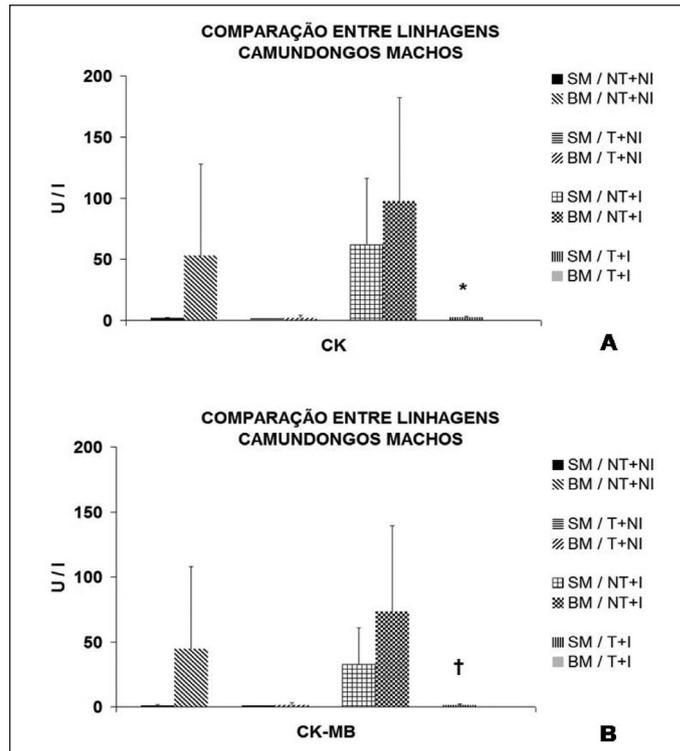


Figura 8. Atividades séricas de CK e CK-MB (média \pm desvio padrão) observadas em camundongos das linhagens Swiss e BALB/c, submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção, e infectados ou não com a cepa Y do *T. cruzi*. BM – BALB/c machos; SM – Swiss machos. NT+NI – não treinado+não infectado; T+NI – treinado+não infectado; NT+I – não treinado+infectado; T+I – treinado+infectado. A) Comparação entre linhagens (Swiss e BALB/c) da atividade sérica de CK de camundongos machos. B) Comparação entre linhagens (Swiss e BALB/c) da atividade sérica de CK-MB de camundongos machos. * = $p < 0,05$; † = $p < 0,10$.

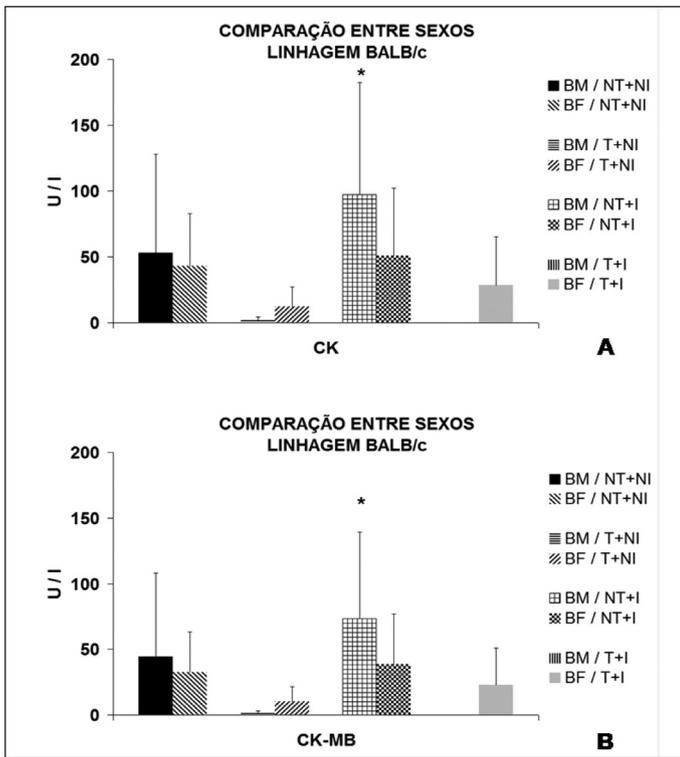


Figura 9. Atividades séricas de CK e CK-MB (média \pm desvio padrão) observadas em camundongos da linhagem BALB/c (machos e fêmeas), submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção, e infectados ou não com a cepa Y do *T. cruzi*. BM – BALB/c machos; BF – BALB/c fêmeas. NT+NI – não treinado+não infectado; T+NI – treinado+não infectado; NT+I – não treinado+infectado; T+I – treinado+infectado. A) Comparação entre sexos, da atividade sérica de CK, de camundongos da linhagem BALB/c. B) Comparação entre sexos, da atividade sérica de CK-MB, de camundongos da linhagem BALB/c. * = $p < 0,05$.

