

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS FACULDADE DE MEDICINA

Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

BRUNA ARAÚJO MARTINS RESENDE

DOENÇA DE CHAGAS E ALTERAÇÃO DO METABOLISMO DA GLICOSE

Belo Horizonte

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS FACULDADE DE MEDICINA

Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto

BRUNA ARAÚJO MARTINS RESENDE

DOENÇA DE CHAGAS E ALTERAÇÃO DO METABOLISMO DA GLICOSE

Orientadora: Profa. Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz

Co-orientadores: Profa. Alline Maria Rezende Beleigoli

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Belo Horizonte

2017

Resende, Bruna Araújo Martins.
R433d Doença de Chagas e alteração do metabolismo da glicose
[manuscrito]. / Bruna Araújo Martins Resende. - - Belo Horizonte: 2017.
84f.: il.
Orientador: Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz.
Coorientador: Alline Maria Rezende Beleigoli, Antônio Luiz Pinho
Ribeiro.
Área de concentração: Saúde do Adulto.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais,
Faculdade de Medicina.
1. Doença de Chagas. 2. Diabetes Mellitus. 3. Resistência à Insulina. 4.
Glicemia/análise. 5. Estudos Transversais. 5. Dissertações Acadêmicas. I.
Diniz, Maria de Fátima Haueisen Sander. II. Beleigoli, Alline Maria
Rezende. III. Ribeiro, Antônio Luiz Pinho. IV. Universidade Federal de
Minas Gerais, Faculdade de Medicina. V. Título.
NLM: WA 705

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca J. Baeta Vianna – Campus Saúde UFMG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Reitor: Prof. Jaime Arturo Ramírez

Vice-Reitora: Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

Pró-Reitora de Pós-Graduação: Profa. Denise Maria Trombert de Oliveira

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Ado Jório de Vasconcelos

FACULDADE DE MEDICINA

Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Humberto José Alves

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Luiz Armando Cunha de Marco

Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Selmo Geber

Chefe do Departamento de Clínica Médica: Profa. Valéria Maria Augusto

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto:
Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Subcoordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto: Profa. Suely Meireles Rezende

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto:

Profa. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Prof. Paulo Caramelli

Profa. Sarah Teixeira Camargos

Prof. Eduardo Garcia Vilela

Profa. Gilda Aparecida Ferreira

Profa. Suely Meireles Rezende

Mônica Maria Teixeira (Discente Titular)

Letícia Lemos Jardim (Discente Suplente)

DEDICATÓRIA

Às pessoas mais importantes da minha vida,

Francisca, Jader, Andréa, Thiago, Francisco e Maria

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por essa conquista! Por todas as oportunidades que tenho e por sempre iluminar o meu caminho.

Aos meus pais, Jader e Francisca, que são tudo em minha vida! Exemplo de amor, dedicação, respeito, profissionalismo e ética! Espero um dia, conseguir retribuir (nem que seja um pouquinho) tudo que recebi de vocês!

À minha irmã, Andréa, por quem tenho muito orgulho desde pequena! Você é minha inspiração para ser uma pessoa melhor. Obrigada por me fazer acreditar em mim!

Ao Thi, meu amor, comigo desde o começo dessa caminhada, tornando tudo mais fácil! Sou muito feliz e sortuda por ter você, sempre me apoiando com carinho e atitudes.

Aos meus avós, João e Maria, Geralda e José, que com todo amor se esforçaram para construir a nossa família, a base de tudo! À Tia Naná, a todos os tios, primos, sobrinhos, à família Vaz e Caixeta, que sempre torceram, rezaram e me apoiaram em todos os momentos.

Dra Fátima, me sinto muito orgulhosa de ter sido sua aluna da residência e do mestrado. Não tenho palavras para agradecer todo o carinho, os ensinamentos, a paciência, as palavras amigas e a confiança que recebi de você!

A Alline, que me apoiou muito durante toda a trajetória, desde a elaboração do projeto e em todas as fases do meu mestrado. Obrigada por tudo que aprendi com você!

Tom, me sinto honrada de termos trabalhados juntos nesse projeto. Sou muito grata por você ter contribuído com seu enorme conhecimento e experiência.

À equipe do HC e aos amigos que tornaram tudo mais divertido e sempre me ajudaram nessa jornada.

“O real não está na saída nem na chegada: ele se
dispõe para a gente é no meio da travessia.” (Guimarães Rosa)

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Acetil CoA - Acetil coenzima A

ATP - Adenosina Trifosfato

BCRD - Bloqueio Completo do Ramo Direito

BCRE - Bloqueio Completo do Ramo Esquerdo

BRAMS - Estudo Brasileiro de Síndrome Metabólica

CCL – Ciclina

cm- Centímetro

CI - Centro de Investigação

COEP - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

CXCL - *C-X-C motif chemokine ligand*

DM - Diabetes *Mellitus*

ECG – Eletrocardiograma

ELSA - Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto

ERK - *Extracellular Signal Regulated Kinases*

GLUT 2 - *Glucose Transporter 2*

GLUT 4 - *Glucose Transporter 4*

HAS - Hipertensão Arterial Sistêmica

HbA1c - Hemoglobina Glicada

HLS - Hormônio Lipase Sensível

HOMA-B - *Homeostatis Model Assessment of Beta-Cell Function*

HOMA-IR - *Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*

HPLC - *High Pressure Liquid Chromatography*

IDF - *International Diabetes Federation*

IFN- γ - *Interferon γ*

IGF-1 - *Insulin Growth Factor-1*

IL – *Interleucina*

IMC - Índice de Massa Corporal

IRS - Substratos do Receptor de Insulina

m- Metro

MAP kinase - *Mitogen Activated Protein Kinase*

MCPP - Modelo de Chances Proporcionais

NADPH - *Nicotinamide Adenine Dinucleotide 'Phosphate*

OMS - Organização Mundial de Saúde

P38 MAPK- *P38 Mitogen-Activated Protein Kinase*

pAKT- *Phospho AKT*

PCR - Reação em Cadeia Polimerase

PI 3-quinase - Fosfatidilinositol 3-Quinase

PKC - Proteína Quinase C

PPAR γ - *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ*

Quilograma- Kg

qPCR - PCR quantitativo

RI - Resistência Insulínica

SAA3 - *Serum Amyloid A 3*

SREBP - *Sterol Regulatory Element-Binding Proteins*

STAT 3 - *Signal Transducer and Activator of Transcription-3*

SUS – Sistema Único de Saúde

T. cruzi - *Trypanosoma cruzi*

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Th1 - Linfócitos T-*helper*-1

TLR - *Toll-like receptors*

TNF α - Fator de Necrose Tumoral α

TOTG - Teste Oral de Tolerância a Glicose

VIGITEL - Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características da população de acordo com a sorologia negativa e positiva para doença de Chagas, na linha de base do estudo ELSA-Brasil, agosto de 2008 - dezembro de 2010.....	67
Tabela 2- Características da população de acordo com com a sorologia negativa e positiva para doença de Chagas, na linha de base do estudo ELSA-Brasil, agosto de 2008 - dezembro de 2010, pela função pancreática e resistência insulínica.....	68
Tabela 3- Regressão Logística- Associação sorologia positiva para doença de Chagas (sem cardiopatia e com cardiopatia) com Diabetes mellitus, função das células beta (HOMA-B) e resistência insulínica (HOMA-IR), na linha de base do estudo ELSA-Brasil, agosto de 2008 - dezembro de 2010.....	69

LISTA DE FIGURA

Figura 1- Fisiopatologia das adipocinas na resistência insulínica, em um indivíduo obeso....	29
Figura 2- Imunohistoquímica evidenciando a presença de macrófagos no tecido adiposo marrom usando anticorpo contra F4/80 e a presença de parasitas intracelulares nos adipócitos, 30 dias após a infecção(2).....	39

RESUMO

A crescente prevalência do diabetes *mellitus* (DM) é um fenômeno preocupante. Há muitos estudos sobre os fatores de risco do DM, entretanto, são poucos os que estudam o papel das doenças infecciosas, como a doença de Chagas, na sua patogênese. O *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, parasita diversos tecidos, além dos alvos clássicos descritos, como o tecido adiposo e pancreático. O parasitismo do tecido adiposo ocasiona resposta inflamatória crônica semelhante ao que ocorre na obesidade, o que poderia levar ao aumento da resistência insulínica (RI). No tecido pancreático, a presença do protozoário gera resposta inflamatória podendo ocasionar fibrose e atrofia do órgão. Além disso, há denervação neuronal pancreática, principalmente parassimpática.

A presente dissertação teve como objetivos principais estudar a associação da sorologia positiva para doença de Chagas (sem e com cardiopatia) com o diabetes *mellitus* (DM), RI e função das células beta. Trata-se de estudo transversal composto por participantes da linha de base do Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA). Este é uma coorte formada por homens e mulheres de 35 a 74 anos, voluntários de seis instituições de ensino e pesquisa que objetiva investigar aspectos epidemiológicos, clínicos e moleculares de doenças crônicas não transmissíveis, principalmente as doenças cardiovasculares e o diabetes *mellitus*. A linha de base, coletada entre agosto de 2008 e dezembro de 2010, é composta por 15.105 participantes, sendo que foram incluídos nesse estudo 14.922 (98,8%). Destes, 283 (1,9%) tiveram a sorologia positiva para doença de Chagas, dos quais 49 (17,3%) indivíduos tinham cardiopatia. Os participantes foram classificados quanto à presença ou não de DM, sendo que os diabéticos correspondiam a 2939 (19,7%), entre os indivíduos com sorologia negativa para doença de Chagas a prevalência de DM foi de 19,6% e àqueles com sorologia positiva a prevalência foi de 23,3% ($p=0,24$), respectivamente. Quando analisado os níveis glicêmicos

os participantes com sorologia positiva para doença de Chagas, quando comparados aos com sorologia negativa, tiveram maiores valores da glicemia de jejum (108mg/dl versus 105 mg/dl, respectivamente; $p<0,01$) e da glicemia após 75g de dextrosol (127mg/dl versus 124mg/dl; $p=0,03$) A resistência insulínica e a função da célula beta foram avaliadas, respectivamente, pelo *Homeostasis model assessment of insulin resistance* (HOMA-IR) e *Homeostatis model assessment of beta-cell function* (HOMA-B), utilizando-se o percentil 90% como ponto de corte. A associação da sorologia positiva para doença de Chagas (sem e com cardiopatia) com DM, HOMA-IR e HOMA-B foi investigada utilizando o modelo de regressão logística binário ajustado por idade, sexo, escolaridade, circunferência da cintura (cm), hipertensão arterial sistêmica, colesterol HDL e triglicérides. Não houve associação significativa entre DM, RI pelo *Homeostasis model assesement- insulin resistance* (HOMA-IR) ou pela função da célula beta pelo *Homeostasis model assesement – beta* (HOMA-B) e sorologia positiva para doença de Chagas (sem e com cardiopatia), após todos os ajustes.

Os resultados das análises foram organizados no formato de artigo científico, de acordo com as normas do Programa de Pós Graduação da Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da UFMG. O caráter transversal e o fato do diagnóstico da doença de Chagas ser baseado em apenas uma sorologia constituem limitações do estudo. O presente estudo evidenciou que a doença de Chagas e a cardiopatia chagásica não tiveram associação significativa com diabetes *mellitus*, resistência insulínica e alteração da função pancreática, após todos os ajustes.

Palavras chaves: Doença de Chagas; cardiopatia chagásica; diabetes *mellitus*; resistência insulínica; disfunção de célula beta.

ABSTRACT

The prevalence of diabetes *mellitus* (DM) has been increasing worldwide. There are many studies on diabetes risk factors, however, only a few analyzed the role of infectious diseases, such as the Chagas disease and its pathogenesis. The Chagas disease, whose etiological agent is *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), still represents a serious public health problem, despite the drastic reduction of vector and transfusional transmission. Besides the classic forms of parasitism, *T. cruzi* also parasites adipose and pancreatic tissue. The parasitism of adipose tissue leads to an inflammatory response similar to the one that occurs in obesity. In the pancreatic tissue, the presence of the protozoan generates an inflammatory response, which might lead to fibrosis, and neural pancreatic denervation, mainly parasymphetic.