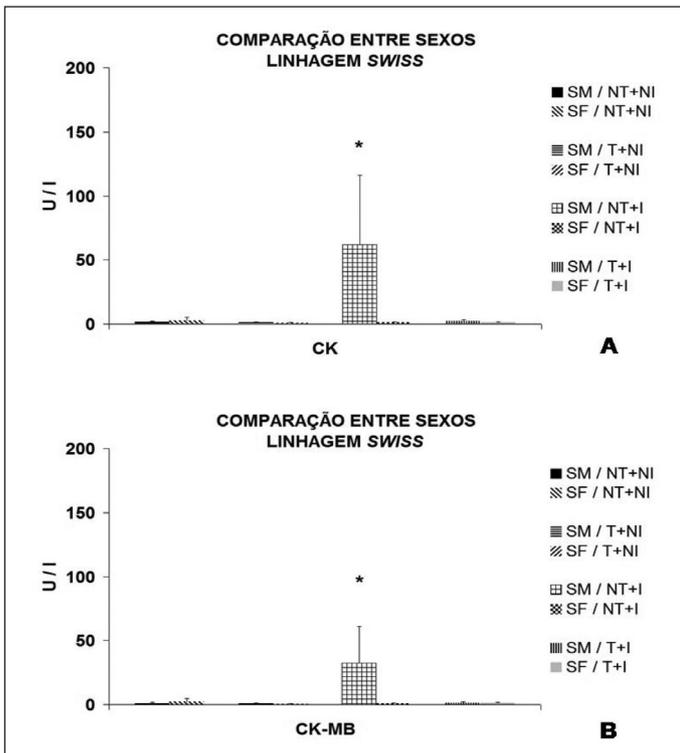


Figura 10. Atividades séricas de CK e CK-MB (média \pm desvio padrão) observadas em camundongos da linhagem Swiss (machos e fêmeas), submetidos ou não a oito semanas de exercício físico aeróbio moderado crônico pré-infecção, e infectados ou não com a cepa Y do *T. cruzi*. SM – Swiss machos; SF – Swiss fêmeas. NT+NI – não treinado+não infectado; T+NI – treinado+não infectado; NT+I – não treinado+infectado; T+I – treinado+infectado. A) Comparação entre sexos, da atividade sérica de CK, de camundongos da linhagem Swiss. B) Comparação entre sexos, da atividade sérica de CK-MB, de camundongos da linhagem Swiss. * = $p < 0,05$.

DISCUSSÃO

Este estudo avaliou a influência de um programa de treinamento físico aeróbio realizado em esteira rolante por oito semanas antes da infecção em ambos os sexos de duas linhagens de camundongos, sendo uma linhagem isogênica (camundongos BALB/c) e outra não isogênica (camundongos Swiss).

A comparação entre sexos nas duas linhagens de camundongos demonstrou que o treinamento físico reduz a carga parasitária para machos e fêmeas em ambas as linhagens. Em estudos realizados avaliando doenças parasitárias, inclusive pelo *T. cruzi*, foram observadas relações positivas na resposta do organismo à infecção para o sexo feminino⁹⁻¹². No entanto, para este estudo, fêmeas submetidas ou não ao treinamento físico não apresentaram carga parasitária menor quando comparadas com camundongos machos.

Os estudos que avaliam a relação entre o exercício físico e a infecção pelo *T. cruzi* têm apontado que o treinamento físico aeróbio realizado antes da infecção pode interferir na resposta do hospedeiro ao parasito; entretanto, o modo e o quanto tais alterações interferirão no curso da infecção ainda não estão bem esclarecidos^{3,21}. Os dados obtidos para parasitemia apresentam diferenças significativas e apontam tendência observada em outros estudos realizados recentemente³, nos quais os animais que são submetidos ao treinamento físico e depois à infecção respondem melhor ao agente infeccioso. O sexo²², a idade²³ e a constituição genética do hospedeiro podem influenciar o curso da infecção pelo *T. cruzi* no vertebrado²⁴.

A resposta genética de cada linhagem e sexo apresentam pontos interessantes a serem elucidados em trabalhos futuros abordando a imunogenética envolvida nos mecanismos de defesa dos animais.

A grande variação individual nos níveis de atividade sérica de CK e CK-MB observada neste trabalho é um ponto a ser esclarecido. Vale destacar que problemas metodológicos não devem ser considerados, uma vez que todas as orientações das bulas dos kits das enzimas foram seguidas e que a faixa de temperatura de manutenção do soro utilizada foi respeitada.

O nível elevado das atividades de CK e CK-MB para os grupos de camundongos não treinados e infectados e diminuição da atividade destas enzimas para os grupos treinados e infectados, para ambas as linhagens, exceto para fêmeas Swiss, aponta que a infecção interfere nos níveis circulantes destas enzimas e que o treinamento físico propicia uma redução nos níveis de atividade das mesmas. Este fenômeno poderia ser explicado por uma adaptação do organismo dos animais submetidos ao treinamento na depuração da enzima no sangue²⁵.

Newham *et al.*²⁶ sugeriram três explicações para o efeito adaptativo do treinamento: uma mudança no padrão de recrutamento de fibras musculares, que, com o decorrer das sessões de exercício, preservaria fibras musculares danificadas; adaptação da fibra muscular, tornando-a mais resistente ao estresse provocado pelo exercício; e fim do ciclo de crescimento e substituição das fibras. Estes esclarecimentos responderiam o resultado encontrado neste estudo, em que os animais submetidos ao treinamento e à infecção não somaram a resposta da inflamação nos tecidos causada pelo agente infeccioso e pelo treinamento físico, podendo o exercício ter causado efeito protetor tecidual.

Os níveis de atividade de CK também apresentam diferenças quando feitas comparações entre sexos em humanos. O sexo feminino apresenta menor atividade sérica desta enzima em repouso em comparação com o sexo masculino. Essa diferença aumenta de forma excessiva após o exercício²⁷. Os mesmos autores observaram tal diferença comparando homens e mulheres sedentários, realizando teste em bicicleta ergométrica utilizando 50% do $\dot{V}O_2$ máximo.

Os homens apresentaram níveis séricos de CK cinco vezes maiores, a partir de valor inicial (no tempo zero), indo de 122mU/mL para 664mU/mL, e as mulheres obtiveram um aumento de duas vezes o valor inicial (72mU/mL para 152mU/mL).

Várias teorias já foram propostas para explicar as diferenças observadas na atividade sérica de CK para os sexos. Uma delas discute as variações no recrutamento de fibras musculares ou a diferença de massa muscular notadas entre homens e mulheres^{28,29}. O papel do estrogênio e seus derivados também tem sido implicado na redução dos níveis de CK em mulheres comparadas aos homens. O estrógeno parece proteger o músculo da lesão decorrente do exercício³⁰. No estudo em questão, tanto camundongos Swiss fê-

meas quanto BALB/c, de modo geral, apresentaram esta diferença em relação ao sexo masculino.

Os resultados obtidos nestes experimentos sugerem o envolvimento de alterações fisiológicas decorrentes da genética do hospedeiro e dos sexos. A influência do treinamento físico promoveu, nas duas linhagens e em ambos os sexos, redução no pico de parasitos, na parasitemia total média e nas atividades séricas de CK e CK-MB em animais infectados pelo *T. cruzi*, exceto para fêmeas Swiss na atividade de CK e CK-MB.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