This study has as main objectives to study the association of positive serology for Chagas disease (with or without Chagas heart disease) with diabetes *mellitus*, insulin resistance and beta-cell function. The present study analyses baseline data from the Longitudinal Adult Health Study (Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto - ELSA - Brasil) which consisted of multicenter cohort of active and retired employees; volunteers from universities and research institution. Baseline data were collected between 2008 and 2010. ELSA- Brasil aims to investigate epidemiological, clinical and molecular chronic diseases, particularly cardiovascular diseases and diabetes *mellitus*, and baseline is composed of 15,105 participants, of which 14,922 (98,8%) were included in this study. Of these, 283 (1,9%) had a positive serology for Chagas disease, of whom 49 (17,3%) had heart disease. Participants were classified as the presence or absence of DM, and those diagnosed with diabetes were 2939 (19,7%), among individuals with negative serology for Chagas disease, the prevalence of DM was 19.6% and those with positive serology had a prevalence of 23.3% ($p = 0.24$), respectively. Insulin resistance and beta cell function was appraised by Homeostasis model

assessment of insulin resistance and Homeostasis model assessment of beta-cell function (to HOMA-IR and HOMA-B, respectively), using the 90% percentile as the cutoff point. The association of positive serology for Chagas disease (without and with heart disease) with DM, HOMA-IR and HOMA-B was investigated using the binary logistic regression model adjusted for age, sex, schooling, waist circumference (cm), hypertension Systemic arterial hypertension, HDL cholesterol and triglycerides. The present study showed that there was no significant association between DM, RI by Homeostasis model assesement-insulin resistance (HOMA-IR) or beta cell function by Homeostasis model assesement-beta (HOMA-B) and positive serology for Chagas disease (without and with heart disease), after all adjustments.

Key words: Chagas disease; Chagasic cardiopathy; Chagas heart disease; Diabetes *mellitus*; Insulin resistance; Beta cell dysfunction.

SUMÁRIO

1	Capítulo I: Introdução	20
1.1	Considerações iniciais.....	20
1.2	Alterações no metabolismo glicêmico	21
1.2.1	Disfunção de célula beta.....	21
1.2.1.1	Conceitos	21
1.2.1.2	Fisiopatologia da secreção da insulina	21
1.2.1.3	Sinalização da insulina	23
1.2.1.4	Ações da insulina no metabolismo	23
1.2.1.5	Mensuração da secreção da insulina	24
1.2.2	Resistência Insulínica (RI)	26
1.2.2.1	Conceitos	26
1.2.2.2	Fisiopatologia	26
1.2.2.3	Diagnóstico.....	29
1.2.3	Diabetes Mellitus (DM) tipo 2	31
1.2.3.1	Conceitos	31
1.2.3.2	Epidemiologia	31
1.2.3.3	Fisiopatologia	32

1.2.3.4	Diagnóstico.....	33
1.3	Doença de Chagas	33
1.3.1	Etiologia e epidemiologia.....	33
1.3.2	Patogênese e mecanismos fisiopatológicos	35
1.3.3	Ciclo de vida do <i>T. cruzi</i>	35
1.3.4	Fases e formas clínicas	36
1.3.5	Diagnóstico.....	37
1.4	Doença de Chagas, Resistência Insulínica e Diabetes <i>Mellitus</i>	38
2	Capítulo II: Objetivo	44
3	Capítulo IV: Material e Métodos	45
4	Referências Bibliográficas	51
5	Capítulo IV: Artigo	56
	Anexo A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	76
	Anexo B- Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (COEP/UFMG)	83
	Anexo C- Folha de aprovação no Programa de Pós Graduação em Ciências Aplicadas a Saúde do Adulto.....	84

1 Capítulo I: Introdução

1.1 Considerações iniciais

O parasitismo do tecido adiposo pelo *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), agente etiológico da doença de Chagas, foi demonstrado em estudos da década de 70(1). Desde a década de 90, há vários estudos *in vitro* e em ratos demonstrando que esse parasitismo ocasiona resposta inflamatória crônica semelhante à da obesidade(2-6), gerando a hipótese de que haveria aumento da resistência insulínica (RI). Entretanto, a associação se indivíduos com doença de Chagas têm alteração da sensibilidade insulínica ainda não foi excessivamente estudada.

Além do tecido adiposo e de alvos clássicos do parasita, como o coração, o *T. cruzi* parasita o tecido pancreático, sendo que alguns estudos demonstraram a forma amastigota no interior da célula beta(7). Análises do órgão revelam distorção importante da arquitetura da célula beta na fase aguda(7), presença de infiltrado mononuclear, insulinite, fibrose e atrofia do parênquima, além de neurite(8). Alguns estudos em humanos e animais demonstram menores níveis de insulina quando há a doença de Chagas(7, 9, 10), sugerindo que possa haver um comprometimento da função da célula beta.

Apesar da plausibilidade da hipótese de que a doença de Chagas possa estar relacionada com o diabetes *mellitus* (DM), são poucos os estudos que avaliam as alterações glicêmicas entre os indivíduos com doença de Chagas. Em roedores, há estudo com uma amostra pequena que relata níveis de glicemia em jejum e no teste de tolerância a glicose maiores do que nos controles(11). Em humanos os dados sobre a associação da hiperglicemia e a presença de

DM são controversos(10, 12, 13), sendo de fundamental importância, mais estudos para avaliar essa hipótese.

1.2 Alterações no metabolismo glicêmico

1.2.1 Disfunção de célula beta

1.2.1.1 Conceitos

A disfunção das células beta pancreáticas, caracterizada por redução progressiva da capacidade dessa célula em secretar insulina, tem papel fundamental na patogênese do DM. Está associada ao aumento do risco de diabetes, independente de outros fatores de risco bem conhecidos, como a RI(14).

1.2.1.2 Fisiopatologia da secreção da insulina

A insulina é um peptídeo composto por 51 aminoácidos, sendo sintetizada, armazenada e secretada pelas células beta pancreáticas. É sintetizada como proinsulina, posteriormente clivada em proinsulina, sendo armazenada em grânulos secretórios próximos à membrana da célula. A proinsulina é clivada em quantidades equimolares de peptídeo C e insulina. O processo de secreção da insulina envolve a fusão dos grânulos secretórios com a membrana da célula e exocitose da insulina, peptídeo C e proinsulina.(15).

A secreção da insulina basal é pulsátil, com periodicidade de 9-14 minutos. O principal estímulo para a secreção de insulina é a glicose, sendo transportada para dentro da célula beta

pelo transportador de glicose 2 (GLUT 2)(15). O metabolismo da glicose no ambiente intracelular ocasiona aumento da concentração de adenosina trifosfato (ATP), fechamento dos canais ATP-potássio sensíveis, despolarização da membrana da célula beta e a abertura dos canais de cálcio, aumentando o influxo de cálcio. Conseqüentemente, há secreção da insulina(16).

A exposição das células beta à glicose resulta em um padrão bifásico da secreção da insulina. Estudos *in vitro* demonstraram que a primeira fase ocorre após a elevação dos níveis glicêmicos e é caracterizada por um rápido aumento da secreção de insulina, que dura cerca de 1-3 minutos, seguido por retorno aos níveis basais. Nessa fase inicial, há a liberação da insulina que já estava armazenada em grânulos secretórios. A célula beta exposta continuamente ao aumento dos níveis da glicemia libera insulina de forma pulsátil (segunda fase), pela liberação da insulina armazenada ou pela síntese *de novo* de insulina. Esse padrão bifásico da secreção da insulina também foi demonstrado *in vivo* pelo *clamp* hiperglicêmico(17).

A amilina é armazenada nos grânulos secretórios das células beta. É cossecretada com a insulina e sua concentração sérica é cerca de um décimo da concentração da insulina. Esse polipeptídeo está aumentado no pâncreas dos diabéticos do tipo 2. Alguns estudos sugerem que altas concentrações de amilina possam estar relacionadas com a redução da secreção endógena da insulina, entretanto, é uma questão ainda controversa(18).

O defeito na secreção de insulina ocorre em estágios precoces no desenvolvimento do diabetes tipo 2(19).

1.2.1.3 Sinalização da insulina

A ação da insulina inicia-se quando há a ligação com o seu receptor, nas membranas das células alvo. O receptor da insulina é composto de duas subunidades alfa, domínios nos quais a insulina se liga, e duas subunidades beta, domínios intracelulares que são responsáveis pela transdução do sinal. Quando a insulina se liga ao receptor, há uma mudança conformacional das subunidades alfa, o que ocasiona a ligação da molécula ATP aos domínios beta. Conseqüentemente, há fosforilação da tirosina no receptor e de outros substratos, como nos substratos do receptor de insulina 1 e 2 (IRS 1 e IRS 2). Uma vez fosforilados, há associação com algumas proteínas que possuem capacidade independente de sinalização, como o fosfatidilinositol 3-quinase (PI 3-quinase)(20). Pela ativação dessa via, há a regulação da função metabólica(20).

O receptor da insulina ativa também a via da proteína ativada por *mitogen activated protein kinase* (MAP kinase), responsável pelos efeitos da insulina no crescimento e proliferação(20).

1.2.1.4 Ações da insulina no metabolismo

A insulina é um hormônio anabólico. No fígado, a insulina age inibindo a produção hepática de glicose, pela gliconeogênese e pela glicogenólise, e estimula a síntese de glicogênio hepático pela desfosforilação da glicogênio sintetase. Em situações de excesso de

carboidratos, há estímulo à síntese hepática de ácidos graxos, pelo aumento nos níveis do *sterol regulatory element-binding proteins* (SREBP) (20). A insulina estimula a captação de glicose nos adipócitos e nos músculos esqueléticos, mediado pelo transportador de glicose 4 (GLUT 4). Nos adipócitos, a insulina inibe o hormônio lipase sensível e conseqüentemente, há redução da lipólise. Pela ação da insulina, há aumento da retenção do nitrogênio e estímulo à síntese proteica, além da inibição da proteólise (20).

1.2.1.5 Mensuração da secreção da insulina

O *clamp* hiperglicêmico é o padrão ouro para avaliação da secreção da insulina, mas por ser caro e trabalhoso não é possível sua ampla utilização. Outros métodos, como o teste de sobrecarga endovenosa com 25g de glicose, conseguem também caracterizar o padrão bifásico da secreção de insulina(17).

A mensuração da glicemia de jejum é um método muito pouco sensível para mensurar a massa de células beta, pois, quando há alteração da glicemia em jejum, cerca de 50% das células beta já foi perdida(14, 15).

A dosagem das concentrações periféricas da insulina por radioimunoensaio é um dos métodos mais utilizados para tentar quantificar a função das células beta, por ser um método simples. Todavia, 50% da insulina produzida pelo pâncreas é extraída na primeira passagem hepática e não atinge a circulação periférica. Outro problema, dá-se pelo fato de que a maioria dos radioimunoensaios não é capaz de distinguir entre os níveis de proinsulina e os níveis reais de insulina. Ademais, os níveis de insulina estão mais elevados quanto maior a RI(21, 22).

A insulina é secretada na circulação em concentrações equimolares ao do peptídeo C, sendo que esse não é extraído no fígado. Então, a dosagem do peptídeo C é muito solicitada para avaliação da função das células beta pancreáticas e pode auxiliar na distinção entre os tipos de diabetes(21). A dosagem pode ser realizada no sangue, em jejum ou dosagem aleatória, ou pela razão peptídeo C/creatinina na urina. Como o peptídeo C tem excreção renal, a dosagem deve ser interpretada com cautela em pacientes com doença renal crônica, pois podem apresentar níveis falsamente elevados. Em pacientes com função renal normal, os níveis do peptídeo C irão depender do grau de resistência insulínica do indivíduo estudado. Os ensaios comerciais, disponíveis atualmente no mercado, apresentam variação significativa na comparabilidade dos resultados e precisão. Também, a dosagem do peptídeo C pode não refletir os níveis circulantes de insulina ativa e, como a meia vida do peptídeo C é maior que da insulina, pode superestimar a função da célula beta em situações de rápido declínio da liberação de insulina(23). Ademais, os valores de referência são para a população sem diabetes e não há valores de referência disponíveis para população com diabetes(24).