1. WHO (World Health Organization): New global effort to eliminate Chagas disease. *Wkly Epidem Rec* 2007;82(28-29):259-60.
2. Nieman D, Pedersen BK. Nutrition and exercise immunology. Boca Raton – London: CRC Press, 2000; p.191.
3. Schebeleski-Soares C, Occhi-Soares RC, Franzói-De-Moraes SM, Dalálio MMO, Almeida FN, Toledo MJO, et al. Preinfection Aerobic Treadmill Training Improves Resistance Against Trypanosoma cruzi Infection in Mice. *Appl Physiol Nutr Metab* 2009;34:659-65.
4. Lowder T, Padgett DA, Woods JA. Moderate exercise early after influenza virus infection reduces the Th1 inflammatory response in lungs of mice. *Exerc Immunol Rev* 2006;12:97-111.
5. Lowder T, Padgett DA, Woods JA. Moderate exercise protects mice from death due to influenza virus. *Brain Behav Immun* 2005;19:377-80.
6. Chao CC, Strgar F, Tsang M, Peterson PK. Effects of swimming exercise on the pathogenesis of acute murine Toxoplasma gondii Me49 infection. *Clin Immunol Immunopathol* 1992;62:220-6.
7. Gleeson M. Immune function in sport and exercise. *J Appl Physiol* 2007;103:693-9. 2007; Epub Feb 15.
8. Murphy EA, Davis JM, Carmichael MD, Gangemi JD, Ghaffar A, Mayer EP. Exercise stress increases susceptibility to influenza infection. *Brain Behav Immun* 2008; Jun 21. [Epub ahead of print]
9. Klein SL. Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. *Parasite Immunol* 2004;26:247-64. Review.
10. do Prado JC Jr, Leal M de P, Anselmo-Franci JA, de Andrade Júnior HF, Kloetzel JK. Influence of female gonadal hormones on the parasitemia of female Calomys callosus infected with the «Y» strain of Trypanosoma cruzi. *Parasitol Res* 1998;84:100-5.
11. Filipin Mdel V, Brazão V, Caetano LC, Santello FH, Toldo MP, Caetano LN, et al. Trypanosoma cruzi: orchietomy and dehydroepiandrosterone therapy in infected rats. *Exp Parasitol* 2008;120:249-54. Epub 2008; Jul 30.
12. Pinto AC, Caetano LC, Levy AM, Fernandes RD, Santos CD, do Prado JC Jr. Experimental Chagas' disease in orchietomized Calomys callosus infected with the CM strain of Trypanosoma cruzi. *Exp Parasitol* 2009; Aug 19. [Epub ahead of print]
13. Fish EN. The X-files in immunity: sex-based differences predispose immune responses. *Nat Rev Immunol* 2008;8:737-44. Review.
14. Dawson DM, Fine IH: Creatine kinase in human tissues. *Arch Neural* 1967;16:175-80.
15. Lang H: Creatine Kinase Isoenzymes: Pathophysiology and Clinical Application. New York, Springer-Verlag New York, Inc, 1981.
16. Schneider CM, Dennehy CA, Rodearmel SJ, Ayward JR. Effects of physical activity on creatine phosphokinase and the isoenzyme creatine kinase-MB. *Ann Emerg Med* 1995;25:520-4.
17. Souza AP, Olivieri BP, De Castro SL, Araújo-Jorge TC. Enzymatic markers of heart lesion in mice infected with Trypanosoma cruzi and submitted to benzimidazole chemotherapy. *Parasitol Res* 2000;86:800-8.
18. Lerman I, Harrison BC, Freeman K, Hewett TE, Allen DL, Robbins J, et al. Genetic Variability in Forced and Voluntary Endurance Exercise Performance in Seven Inbred Mouse Strains. *J Appl Physiol* 2002;92:2245-55.
19. Silva LHP, Nussenzweig V. Sobre uma Cepa de Trypanosoma cruzi Altamente Virulenta para o Camundongo Branco. *Fol Clin Biol* 1953;20:191-207.
20. Brener, Z. Therapeutic Activity and Criterion of Cure on Mice Experimentally Infected With Trypanosoma cruzi. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1962;4:389-96.
21. Soares CS, Occhi RC, Carvalho LGL, Moraes SMF, Dalálio MMO, Araújo SM. Produção de fator de necrose tumoral-alfa e peróxido de hidrogênio na infecção pelo Trypanosoma cruzi em camundongos submetidos ao exercício - DOI: 10.4025/actascihealthsci.v32i1.6757. *Acta Scientiarum. Health Science, Brasil*, 32 dez. 2010.
22. Hauschka TS. Sex of host as a factor in chagas' disease. *Journal of Parasitology* 1947;33:399-404.
23. Culbertson JT, Kessler WR. Age resistance of mice to Trypanosoma cruzi. *J Parasitol* 1942;28:155-8.
24. Brener Z. Biology of Trypanosoma cruzi. *Annu Rev Microbiol* 1973;27:347-82.
25. Noakes TD. Effect of exercise on serum enzyme activities in humans. *Sports Med* 1987;4:245-67.
26. Newham DJ, Jones DA, Clarkson PM. Repeated high-force eccentric exercise: effects on muscle pain and damage. *J Appl Physiol* 1987;63:1381-6.
27. Shumate JB, Brooke MH, Carroll JE, Davis JE. Increased serum creatine kinase after exercise: a sex-linked phenomenon. *Neurology* 1979;29:902-4.
28. Rogers MA, Stull GA, Apple FS. Creatine kinase isoenzyme activities in men and women following a marathon race. *Med Sci Sports Exerc* 1985;17:679-82.
29. Novak LP, Tillery GW. Relationship between serum creatine phosphokinase and body composition. *Hum Biol* 1977;49:375-80.
30. Amelink GJ, Bar PR. Exercise-induced muscle protein leakage in the rat: Effects of hormonal manipulation. *J Neural Sci* 1986;76:61-8.