O *Homeostatic model assessment of beta-cell function* (HOMA-B) é calculado pelas concentrações de glicose e insulina em jejum – medidas simultaneamente - $(20 \times \text{insulina de jejum (mU/mL)} / \text{glicose em jejum (mmol/L)} - 3,5)$ e tem correlação modesta com o *clamp* hiperglicêmico(17). Por convenção, uma pessoa com peso normal e com menos de 35 anos, deveria ter o HOMA-B em 100%(23). O HOMA-B tem a vantagem de ser simples e facilmente aplicável a grandes estudos epidemiológicos, por exigir medidas únicas. Por outro

lado, é uma avaliação indireta da função pancreática e os valores de referência variam de acordo com as diferentes populações (12).

1.2.2 Resistência Insulínica (RI)

1.2.2.1 Conceitos

A resistência insulínica é caracterizada pela diminuição da habilidade da insulina, endógena ou exógena, de exercer suas funções fisiológicas(25, 26). Apresenta-se como uma redução do transporte, mediado pela insulina, e do metabolismo da glicose nos adipócitos, no músculo esquelético e no fígado, ocasionando maior produção hepática de glicose(21). Alguns fatores podem interferir na sensibilidade insulínica como idade, peso, atividade física, medicamentos, circunferência abdominal, processos infecciosos. A RI está presente em várias situações como no diabetes *mellitus* tipo 2, na obesidade, em quadros infecciosos, na gestação, no uso de corticoide, dentre outras.

1.2.2.2 Fisiopatologia

A resistência insulínica é um importante preditor da ocorrência de DM tipo 2. Geralmente está presente vários anos antes do desenvolvimento da hiperglicemia(26).

É cada vez mais estudado o papel do tecido adiposo na RI, mudando a perspectiva “glicocêntrica” para uma visão mais “lipocêntrica”. (27) O tecido adiposo é um importante local de estoque energético e, quando há a quebra do triacilglicerol, os ácidos graxos livres são liberados na circulação, pelo hormônio lipase sensível (HLS). Os ácidos graxos livres têm

papel crítico no desenvolvimento da resistência insulínica. O mecanismo proposto é que os ácidos graxos aumentam a acetil coenzima A (acetil CoA) mitocondrial e reduzem a razão NADH/NAD⁺ com subsequente inativação da enzima piruvato desidrogenase. Consequentemente, há aumento das concentrações intracelulares de citrato, causando uma inibição da fosfofrutoquinase, uma etapa limitante no controle da glicólise. Com o acúmulo da glicose-6-fosfato, há inibição da atividade da enzima hexoquinase II, resultando em aumento das concentrações intracelulares de glicose e diminuição da captação glicêmica(21, 27). Situações em que há redução da lipólise, como em mutações inativadoras do HLS, há diminuição da liberação dos ácidos graxos na circulação com melhora da sensibilidade insulínica(28).

Além disso, uma série de defeitos na cascata de sinalização da insulina como nos IRS, na PI 3-kinase, na proteína quinase C (PKC), na proteína ativadora da tirosina quinase, no GLUT 4 foram detectadas em pacientes com aumento da RI.

A RI deve-se, em parte, às adipocinas, proteínas produzidas por células presentes no tecido adiposo como adipócitos e macrófagos(29) (figura 1).

A adiponectina, hormônio anti-inflamatório produzido pelos adipócitos, está reduzida quando há aumento da adiposidade, principalmente na região central, e aumento do peso(29). Essa citocina reduz os níveis de ácidos graxos livres e aumenta a sensibilidade insulínica. Não se sabe ao certo qual seria o papel da adiponectina nas doenças cardiovasculares(18).

A resistina, polipeptídeo produzido principalmente pelos macrófagos, está relacionada com o aumento da resistência insulínica(29). Quanto maior a adiposidade, maiores serão os níveis de resistina.

O Fator de Necrose Tumoral α (TNF α) é uma citocina próinflamatória secretada no tecido adiposo, por adipócitos e macrófagos e tem um papel importante na fisiopatologia da resistência insulínica(29). O TNF α induz fosforilação da serina no IRS-1. O IRS-1 fosforilado em serina ocasiona redução da sinalização intracelular da insulina, incluindo redução dos níveis de PI 3-quinase. Além disso, essa citocina induz a lipólise e reduz o IRS-1 e GLUT 4(30).

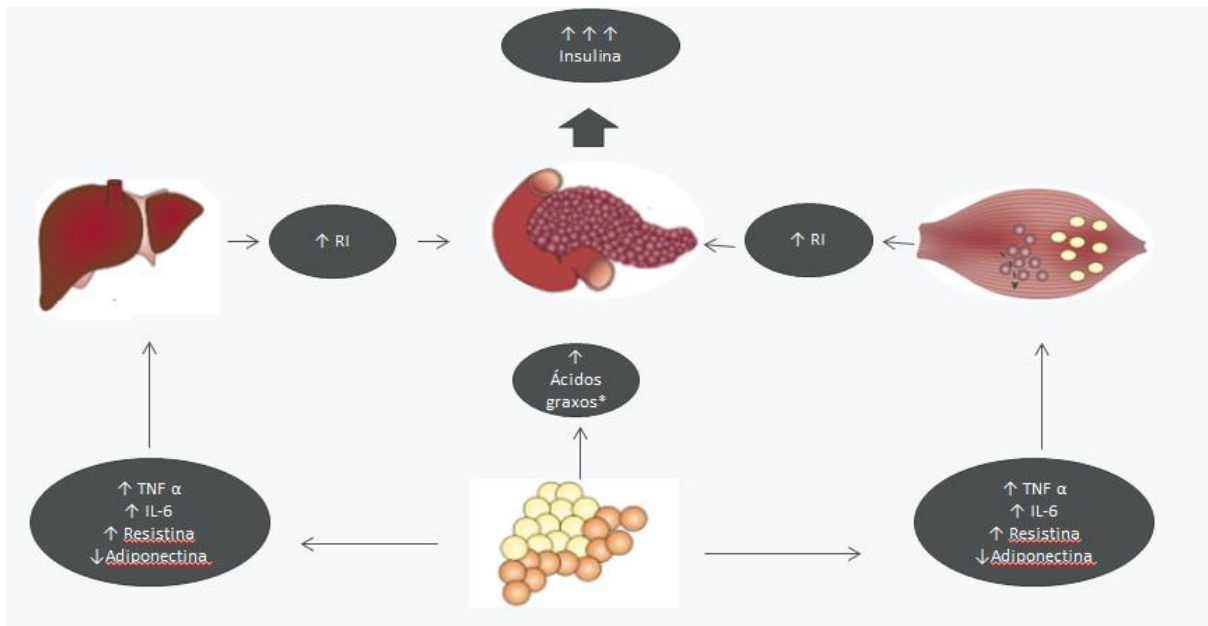


Figura 1- Fisiopatologia das adipocinas na resistência insulínica, em um indivíduo obeso

1.2.2.3 Diagnóstico

Os métodos de avaliação disponíveis para o estudo da RI são divididos em métodos indiretos, como a dosagem da insulinemia de jejum, o *Homeostasis model assessment of insulin resistance* (HOMA-IR), teste de tolerância oral à glicose, teste de tolerância endovenoso à glicose com amostras frequentes e métodos diretos, como o teste de tolerância à insulina, teste de supressão de insulina e a técnica do *clamp*(22).

O diagnóstico bioquímico da RI na prática clínica é difícil, pois não há bons exames validados e de fácil execução, associados a um custo acessível.

O *clamp* hiperinsulinêmico euglicêmico, considerado o padrão ouro, é um método direto que permite o estudo da sensibilidade insulínica nos tecidos(22). Entretanto, é impraticável para

uso clínico e para estudos epidemiológicos por ser um exame invasivo, caro e de difícil execução(25, 26).

A dosagem da insulinemia em jejum, muito solicitada na prática clínica para avaliar a sensibilidade insulínica, possui uma série de limitações como o fato de não possuir boa correlação com a ação insulínica *in vivo*. Além disso, pode haver reação cruzada com a proinsulina e uma dosagem de insulina baixa pode ser erroneamente interpretada como resistência insulínica normal, sendo que, na realidade, pode estar relacionada com falência das células beta pancreáticas(22).

Apesar das limitações do HOMA-IR, como a falta de padronização universal, pelo fato dos parâmetros serem exclusivamente em jejum e por considerar a sensibilidade à insulina igual em todo o corpo(22), este continua sendo um método muito utilizado em grandes estudos populacionais. Mather e colaboradores demonstraram a boa reprodutibilidade da fórmula com o *clamp* hiperinsulinêmico euglicêmico e sua superioridade quando comparado com o uso isolado da insulinemia(31). Para o cálculo é utilizada a seguinte fórmula: insulina de jejum ($\mu\text{U/L}$) x glicemia de jejum (mMol/L)/22.5 (22). Diferentes pontos de corte são utilizados na interpretação do HOMA-IR. O Estudo Brasileiro de Síndrome Metabólica (BRAMS) demonstrou que, numa amostra da população brasileira saudável ($n=297$), o valor de corte $>2,7$ seria adequado para definir resistência à insulina, correspondendo ao percentil 90% do valor do HOMA-IR nessa amostra(32).

A presença de obesidade e/ou aumento da circunferência abdominal, o aumento dos níveis pressóricos, o aumento dos valores de glicemia e dos níveis de triglicerídeos, os baixos níveis do colesterol HDL sugerem a existência da síndrome metabólica, que é muito relacionada com a RI(26, 33).

1.2.3 Diabetes Mellitus (DM) tipo 2

1.2.3.1 Conceitos

O DM tipo 2 é caracterizado por aumento dos níveis glicêmicos secundário ao aumento da resistência insulínica, à redução relativa na secreção de insulina e ao aumento da produção endógena de glicose(18). Geralmente, as pessoas com DM tipo 2 são assintomáticas por longos períodos, embora os danos micro e macrovasculares possam já estar acontecendo.

1.2.3.2 Epidemiologia

A prevalência do DM está aumentando em todo mundo, caracterizando uma epidemia mundial. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde(OMS) (34),em 1980 havia 108 milhões (4,7% da população) de adultos diabéticos no mundo comparados com 422 milhões (8,5%) em 2014. Dentre os vários tipos de diabetes, o DM tipo 2 é o mais comum e corresponde a 90% deles(34).

O Brasil apresenta uma das mais altas prevalências de DM do mundo. Em 2013 estimou-se cerca de 11,9 milhões de brasileiros com diabetes, segundo a *International Diabetes Federation* (IDF)(35). Na linha de base do Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA) -

BRASIL a prevalência de DM foi de 2,970, correspondendo a 19.67% dos participantes do estudo. Apesar da alta prevalência de DM em nosso país, o número de internações reduziu 11,5% nos últimos cinco anos. Entretanto, ainda é grande o número de diabéticos internados por agravos da doença. Em 2015, cerca de 137,4 mil internações foram registradas no Sistema Único de Saúde (SUS), a um custo de R\$ 92 milhões. O número de óbitos por diabetes no Brasil ainda é alto, sendo que, em 2013, foram 58.107, correspondendo a 28,9 óbitos por 100.000 habitantes (36).

1.2.3.3 Fisiopatologia

Para a glicemia se manter dentro dos níveis da normalidade, é importante que a quantidade de insulina secretada seja proporcional à sensibilidade à ação da insulina. Comumente, o aumento da resistência insulínica e a deficiência relativa da insulina precedem em alguns anos o diagnóstico de diabetes(18). A hiperglicemia resultante, assim como o aumento dos ácidos graxos livres, prejudica o funcionamento das células beta remanescentes e acelera a sua deterioração, ocasionando um ciclo vicioso.

A intolerância à glicose é um estado intermediário entre glicemia normal e o diabetes *mellitus* tipo 2. Os indivíduos intolerantes à glicose já possuem aumento da resistência insulínica, principalmente nos músculos esqueléticos, e disfunção da célula beta. A taxa anual de progressão para o DM2 é de 5-10% ao ano. Outro estado alterado do metabolismo glicêmico denomina-se glicemia de jejum alterada. Nesse caso, o mecanismo fisiopatológico predominante é o aumento da resistência insulínica hepática. A sobreposição da intolerância à glicose e a glicemia de jejum alterada acontecem em cerca de 25% dos casos(37).

1.2.3.4 Diagnóstico

O diagnóstico do diabetes *mellitus* pode ser estabelecido por uma única dosagem aleatória da glicemia acima de 200mg/dL quando o paciente apresentar os sintomas clássicos de hiperglicemia, como poliúria, polidipsia, emagrecimento. Em indivíduos assintomáticos, o diagnóstico só pode ser estabelecido com a repetição, posterior, da dosagem e tem que obedecer os seguintes critérios: glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL ou teste oral de tolerância a glicose (TOTG) com 75g de glicose anidra com dosagem de glicemia após 2 horas ≥ 200 mg/dL ou hemoglobina glicada (HbA1c) $\geq 6,5\%$ (38).

A intolerância à glicose é caracterizada quando a glicemia 2 horas após o TOTG está entre 140 a 199mg/dL, enquanto pacientes com diagnóstico de glicemia de jejum alterada, apresentam níveis de glicemia de jejum entre 100 e 125 mg/dL. Níveis de HbA1C entre 5,7 a 6,5% apresentam, também, maior risco para progressão do DM 2. O ponto de corte da HbA1c de 5,7% apresenta a melhor sensibilidade (39%) e especificidade (91%) para identificar os pacientes com glicemia de jejum alterada(38).

1.3 Doença de Chagas

1.3.1 Etiologia e epidemiologia

A doença de Chagas é considerada pela OMS como uma das treze doenças tropicais negligenciadas do mundo(39). Em 1909, o pesquisador brasileiro Carlos Chagas (1879-1934), descreveu o protozoário *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*) como o agente etiológico dessa doença, assim como o seu ciclo de transmissão e as manifestações da doença na fase aguda(40). A

doença de Chagas é transmitida para os humanos e para outros mamíferos, sendo a transmissão vetorial, historicamente, uma das mais importantes formas de contágio. A transmissão vetorial ocorre pela deposição de fezes dos insetos hematófagos da subfamília *Triatominae*, popularmente denominados de "barbeiros", em que estão presentes a forma tripomastigota metacíclica do *T. cruzi*. *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Triatoma dimidiata* são as três espécies de vetores mais importantes na transmissão da doença de Chagas. Há outras formas de contágio como a transfusão sanguínea, a transmissão vertical, a doação de órgãos, por acidentes em laboratórios(41) ou pela ingestão de alimentos contaminados(42). Na América Latina, a transmissão vetorial está controlada após a melhoria das condições de vida da população e o controle com pesticidas(43), assim como houve redução pela transmissão por transfusão sanguínea após maior controle sorológico pelos bancos de sangue(41).

Apesar do controle na incidência de novos casos (700.000/ano em 1990 vs 41.200/ano em 2006) (44), a doença de Chagas ainda é considerada um problema de saúde pública(45). Segundo dados da OMS, cerca de 6-7 milhões de pessoas no mundo são infectadas pelo protozoário, sendo a grande maioria delas na América Latina(46). No Brasil, em 2010 havia cerca de 4,6 milhões (IC 95%, 2,9-7,2 milhões) infectadas pelo *T. cruzi*(47). Os países desenvolvidos estão apresentando um aumento do número de casos, graças à migração de pessoas infectadas das áreas endêmicas para essas regiões. Nos Estados Unidos da América estima-se que cerca de 300.000 pessoas possuam doença de Chagas(48).

1.3.2 Patogênese e mecanismos fisiopatológicos

Não se sabe ao certo quais são os mecanismos que ocasionam as lesões decorrentes da doença de Chagas. Provavelmente, as lesões são causadas pela infecção direta do *T. cruzi* no tecido parasitado, decorrentes da resposta inflamatória do hospedeiro em resposta à presença do protozoário e/ou por uma possível autoimunidade (41, 49).

Estudos demonstraram que a infecção por esse parasita desencadeia uma resposta imune pelos linfócitos *T-helper-1* (Th1), sendo caracterizado pelo estímulo à produção de espécies reativas de oxigênio, quimiocinas e várias citocinas, como interferon γ (IFN- γ), TNF α e interleucina (IL) 12, objetivando o controle do parasitismo na fase aguda (41, 50-52). Apesar da ativação policlonal das células B e da hipergamaglobulinemia, esses anticorpos são inespecíficos e ineficazes para controlar a doença(50). Na fase crônica, o parasitismo tissular estimula a manutenção do processo inflamatório mediado pela célula-T, que pode se expressar em diferentes intensidades, mediada por fatores do hospedeiro e do parasita(53, 54).

1.3.3 Ciclo de vida do *T. cruzi*

O *T. cruzi* tem os mamíferos como seus hospedeiros. A transmissão vetorial tem quatro estágios distintos: tripomastigotas, amastigotas, epimastigotas e tripomastigotas metacíclicas. As formas tripomastigota, forma circulante e que não se replica, e amastigota, forma intracelular e que se replica, são as encontradas nos mamíferos, enquanto as formas epimastigota e tripomastigota metacíclica são as presentes nos insetos vetores(54).

O inseto ingere a forma tripomastigota circulante no sangue do mamífero com doença de Chagas, essa se transforma na forma epimastigota no estômago do vetor, iniciando-se a replicação do protozoário. Aproximadamente três a quatro semanas após a infecção, os epimastigotas se convertem em tripomastigotas metacíclicas e se movem ao intestino do inseto. A transmissão para um novo hospedeiro mamífero ocorre quando o inseto contaminado deposita suas fezes com as formas tripomastigotas metacíclicas na mucosa ou na pele em que haja uma solução de continuidade. No mamífero, a forma tripomastigota penetra no citoplasma das células nucleadas e se transforma na forma amastigota, que se divide por divisão binária. Antes da lise celular, há transformação nas formas tripomastigotas, sendo liberadas na circulação e se difundem via linfática e sanguínea para as novas células que serão invadidas(52).

1.3.4 Fases e formas clínicas

As primeiras quatro a oito semanas caracterizam a fase aguda, em que a maioria dos pacientes são assintomáticos. Quando sintomáticos, podem apresentar: febre, linfadenopatia, hepatoesplenomegalia, miocardite, meningoencefalite, sinal de porta de entrada (sinal de Romaña ou chagoma), edema do subcutâneo. A mortalidade nessa fase está em torno de <1% e resulta da miocardite severa e/ou meningoencefalite(41). A hipoglicemia que pode ocorrer nessa fase está relacionada com aumento da mortalidade, como demonstrado em estudos com ratos(2, 7). É desconhecido o mecanismo fisiopatológico que leva à hipoglicemia, embora algumas causas sejam aventadas, como alteração da produção hepática de glicose, com redução da gliconeogênese(2, 7).

Após a fase aguda, cerca de 60-70% dos pacientes nunca desenvolverão doença clínica aparente, configurando assim, a forma crônica indeterminada. Essa forma é caracterizada por sorologias positivas, eletrocardiograma (ECG) normal e radiografias de tórax, esôfago e cólon normais. O restante dos portadores de doença de Chagas, cerca de 30-40% do total, irão desenvolver a forma crônica determinada, caracterizada por comprometimento cardíaco, digestivo (megaesôfago e megacólon) ou neurológico(55). A progressão para a forma determinada, usualmente, ocorre 10-30 anos após a infecção inicial(41).

1.3.5 Diagnóstico

O diagnóstico na fase aguda é feito pela detecção das formas tripomastigotas no sangue, fase em que há maior parasitemia. Outro exame com boa sensibilidade na fase aguda, é a reação em cadeia polimerase (PCR). Na fase crônica, o principal método para o diagnóstico da doença de Chagas são os exames sorológicos, sendo o ensaio enzimático, como o ELISA, a imunofluorescência indireta ou a hemaglutinação indireta os exames mais utilizados. Nenhum ensaio tem sensibilidade e especificidade suficiente para ser usado isoladamente(54), então, para se fazer o diagnóstico nessa fase, os anticorpos contra o *T. cruzi* devem ser detectados por dois métodos sorológicos diferentes. O PCR é um exame menos acurado que a sorologia(54) e não deve ser utilizado rotineiramente por não ser um exame amplamente disponível, por ser caro, pouco padronizado e que pode ter reações cruzadas com contaminantes. É um exame útil para confirmar os casos com sorologias indeterminadas e auxiliar na monitorização ao tratamento(41).

1.4 Doença de Chagas, Resistência Insulínica e Diabetes *Mellitus*

O *T. cruzi* pode parasitar diferentes tipos de células e tecidos, sendo o tecido cardíaco, o tecido reticuloendotelial e o sistema nervoso autônomo os alvos classicamente descritos. O parasitismo do tecido adiposo e do tecido pancreático não é um achado novo(1, 56, 57), entretanto, esses locais têm sido mais estudados apenas nas últimas décadas(2, 7).

O tecido adiposo é composto predominantemente por adipócitos, mas também fazem parte desse tecido: fibroblastos, células musculares lisas, células endoteliais e, principalmente em um contexto infeccioso, células inflamatórias, como os macrófagos. A função do tecido adiposo vai muito além de estocar triglicerídeos. Os adipócitos são células endócrinas muito ativas que contribuem para a homeostase energética e para a resposta imune, além de serem alvos de alguns microorganismos(58). Esse tecido é um importante alvo do *T. cruzi*, que parasita tanto o tecido adiposo marrom, quanto o tecido adiposo branco(59) (figura 2). O protozoário está presente no tecido adiposo em ambas as fases, aguda e crônica, que funciona como reservatório do *T. cruzi*(2, 60). Alguns autores já demonstraram que, na fase aguda, o parasitismo do tecido adiposo é mais intenso do que outros tecidos, como coração e baço(58), enquanto na fase crônica, o parasitismo é equivalente ao do tecido cardíaco(2). Combs e colaboradores foram pioneiros ao fazer uma análise detalhada das consequências da presença do protozoário no tecido adiposo e nos adipócitos, revelando importantes alterações transcricionais e, conseqüentemente, alterações na secreção de adipocinas(2).

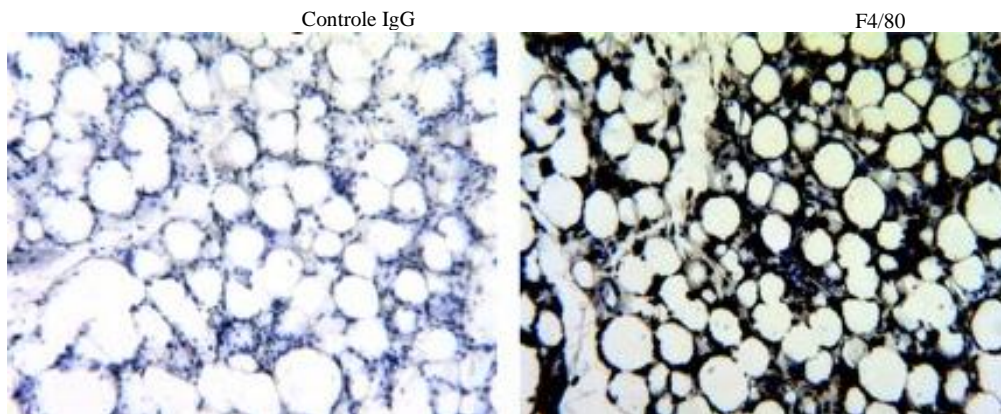


Figura 2- Imunohistoquímica evidenciando a presença de macrófagos no tecido adiposo marrom usando anticorpo contra F4/80 e a presença de parasitas intracelulares nos adipócitos, 30 dias após a infecção(2).

A presença do *T. cruzi* nos adipócitos ocasiona redução dos níveis de caveolina-1, uma importante proteína estrutural que regula negativamente a expressão da *extracellular signal-regulated kinases 1 e 2* (ERK 1, ERK 2) e da ciclina (CCL), com consequente aumento destas. Dentre as ciclinas aumentadas, a ciclina D1 está associada à proliferação celular. Há um aumento da resposta inflamatória com aumento das quimiocinas, demonstrado por PCR quantitativo (qPCR). Na fase aguda há aumento do RNA mensageiro da CCL2, CCL5 e *C-X-C motif chemokine ligand 10* (CXCL10); já na fase crônica, há aumento importante da CCL2, CCL3, CCL5. Também as citocinas estão aumentadas, como o TNF α , IL-1, IFN γ , IL-10 (3, 58), assim como as proteínas de fase aguda, *serum amyloid A 3* (SAA3) e glicoproteína ácida α -1(4). Além disso, há aumento da *p38 mitogen-activated protein kinase* (p38MAPK), dos *toll-like receptors 2 e 9* (TLR-2 e 9) e do *Signal Transducer and Activator of Transcription3* (STAT 3), um importante componente da sinalização das citocinas. É controverso se há aumento da resistina(3, 52). A adiponectina e o *peroxisome proliferator-activated receptor γ* (PPAR γ), que regulam negativamente a resposta inflamatória dos adipócitos e aumentam a sensibilidade insulínica, estão reduzidos na fase aguda(3) e na fase crônica (61). Entretanto,

no estudo de Barbosa-Ferreira e colaboradores, foi evidenciado um aumento dos níveis de adiponectina em indivíduos com a forma cardíaca, com e sem disfunção ventricular esquerda, quando comparado aos participantes sem doença de Chagas e com doença de Chagas forma indeterminada(13). Uma hipótese aventada para esse aumento da adiponectina na fase crônica é que possa ser secundário à disfunção autonômica.

Análise por *immunoblot* em adipócitos em meios de cultura demonstrou aumento da expressão da PI3kinase (subunidade 85) e da ativação da *phospho-AKT* (pAKT) sugerindo que possa haver indução dos componentes da via insulina/*insulin growth fator-1* (IGF-1)(3), o que era inesperado, pois processos inflamatórios levam à redução da resposta celular da indução dessa via. Ainda não se sabe quais as implicações desse achado(52).

Wen e colaboradores demonstraram aumento na geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, por aumento da *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) oxidase e por redução dos antioxidantes (59). Há alguns estudos que demonstram o aumento da lipólise e, conseqüentemente, o aumento dos ácidos graxos livres circulantes, sendo que estes são usados como fonte de energia pelo *T. cruzi*(58).

A inflamação crônica gerada pela presença do *T. cruzi* no tecido adiposo é semelhante ao fenótipo inflamatório da obesidade, que contribui para resistência insulínica. Em ambas as situações há influxo de macrófagos para esse tecido, aumento dos marcadores do estresse oxidativo e das vias proinflamatórias(59). Embora em estudo com roedores não foi

evidenciada diferença na resistência insulínica na fase crônica, avaliada pelo HOMA-IR, entre os grupos infectados e não infectados pelo *T. cruzi*(61).

O tecido pancreático é outro importante órgão acometido pelo parasita. A presença do parasita foi demonstrada no tecido conectivo perivascular, nos ácinos pancreáticos, na gordura peripancreática e nas células beta(7, 8). Na fase aguda, foi demonstrado que os ratos infectados apresentavam pancreatite focal ou difusa de intensidade variável(8). Também na fase crônica há persistência do processo inflamatório(7). Saldanha e colaboradores. descreveram que há diferentes graus de fibrose pancreática, definida como "cirrose pancreática", sendo esse achado corroborado por outros autores (8, 62).

Há aumento do número de ilhotas pancreáticas na fase crônica, principalmente por aumento das células produtoras de somatostatina e do polipeptídeo pancreático(8, 62).

Santos e colaboradores realizaram estudo em ratos controlado com placebo que evidenciou uma menor contagem de células beta na fase aguda, presença de insulinite e menores níveis de insulina, em ambas as fases, nos ratos infectados pelo *T. cruzi*(8). Este dado foi corroborado por Nagajyothi e colaboradores que também demonstraram redução nos grânulos de insulina em ratos e desorganização da integridade das ilhotas (7).

Estudos anatomopatológicos demonstraram que em todos os segmentos pancreáticos (cabeça, corpo e cauda), o número total de neurônios foi significativamente menor no grupo com doença de Chagas em relação ao grupo controle, evidenciando denervação neuronal

pancreática. Há descrição da presença de ganglionite e periganglionite intrapancreática, embora não sejam alterações corroboradas por todos os estudos(57, 62).

A hipoinsulinemia relatada por alguns autores, pode ser secundária à insulinite, redução da inervação parassimpática e/ou predominância da inervação simpática(9, 63), além do efeito inibitório da somatostatina na liberação da insulina(8). Santos e colaboradores observaram que na fase crônica não há redução do número de células beta, sugerindo que a hipoinsulinemia seja mais um problema funcional do que estrutural(8).

Devido a possibilidade de haver aumento da resistência insulínica, pelo parasitismo do tecido adiposo, e à possível hipoinsulinemia, a hipótese de que as alterações glicêmicas sejam mais frequentes em pacientes infectados pelo *T. cruzi* é plausível e já foi demonstrada em dois estudos observacionais. Em um estudo com 647 mulheres brasileiras, dessas 362 eram portadoras da doença de Chagas e 285 eram do grupo controle com a média de idade semelhante, quando realizada a subdivisão pelas formas da doença, àquelas com cardiopatia (n= 178) apresentaram maior prevalência de DM e hiperglicemia quando comparadas as mulheres dos outros grupos (12). Outro estudo que corrobora essa teoria é um estudo com roedores infectados (n=10) e não infectados (n=10) em que os níveis glicêmicos foram avaliados no jejum e no teste com glicose anidra, sendo que o resultado evidenciou maiores valores de glicemia em ambos os testes naqueles roedores infectados pelo *T. cruzi*(11). Entretanto, dados sobre alterações glicêmicas em indivíduos com doença de Chagas são controversos. No estudo de Barbosa-Ferreira e colaboradores, não foi evidenciado alterações nos níveis glicêmicos entre os indivíduos do grupo controle (=15) e os pacientes com doença

de Chagas (n=45), mesmo quando estratificado pela forma cardíaca(n=30)(13). Há outros estudos em humanos, mas com amostra muito pequena, como estudo realizado por Guariento e colaboradores, em que não houve diferença nos níveis glicêmicos de jejum e após teste de tolerância oral a glicose (100g) entre os 16 indivíduos infectados pelo *T. cruzi*, com a forma indeterminada, e os 28 indivíduos do grupo controle(10).

2 Capítulo II: Objetivo

Objetivo Geral

Investigar a associação entre doença de Chagas e cardiopatia chagásica com a resistência insulínica (RI), diabetes *mellitus* e a função pancreática em pacientes da linha de base do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil)

Objetivos específicos

Investigar a associação da doença de Chagas e cardiopatia chagásica com a resistência insulínica, diabetes *mellitus*, função pancreática após ajustes por:

Dados sócio demográficos: idade; sexo, escolaridade

Hábitos de vida: tabagismo, atividade física

Dados antropométricos: circunferência da cintura (cm)

Fatores clínicos: hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia.

3 Capítulo IV: Material e Métodos

Delineamento do Estudo e Seleção dos Pacientes

Trata-se de um estudo transversal com os participantes da linha de base do ELSA realizado entre agosto de 2008 e dezembro de 2010. Trata-se de população de 15.105 participantes, sendo que 14922 (98,8%) foram incluídos nessa análise. Os critérios de exclusão foram sorologias inconclusivas para doença de Chagas (n=12), participantes que fizeram cirurgia bariátrica (n=107), dados faltantes sobre doença de Chagas (n=22), glicemia de jejum (n=5), insulina (n=14) ou cirurgia bariátrica (n=23).

O estudo ELSA (Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto) é uma coorte constituído por homens e mulheres de 35 a 74 anos, voluntários, constituído por servidores públicos, ativos ou aposentados. O ELSA é conduzido em cinco universidades e uma instituição de pesquisa, em seis estados diferentes (Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade de São Paulo, Fundação Oswaldo Cruz - RJ, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade Federal do Espírito Santo, Universidade Federal da Bahia). Objetiva investigar aspectos epidemiológicos, clínicos e moleculares de doenças crônicas não transmissíveis, principalmente as doenças cardiovasculares e o diabetes *mellitus*.

A constituição da coorte, durante o estudo de linha de base, ocorreu em dois momentos, sendo que no primeiro ocorreu o recrutamento, assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido– TCLE (anexo A) e a primeira parte da entrevista, nos locais de trabalho ou na sede do Centro de Investigação (CI). Na segunda fase, foi concluída a segunda parte da

entrevista e realizadas as medidas antropométricas, os exames clínicos e laboratoriais no CI(64, 65).

Os entrevistadores e profissionais responsáveis pelos exames clínicos e laboratoriais do protocolo do estudo foram submetidos a treinamentos, certificações e recertificações para garantir a qualidade, o controle da coleta e o armazenamento dos dados.

- ***Diagnóstico de DM, RI e disfunção de célula beta***

O diagnóstico de diabetes foi realizado pelos seguintes critérios: glicemia em jejum ≥ 126 mg/dL ou glicemia 2h pós sobrecarga de 75g de glicose anidra ≥ 200 mg/dL ou hemoglobina glicada A1c $\geq 6,5\%$ ou pelo uso de medicações para o tratamento do diabetes ou diagnóstico autorreferido de diabetes(68). O diagnóstico de glicemia em jejum alterada foi pela glicemia em jejum ≥ 100 mg/dL com glicemia 2h pós sobrecarga de 75g de glicose anidra < 140 mg/dL e hemoglobina glicada A1c $< 5,7\%$. O diagnóstico de tolerância à glicose alterado foi pela glicemia 2h pós sobrecarga de 75g de glicose anidra ≥ 140 mg/dL e < 200 mg/dL e/ou hemoglobina glicada A1c $\geq 5,7\%$ e $< 6,5\%$ (64,68).

A RI foi avaliada pelo *Homeostasis model assesement- insulin resistance* (HOMA-IR) calculado pela fórmula [(glicemia em jejum (mg/dL) x 0.0555 X insulina plasmática em jejum(mUI/L)]/ 22.5. A função pancreática foi avaliada pelo *Homeostasis model assesement - beta* (HOMA-B) calculado pela fórmula [20 x insulina em jejum(mUI/L)]/ [Glicemia em jejum(mg/dL) x 0,0555] - 3,5(69). A RI foi considerada aumentada naqueles participantes

cujo valor do HOMA-IR estava acima do percentil 90%. Esse ponto de corte foi selecionado levando-se em consideração o estudo BRAMS(32). A função pancreática foi considerada normal naqueles indivíduos cujo percentil do HOMA-B estava acima de 90%.

As amostras de sangue foram coletadas após jejum de 12 horas. A Glicemia de jejum foi determinada pelo método enzimático colorimétrico, nos equipamentos ADVIA 1200 Siemens[®] (Deerfiel, IL). Para a determinação da hemoglobina glicada (HbA1c), o método utilizado foi a cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) e a análise realizada nos equipamentos Bio-Rad[®]. A dosagem de insulina foi realizada pelo ensaio imunoenzimático (Centaur Siemens[®], Deerfield, IL)(64,68).

- ***Diagnóstico de doença de Chagas e cardiopatia chagásica***

O diagnóstico de doença de Chagas foi pela sorologia positiva pelo ELISA (CHAGATEST), realizado em microplaca sólida, incubadora e leitor(64). Cardiopatia chagásica foi definida pela presença de alterações eletrocardiográficas maiores, entre os indivíduos chagásicos, como: bloqueio completo do ramo direito (BCRD) – com ou sem a presença de hemibloqueio anterior esquerdo; extrassístoles ventriculares; extrassístoles combinadas; bradicardia com frequência cardíaca menor que 40 batimentos por minuto (bpm); áreas eletricamente inativas-presença de onda q maiores ou presença de ondas q menores com alterações do segmento ST-T-; bloqueio completo do ramo esquerdo (BRCE); bloqueio intraventricular inespecífico; presença de marcapasso artificial; fibrilação atrial ou flutter atrial, bloqueio átrio-ventricular total, bloqueio átrio-ventricular de segundo grau(70). O eletrocardiograma (ECG) padrão de 12

derivações foi realizado em todos os participantes e analisado segundo código de Minnesota. As análises foram feitas e interpretadas no Centro de Leitura de ECG do ELSA (Universidade Federal de Minas Gerais). Ambas foram realizadas por um único examinador, após cuidadosa avaliação da qualidade dos exames(64).

- *Outras variáveis*

Características sócio demográficas como idade, sexo, escolaridade foram auto referidos nas entrevistas realizadas. Os participantes eram questionados sobre passado e presente de tabagismo e a quantidade de cigarros fumado (se acima ou abaixo de 100 cigarros ao longo da vida) e classificados como tabagista antigo, tabagista atual e nunca fumou. Aqueles que realizavam pelo menos 150 minutos de atividade física moderada por semana, eram classificados como ativos, seguindo os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS)(66).

Os parâmetros antropométricos, como peso (quilograma-kg), altura (metro-m), índice de massa corporal (IMC- kg/m^2) e circunferências da cintura (centímetro-cm), foram mensurados utilizando equipamentos e técnicas padronizadas,. A circunferência da cintura (cm) foi realizada com fita inelástica, a partir do ponto médio entre a margem superior da crista ilíaca e a última costela, na linha axilar média, com o participante na postura ereta e relaxada. O cálculo do IMC foi realizado dividindo o peso (kg) pela altura (m) ao quadrado. A medida da pressão arterial foi realizada pelo aparelho oscilométrico (Omron HEM 705CPINT) por 3 vezes, com 1 minuto de intervalo entre elas, com o participante na posição sentada após 5

minutos de repouso, sendo utilizadas a média da segunda e terceira medida. A hipertensão arterial sistêmica (HAS) foi definida pelo uso de medicamentos anti-hipertensivos ou pela média de duas medidas da pressão arterial $\geq 140/90$ mmHg no momento da avaliação(64,71).

As amostras de sangue foram coletadas após jejum de 12 horas. Triglicérides, colesterol total e HDL foram determinados pelo método enzimático colorimétrico, nos equipamentos ADVIA 1200 Siemens[®] (Deerfiel, IL). LDL foi aferido pela equação de Friedewald quando os níveis de triglicérides estavam menores ou igual a 400mg/dL. Caso contrário, foi medido pelo método colorimétrico enzimático homogêneo, sem precipitação (ADVIA 1200 Siemens[®])(64,68).

Considerações éticas

Os Comitês de Ética em Pesquisa de todos os seis centros participantes e a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (COEP/UFMG, Etic 186/06 – anexo B) aprovaram o estudo ELSA-Brasil. Na primeira fase de recrutamento, os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (anexo A) antes da coleta de dados clínico-laboratoriais. Além disso, o ELSA segue rigorosamente as regras internacionais de sigilo no armazenamento e análise dos dados do banco de dados.

Análise Estatística

Variáveis contínuas foram descritas pela média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil, dependendo da normalidade da distribuição dos dados, segundo análise do histograma. As variáveis qualitativas foram descritas pelas proporções.

As características da população foram descritas de acordo com a sorologia negativa para doença de Chagas pelo ELISA e pela sorologia positiva para doença de Chagas. Tanto para a análise das características da população pela sorologia negativa/positiva para doença de Chagas quanto para a análise univariada das variáveis respostas, foram realizados os Teste T ou Mann Whitney para comparação de médias e medianas, respectivamente, e para verificar a associação entre duas variáveis categóricas foi utilizado o teste qui-quadrado.

Foram construídos modelos de regressão logística para investigar a associação entre (1) RI avaliada pelo HOMA-IR (sim, não), (2) função pancreática normal avaliada pelo HOMA-B (sim,não) e (3) DM (sim, não) com a sorologia para doença de Chagas (negativa/positiva) e cardiopatia chagásica (sorologia positiva para doença de Chagas com cardiopatia) ajustando para outras covariáveis como: idade; sexo (masculino ou feminino); escolaridade (fundamental incompleto, fundamental completo, nível médio ou superior); presença de hipertensão arterial (HAS) (sim, não), circunferência da cintura, níveis de colesterol HDL, níveis de triglicérides.

A análise multivariada foi realizada ao nível de significância estatística na análise univariada ($p < 0,20$). Ademais, as variáveis clinicamente relevantes para o estudo também entraram no modelo, independente dos resultados da análise univariada. A força das associações entre as variáveis, na regressão logística, foi aferida pela razão de chances (Odds-ratio; OR) e intervalos de confiança (IC 95%). Os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente relevantes. Para a análise de dados foi utilizado o pacote estatístico Stata®12.0.

4 Referências Bibliográficas

1. Shoemaker JP, Hoffman RV, Jr., Huffman DG. Trypanosoma cruzi: preference for brown adipose tissue in mice by the Tulahuen strain. *Exp Parasitol*. 1970;27(3):403-7.
2. Combs TP, Nagajyothi, Mukherjee S, de Almeida CJ, Jelicks LA, Schubert W, et al. The adipocyte as an important target cell for Trypanosoma cruzi infection. *J Biol Chem*. 2005;280(25):24085-94.
3. Nagajyothi F, Desruisseaux MS, Thiruvur N, Weiss LM, Braunstein VL, Albanese C, et al. Trypanosoma cruzi infection of cultured adipocytes results in an inflammatory phenotype. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(9):1992-7.
4. Nagajyothi F, Desruisseaux MS, Weiss LM, Chua S, Albanese C, Machado FS, et al. Chagas disease, adipose tissue and the metabolic syndrome. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104 Suppl 1:219-25.
5. Nagajyothi F, Desruisseaux MS, Jelicks LA, Machado FS, Chua S, Scherer PE, et al. Perspectives on adipose tissue, chagas disease and implications for the metabolic syndrome. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2009;2009:824324.
6. 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.
7. Nagajyothi F, Kuliawat R, Kusminski CM, Machado FS, Desruisseaux MS, Zhao D, et al. Alterations in glucose homeostasis in a murine model of Chagas disease. *Am J Pathol*. 2013;182(3):886-94.
8. dos Santos VM, de Lima MA, Cabrine-Santos M, de Stefani Marquez D, de Araujo Pereira G, Lages-Silva E, et al. Functional and histopathological study of the pancreas in hamsters (*Mesocricetus auratus*) infected and reinfected with Trypanosoma cruzi. *Parasitol Res*. 2004;94(2):125-33.
9. Oliveira LC, Juliano Y, Novo NF, Neves MM. Blood glucose and insulin response to intravenous glucose by patients with chronic Chagas' disease and alcoholism. *Braz J Med Biol Res*. 1993;26(11):1187-90.
10. Guariento ME, Saad MJ, Muscelli EO, Gontijo JA. Heterogenous insulin response to an oral glucose load by patients with the indeterminate clinical form of Chagas' disease. *Braz J Med Biol Res*. 1993;26(5):491-5.
11. Novaes RD, Goncalves RV, Penitente AR, Talvani A, Neves CA, Natali AJ, et al. Trypanosoma cruzi infection alters glucose metabolism at rest and during exercise without modifying the morphology of pancreatic islets in rats. *Pathol Res Pract*. 2012;208(8):480-8.
12. dos Santos VM, da Cunha SFdC, Teixeira VdPA, Monteiro JP, dos Santos JAM, dos Santos TAM, et al. Frequência de diabetes mellitus e hiperglicemia em mulheres chagásicas e não chagásicas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 1999;32(5):489-96.
13. Barbosa-Ferreira JM, Mady C, Ianni BM, Lopes HF, Ramires FJ, Salemi VM, et al. Dysregulation of Autonomic Nervous System in Chagas' Heart Disease Is Associated with Altered Adipocytokines Levels. *PLoS One*. 2015;10(7):e0131447.

14. Festa A, Haffner SM, Wagenknecht LE, Lorenzo C, Hanley AJ. Longitudinal decline of beta-cell function: comparison of a direct method vs a fasting surrogate measure: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(10):4152-9.
15. Robertson RP. Insulin secretion and pancreatic beta cell function UpToDate2014 [
16. Seino S, Shibasaki T, Minami K. Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes. *J Clin Invest.* 2011;121(6):2118-25.
17. Pratley RE, Weyer C. The role of impaired early insulin secretion in the pathogenesis of Type II diabetes mellitus. *Diabetologia.* 2001;44(8):929-45.
18. McCulloch DK, Robertson RP. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus UpToDate2014 [
19. Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1999;104(6):787-94.
20. Mantzoros C, Serdy S. Insulin action UpToDate2014 [
21. Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM. *Williams Textbook of Endocrinology.* 12th ed: Elsevier Saunders; 2011.
22. Geloneze B, Tambascia MA. [Laboratorial evaluation and diagnosis of insulin resistance]. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006;50(2):208-15.
23. Cersosimo E, Solis-Herrera C, Trautmann ME, Malloy J, Triplitt CL. Assessment of pancreatic beta-cell function: review of methods and clinical applications. *Curr Diabetes Rev.* 2014;10(1):2-42.
24. Jones AG, Hattersley AT. The clinical utility of C-peptide measurement in the care of patients with diabetes. *Diabet Med.* 2013;30(7):803-17.
25. Buchanan TA, Watanabe RM, Xiang AH. Limitations in surrogate measures of insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 95. United States2010. p. 4874-6.
26. Mantzoros C. Insulin resistance: Definition and clinical spectrum UpToDate2015 [
27. Sesti G. Pathophysiology of insulin resistance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2006;20(4):665-79.
28. Girousse A, Tavernier G, Valle C, Moro C, Mejhert N, Dinel AL, et al. Partial inhibition of adipose tissue lipolysis improves glucose metabolism and insulin sensitivity without alteration of fat mass. *PLoS Biol.* 2013;11(2):e1001485.
29. Hivert MF, Sullivan LM, Fox CS, Nathan DM, D'Agostino RB, Sr., Wilson PW, et al. Associations of adiponectin, resistin, and tumor necrosis factor-alpha with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(8):3165-72.
30. Fasshauer M, Paschke R. Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia.* 2003;46(12):1594-603.
31. Mather KJ, Hunt AE, Steinberg HO, Paradisi G, Hook G, Katz A, et al. Repeatability characteristics of simple indices of insulin resistance: implications for research applications. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(11):5457-64.
32. Geloneze B, Vasques AC, Stabe CF, Pareja JC, Rosado LE, Queiroz EC, et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009;53(2):281-7.

33. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32 Suppl 2:S157-63.
34. Garwood P, Sminkey L. World Health Day 2016: Who calls for global action to halt rise in and improve care for people with diabetes. World Health Organization; 2016.
35. IDF Diabetes Atlas [Internet]. 2013.
36. Saúde Md. Estimativas sobre frequência e distribuição sócio-demográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2015: Vigilatel Brasil 2015- Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico; 2015 [
37. Abdul-Ghani MA, Jenkinson CP, Richardson DK, Tripathy D, DeFronzo RA. Insulin secretion and action in subjects with impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: results from the Veterans Administration Genetic Epidemiology Study. *Diabetes*. 2006;55(5):1430-5.
38. McCulloch DK. Clinical presentation and diagnosis of diabetes mellitus in adults UpToDate2015 [
39. Hanse JA, Chagnat CL. Neglected tropical disease: equity and social determinants. 2009. p. 135-57.
40. Nunes MC, 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. Rassi A, Jr., Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet*. 2010;375(9723):1388-402.
42. Xavier SC, Roque AL, Bilac D, de Araujo VA, da Costa Neto SF, Lorosa ES, et al. Distantiae transmission of *Trypanosoma cruzi*: a new epidemiological feature of acute Chagas disease in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(5):e2878.
43. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis*. 2001;1(2):92-100.
44. Moncayo A, 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.
45. Ribeiro AL, Marcolino MS, Prineas RJ, Lima-Costa MF. Electrocardiographic abnormalities in elderly Chagas disease patients: 10-year follow-up of the Bambui Cohort Study of Aging. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(1):e000632.
46. Organization WH. Chagas disease (American trypanosomiasis). 2016.
47. Martins-Melo FR, Ramos AN, Jr., Alencar CH, Heukelbach J. Prevalence of Chagas disease in Brazil: a systematic review and meta-analysis. *Acta Trop*. 2014;130:167-74.
48. Bern C, Montgomery SP. An estimate of the burden of Chagas disease in the United States. *Clin Infect Dis*. 2009;49(5):e52-4.
49. Morillo CA, Marin-Neto JA, Avezum A, Sosa-Estani S, Rassi A, Jr., Rosas F, et al. Randomized Trial of Benznidazole for Chronic Chagas' Cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2015;373(14):1295-306.
50. Cardoso MS, Reis-Cunha JL, Bartholomeu DC. Evasion of the Immune Response by *Trypanosoma cruzi* during Acute Infection. *Front Immunol*. 2015;6:659.

51. Cardillo F, Voltarelli JC, Reed SG, Silva JS. Regulation of *Trypanosoma cruzi* infection in mice by gamma interferon and interleukin 10: role of NK cells. *Infect Immun*. 1996;64(1):128-34.
52. 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.
53. Teixeira MM, Gazzinelli RT, Silva JS. Chemokines, inflammation and *Trypanosoma cruzi* infection. *Trends Parasitol*. 2002;18(6):262-5.
54. Bern C. Chagas' Disease. *N Engl J Med*. 2015;373(19):1882.
55. Ribeiro AL, Rocha MO. [Indeterminate form of Chagas disease: considerations about diagnosis and prognosis]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1998;31(3):301-14.
56. Andrade ZA, Silva HR. Parasitism of adipocytes by *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1995;90(4):521-2.
57. Rocha A, de Oliveira LC, Alves RS, Lopes ER. [Pancreatic neuronal loss in chronic Chagas' disease patients]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1998;31(1):43-9.
58. Nagajyothi F, Desruisseaux MS, Machado FS, Upadhyaya R, Zhao D, Schwartz GJ, et al. Response of adipose tissue to early infection with *Trypanosoma cruzi* (Brazil strain). *J Infect Dis*. 2012;205(5):830-40.
59. Wen JJ, Nagajyothi F, Machado FS, Weiss LM, Scherer PE, Tanowitz HB, et al. Markers of oxidative stress in adipose tissue during *Trypanosoma cruzi* infection. *Parasitol Res*. 2014;113(9):3159-65.
60. Buckner FS, Wilson AJ, Van Voorhis WC. Detection of live *Trypanosoma cruzi* in tissues of infected mice by using histochemical stain for beta-galactosidase. *Infect Immun*. 1999;67(1):403-9.
61. Cabalen ME, Cabral MF, Sanmarco LM, Andrada MC, Onofrio LI, Ponce NE, et al. Chronic *Trypanosoma cruzi* infection potentiates adipose tissue macrophage polarization toward an anti-inflammatory M2 phenotype and contributes to diabetes progression in a diet-induced obesity model. *Oncotarget*. 2016;7(12):13400-15.
62. Saldanha JC, dos Santos VM, dos Reis MA, da Cunha DF, Antunes Teixeira VP. Morphologic and morphometric evaluation of pancreatic islets in chronic Chagas' disease. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo*. 2001;56(5):131-8.
63. Silva CC, Santos CA, Mostarda C, Krieger EM, Lopes HF. Blood pressure, metabolic and autonomic responses to insulin and intralipid(R) infusion in chagasic patients. *Arq Bras Cardiol*. 2012;98(3):225-33.
64. Aquino EM, Barreto SM, Bensenor IM, Carvalho MS, Chor D, Duncan BB, et al. Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): objectives and design. *Am J Epidemiol*. 2012;175(4):315-24.
65. Bensenor IM, Griep RH, Pinto KA, Faria CP, Felisbino-Mendes M, Caetano EI, et al. [Routines of organization of clinical tests and interviews in the ELSA-Brasil investigation center]. *Rev Saude Publica*. 2013;47 Suppl 2:37-47.
66. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee. *Global Recommendations on Physical Activity for Health*. Geneva: World Health Organization; 2010. Copyright (c) World Health Organization 2010.; 2010.

67. Fedeli LG, Vidigal PG, Leite CM, Castilhos CD, Pimentel RA, Maniero VC, et al. [Logistics of collection and transportation of biological samples and the organization of the central laboratory in the ELSA-Brasil]. *Rev Saude Publica*. 2013;47 Suppl 2:63-71.
68. Diniz Mde F, Beleigoli AM, Ribeiro AL, Vidigal PG, Bensenor IM, Lotufo PA, et al. Factors associated with metabolically healthy status in obesity, overweight, and normal weight at baseline of ELSA-Brasil. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(27):e4010.
69. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9.
70. [Brazilian Consensus on Chagas disease]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38 Suppl 3:7-29.
71. Schmidt MI, Duncan BB, Mill JG, Lotufo PA, Chor D, Barreto SM, et al. Cohort Profile: Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Int J Epidemiol*. 2015;44(1):68-75.

5 Capítulo IV: Artigo

1. Resumo

Contexto: O parasitismo do tecido adiposo e pancreático pelo *Trypanosoma cruzi* ocasiona diversas alterações metabólicas e estruturais. Entretanto, é incerto se essas alterações aumentariam a resistência insulínica (RI) e poderiam alterar a função da célula beta pancreática, constituindo fator associado ao diabetes *mellitus* (DM). Esse estudo objetiva avaliar a associação da sorologia positiva para doença de Chagas (sem e com cardiopatia) com DM, RI e função da célula beta.

Métodos e resultados: Estudo transversal de participantes da linha de base da coorte do Estudo Longitudinal da Saúde do Adulto (ELSA)-Brasil. Dos 15.105 participantes, foram incluídos 14.922 (98,8%). A associação da sorologia positiva para doença de Chagas (sem e com cardiopatia) com DM, RI e função de célula beta foi ajustado para as outras variáveis, como: idade; sexo; escolaridade; atividade física; tabagismo; presença de hipertensão arterial (HAS); circunferência da cintura; níveis de colesterol HDL; níveis de triglicérides, através de modelos de regressão logística. A prevalência da sorologia positiva para doença de Chagas foi de 1,90% (n=283), sendo que a prevalência da cardiopatia entre aqueles com sorologia positiva foi de 17,3% (n=49). DM estava presente em 19,70% (n=2.939) dos participantes, entre os indivíduos com sorologia negativa para doença de Chagas a prevalência foi de 19,6% e, naqueles com sorologia positiva, a prevalência de DM foi de 23,3% (p=0,24), respectivamente. Os níveis glicêmicos dos participantes com sorologia positiva para doença

de Chagas, quando comparados aos com sorologia negativa, tiveram maiores valores da glicemia de jejum (108mg/dl versus 105 mg/dl, respectivamente; $p<0,01$) e da glicemia após 75g de dextrosol (127mg/dl versus 124mg/dl; $p=0,03$). Entretanto, não houve associação significativa entre essas variáveis e doença de Chagas quando ajustado para sexo e idade e, posteriormente, pelas demais variáveis. Adicionalmente, não houve associação significativa entre DM, RI pelo *Homeostasis model assesement- insulin resistance* (HOMA-IR) ou entre função da célula beta pelo *Homeostasis model assesement – beta* (HOMA-B) e sorologia positiva para doença de Chagas (sem e com cardiopatia).

Conclusão: Os resultados do presente estudo evidenciaram que a sorologia positiva para doença de Chagas (sem e com cardiopatia) não evidenciaram associação significativa com DM, RI e alteração da função pancreática, após ajustes para as demais covariáveis, na população estudada.

Palavras chave: Doença de Chagas; cardiopatia chagásica; diabetes *mellitus*; resistência insulínica; disfunção de célula *beta*.

2. Introdução

Apesar do controle da transmissão pelo triatomíneo vetor e por transfusão sanguínea, a doença de Chagas permanece como importante problema de saúde pública no Brasil e na América Latina, onde cerca de 4,6 milhões e 7 milhões de pessoas são infectadas, respectivamente(1, 2). Nos Estados Unidos, devido à migração, estima-se que cerca de 300.000 pessoas são infectadas pelo *T. cruzi*(3). Além do parasitismo dos alvos clássicos,

como o coração e o trato gastrointestinal, outros tecidos são importantes alvos desse protozoário, como pâncreas e tecido adiposo. O parasitismo do tecido adiposo funciona como reservatório do parasita, tanto na fase aguda, quanto na fase crônica (4-6). Estudos com adipócitos, em meios de cultura e em ratos, demonstraram que essas células parasitadas produzem peptídeos pró-inflamatórios, como citocinas e quimiocinas, e redução de peptídeos anti-inflamatórios como adiponectina e *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ* (PPAR γ) (6-8). O tecido adiposo de um paciente chagásico e o tecido adiposo de um paciente obeso se assemelham em relação à inflamação crônica e ao aumento do estresse oxidativo em ambas as situações(9-11).

Há poucos estudos que descrevem as alterações pancreáticas nos pacientes chagásicos. Saldanha e colaboradores descreveram que há diferentes graus de fibrose pancreática, definida como "cirrose pancreática", sendo esse achado corroborado por outros autores(12, 13). Posteriormente, outros estudos demonstraram, em ratos e humanos, que o pâncreas daqueles infectados possuía alterações morfológicas e fisiológicas que poderiam levar a hipoinsulinemia(14).

Em estudo com roedores, foram demonstrados maiores níveis glicêmicos em jejum e após teste com glicose anidra naqueles infectados pelo *T. cruzi*(15). Em humanos, há estudo retrospectivo que demonstrou maior proporção de diabéticos entre os chagásicos com a forma cardíaca (15,1%) quando comparado ao grupo controle (7,4%), ao grupo com a forma digestiva (megaesôfago e megacólon) (7,4%) e ao grupo com a forma indeterminada (5,6%)(16).

Devido à possibilidade desses pacientes produzirem menor quantidade de insulina e ao ambiente inflamatório, que contribuiria para o aumento da resistência insulínica (RI), a hipótese que a doença de Chagas esteja relacionada com o diabetes *mellitus* (DM) é plausível. O objetivo deste estudo é avaliar a associação entre RI, DM e função pancreática com a doença de Chagas e cardiopatia chagásica em pacientes da linha de base do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil), grande coorte brasileira em curso.

3. Material e métodos

Delineamento do Estudo e Seleção dos Participantes

O estudo ELSA-Brasil é uma coorte constituído por homens e mulheres, de 35 a 74 anos, voluntários, constituído por funcionários públicos, ativos ou aposentados. É conduzido em seis cidades no Brasil e objetiva investigar aspectos epidemiológicos, clínicos e moleculares de doenças crônicas não transmissíveis, principalmente doenças cardiovasculares e DM(17). Trata-se de um estudo transversal que utilizou dados da linha de base da coorte, com 15.105 participantes, cujos dados foram coletados entre agosto de 2008 e dezembro de 2010. A qualidade e controle da coleta e armazenamento dos dados são garantidos por treinamentos, certificações e renovação das certificações daqueles responsáveis pelas entrevistas, exames clínicos e testes laboratoriais(18, 19).

- *Diagnóstico de DM, RI e disfunção de célula beta*

O diagnóstico de diabetes foi realizado pelos seguintes critérios: glicemia em jejum \geq 126mg/dL ou glicemia 2h pós sobrecarga de 75g de glicose anidra \geq 200 mg/dL ou

hemoglobina glicada A1c $\geq 6,5\%$ ou pelo uso de medicações para o tratamento do diabetes ou diagnóstico autorreferido de diabetes(20). O diagnóstico de glicemia em jejum alterada foi pela glicemia em jejum $\geq 100\text{mg/dL}$ com glicemia 2h pós sobrecarga de 75g de glicose anidra $< 140\text{mg/dL}$ e hemoglobina glicada A1c $<5,7\%$. O diagnóstico de tolerância à glicose alterado foi pela glicemia 2h pós sobrecarga de 75g de glicose anidra $\geq 140\text{mg/dL}$ e $<200\text{mg/dL}$ e/ou hemoglobina glicada A1c $\geq 5,7\%$ e $<6,5\%$ (20).

A RI foi avaliada pelo *Homeostasis model assesement- insulin resistance* (HOMA-IR) calculado pela fórmula [(glicemia em jejum (mg/dL) x 0.0555 X insulina plasmática em jejum(mUI/L)]/ 22.5. A função pancreática foi avaliada pelo *Homeostasis model assesement - beta* (HOMA-B) calculado pela fórmula [20 x insulina em jejum(mUI/L)]/ [Glicemia em jejum(mg/dL) x 0,0555] - 3,5(21). A RI foi considerada aumentada naqueles participantes cujo valor do HOMA-IR estava acima do percentil 90%. Esse ponto de corte foi selecionado levando-se em consideração o estudo BRAMS(22). A função pancreática foi considerada normal naqueles indivíduos cujo percentil do HOMA-B estava acima de 90%.

As amostras de sangue foram coletadas após jejum de 12 horas. A Glicemia de jejum foi determinada pelo método enzimático colorimétrico, nos equipamentos ADVIA 1200 Siemens[®] (Deerfiel, IL). Para a determinação da hemoglobina glicada (HbA1c), o método utilizado foi a cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) e a análise realizada nos equipamentos Bio-Rad[®]. A dosagem de insulina foi realizada pelo ensaio imunoenzimático (Centaur Siemmens[®], Deerfield, IL)(18, 19).

- ***Diagnóstico de doença de Chagas e cardiopatia chagásica***

O diagnóstico de doença de Chagas foi pela sorologia positiva pelo ELISA (CHAGATEST), realizado em microplaca sólida, incubadora e leitor(18, 19). Cardiopatia chagásica foi definida pela presença de alterações eletrocardiográficas maiores, entre os indivíduos chagásicos, como: bloqueio completo do ramo direito (BCRD) – com ou sem a presença de hemibloqueio anterior esquerdo; extrassístoles ventriculares; extrassístoles combinadas; bradicardia com frequência cardíaca menor que 40 batimentos por minuto (bpm); áreas eletricamente inativas- presença de onda q maiores ou presença de ondas q menores com alterações do segmento ST-T-; bloqueio completo do ramo esquerdo (BRCE); bloqueio intraventricular inespecífico; presença de marcapasso artificial; fibrilação atrial ou flutter atrial, bloqueio átrio-ventricular total, bloqueio átrio-ventricular de segundo grau(23).

- ***Outras variáveis***

Características sócio demográficas como idade, sexo, escolaridade foram auto referidos nas entrevistas realizadas. Os participantes eram questionados sobre passado e presente de tabagismo e a quantidade de cigarros fumado (se acima ou abaixo de 100 cigarros ao longo da vida) e classificados como tabagista antigo, tabagista atual e nunca fumou. Aqueles que realizavam pelo menos 150 minutos de atividade física moderada por semana, eram classificados como ativos, seguindo os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS)(24).

Os parâmetros antropométricos, como peso (quilograma-kg), altura (metro-m), índice de massa corporal (IMC- kg/m^2) e circunferências da cintura (centímetro-cm), foram mensurados

utilizando equipamentos e técnicas padronizadas,. A circunferência da cintura (cm) foi realizada com fita inelástica, a partir do ponto médio entre a margem superior da crista ilíaca e a última costela, na linha axilar média, com o participante na postura ereta e relaxada. O cálculo do IMC foi realizado dividindo o peso (kg) pela altura (m) ao quadrado. A medida da pressão arterial foi realizada pelo aparelho oscilométrico (Omron HEM 705CPINT) por 3 vezes, com 1 minuto de intervalo entre elas, com o participante na posição sentada após 5 minutos de repouso, sendo utilizadas a média da segunda e terceira medida. A hipertensão arterial sistêmica (HAS) foi definida pelo uso de medicamentos anti-hipertensivos ou pela média de duas medidas da pressão arterial $\geq 140/90$ mmHg no momento da avaliação(17, 18).

As amostras de sangue foram coletadas após jejum de 12 horas. Triglicérides, colesterol total e HDL foram determinados pelo método enzimático colorimétrico, nos equipamentos ADVIA 1200 Siemens[®] (Deerfiel, IL). LDL foi aferido pela equação de Friedewald quando os níveis de triglicérides estavam menores ou igual a 400mg/dL. Caso contrário, foi medido pelo método colorimétrico enzimático homogêneo, sem precipitação (ADVIA 1200 Siemens[®])(18, 19).

Considerações éticas

Os Comitês de Ética em Pesquisa de todos os seis centros participantes e a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (COEP/UFMG, Etic 186/06) aprovaram o estudo ELSA-Brasil. Na primeira fase de recrutamento, os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes da coleta de dados clínico-laboratoriais. Além disso,

o ELISA segue rigorosamente as regras internacionais de sigilo no armazenamento e análise dos dados do banco de dados.

Análise Estatística

Variáveis contínuas foram descritas pela média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil, dependendo da normalidade da distribuição dos dados, segundo análise do histograma. As variáveis qualitativas foram descritas pelas proporções.

As características da população foram descritas de acordo com a sorologia negativa para doença de Chagas pelo ELISA e pela sorologia positiva para doença de Chagas. Tanto para a análise das características da população pela sorologia negativa/positiva para doença de Chagas quanto para a análise univariada das variáveis respostas, foram realizados os Teste T ou Mann Whitney para comparação de médias e medianas, respectivamente, e para verificar a associação entre duas variáveis categóricas foi utilizado o teste qui-quadrado.

Foram construídos modelos de regressão logística para investigar a associação entre (1) RI avaliada pelo HOMA-IR (sim, não), (2) função pancreática normal avaliada pelo HOMA-B (sim,não) e (3) DM (sim, não) com a sorologia para doença de Chagas (negativa/positiva) e cardiopatia chagásica (sorologia positiva para doença de Chagas com cardiopatia) ajustando para outras covariáveis como: idade; sexo (masculino ou feminino); escolaridade (fundamental incompleto, fundamental completo, nível médio ou superior); presença de

hipertensão arterial (HAS) (sim, não), circunferência da cintura, níveis de colesterol HDL, níveis de triglicérides.

Variáveis que mostraram associação com as variáveis resposta com $p < 0,20$ na análise univariada foram selecionadas para o modelo multivariado. Ademais, as variáveis clinicamente relevantes para o estudo também entraram no modelo, independente dos resultados da análise univariada. A força das associações entre as variáveis, na regressão logística, foi aferida pela razão de chances (Odds-ratio; OR) e intervalos de confiança (IC 95%). Os valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente relevantes. Para a análise de dados foi utilizado o pacote estatístico Stata®12.0.

Dos 15.105 participantes da linha de base, 14.922 (98,8%) foram incluídos nessa análise. Os critérios de exclusão foram sorologias inconclusivas para doença de Chagas (n=12), cirurgia bariátrica (n=107) e dados faltantes sobre doença de Chagas (n=22), glicemia de jejum (n=5), insulina (n=14) ou cirurgia bariátrica (n=23). Os dados referentes às características da população estudada estão presentes na tabela 1.

4. Resultado

A prevalência da infecção por *T. cruzi* foi de 1,90% (n=283). DM estava presente em 2.939 (19,7%) participantes e glicemia de jejum alterada e/ou intolerância à glicose, em 8.409 (56,4%). Entre os indivíduos com sorologia positiva para doença de Chagas, a prevalência de DM foi de 23,3% (n=66) enquanto a prevalência naqueles com sorologia negativa para doença de Chagas foi de 19,6% (n=2873; $p=0,24$) (tabela 1).

Os indivíduos com sorologia positiva para doença de Chagas apresentavam níveis significativamente mais elevados da glicemia de jejum (108 mg/dL versus 105 mg/dL, $p < 0,01$) e da glicemia 2 horas após 75g de dextrosol (127 mg/dL versus 124 mg/dL, $p = 0,03$) quando comparados ao grupo com sorologia negativa. Entretanto, como aqueles com sorologia positiva para doença de Chagas tinham uma média de idade maior que os com sorologia negativa ($p < 0,001$), ao realizar o ajuste pela idade, não houve significância estatística nos maiores níveis glicêmicos entre os grupos (tabela 1).

Os participantes com sorologia positiva para doença de Chagas apresentaram menores níveis de HOMA-B quando comparados aos indivíduos com sorologia negativa (48,7; 53,3 respectivamente; $p = 0,02$) (tabela 2). Entretanto, quando ajustado pelas outras covariáveis esse achado perdeu a significância estatística. O grupo em que houve maior proporção do HOMA-B acima do percentil 90% foi no grupo daqueles com sorologia negativa ($p = 0,02$), embora sem relevância estatística após ajustes (tabela 2). Quando analisamos as características da população quanto à sorologia negativa/positiva da doença de Chagas, não foi encontrada alteração significativa nos valores do HOMA-IR entre os grupos e nem diferença entre a proporção de indivíduos com aumento da RI, definido como HOMA-IR acima de 90% (tabela 2).

A sorologia positiva para doença de Chagas não foi associada com DM nessa população estudada (tabela 3). Quando analisada a forma cardíaca entre aqueles com sorologia positiva, houve associação positiva desta forma com DM (OR 2,18; IC 95% 1.21-3.92), mas a

associação não se manteve após ajustes por sexo e idade e, posteriormente, pelas demais variáveis (tabela 3).

RI e função pancreática normal apresentaram associação inversa com a sorologia positiva para doença de Chagas que não se manteve após ajuste pelas covariáveis (OR 0,67; IC 95% 0,41-1,09 e OR 0,78; IC 95% 0,57-1,07, respectivamente; tabela 3). Não houve associação da sorologia positiva para doença de Chagas e presença de cardiopatia com RI e função pancreática normal (tabela 3).

Tabela 1 - Características da população de acordo com a sorologia negativa e positiva para doença de Chagas, na linha de base do estudo ELSA-Brasil, agosto de 2008 - dezembro de 2010

Características	Participantes		Valor p
	Sorologia negativa para Doença de Chagas† (n=14639)	Sorologia positiva para Doença de Chagas† (n=283)	
Idade*	52,0 (9,1)	57,5 (9,0)	p<0,01
Sexo feminino, n (%)	7901 (54,0)	175 (61,8)	p<0,01
Educação, n (%)			p<0,01
Fundamental incompleto	845 (5,8)	36 (12,7)	
Fundamental completo	991 (6,8)	27 (9,5)	
Médio completo	5051 (34,5)	107 (37,8)	
Superior completo	7752 (53,0)	113 (39,9)	
Tabagismo, n(%)			p=0,72
Nunca fumou	8338 (57,0)	160 (56,7)	
Tabagista antigo	4384 (30,0)	89 (31,6)	
Tabagista atual	1917 (13,1)	33 (11,7)	
Atividade física, n (%)			p=0,97
≥150 min/sem	6965 (47,6)	135 (47,7)	
<150 min/sem	7674 (52,4)	148 (52,3)	
Circunferência da cintura (cm)*			
Sexo Masculino	95,3 (11,7)	93,3 (10,9)	p=0,06
Sexo Feminino	87,7 (12,6)	88,2 (12,4)	p=0,55
IMC (kg/m ²) *	27,0 (4,7)	26,9 (4,7)	p=0,79
Colesterol (mg/dL) **	212,0 (186,0-240,0)	215,0 (188-238)	p=0,51
HDL (mg/dL) **			p=0,04
Sexo Masculino	49,0 (43,0-56,0)	50,5 (45,5-56,5)	
Sexo Feminino	60,0 (51,0-70,0)	59,0 (51,0-72,0)	
LDL(mg/dL) **	129,0 (108,0-152,0)	125,0 (107,0-151,0)	p=0,57
Triglicérides(mg/dL) **	115,0 (82,0-166,0)	120,0 (81,0-166,0)	0=0,61
Glicose (mg/dL) **	105 ,0 (98,0-114,0)	108,0 (100,0-120,0)	p<0,01
Glicose 2 horas após 75g dextrosol (mg/dL) **	124,0 (105,0-149,0)	127,0 (110,0-154,0)	p=0,03
HbA1c (%) **	5,3 (4,9-5,8)	5,3 (5,0-5,9)	p=0,24
Disglicemia			
Glicemia de jejum alterada e/ou intolerância a glicose	8244 (56,3)	165 (58,3)	
Diabetes <i>mellitus</i>	2873 (19,6)	66 (23,3)	p=0,05
HAS, n(%)	5207 (35,6)	134 (47,3)	p<0,01

* média (DP) ** mediana (Intervalo interquartil P25- P75) †sorologia pelo ELISA

min/sem- minutos por semana; IMC- Índice de Massa Corporal; HDL- colesterol HDL; LDL- colesterol LDL; TOTG- Glicose 2 horas após 75g dextrosol; HbA1C- Hemoglobina glicada ; HAS- Hipertensão Arterial Sistêmica

Tabela 2- Características da população de acordo com com a sorologia negativa e positiva para doença de Chagas, na linha de base do estudo ELSA-Brasil, agosto de 2008 - dezembro de 2010, pela função pancreática e resistência insulínica

Desfecho estudado	Participantes		Valor p
	Sorologia negativa para Doença de Chagas† (n=14639)	Sorologia positiva para Doença de Chagas† (n=283)	
HOMA-B*	53,3 (29,4-86,9)	48,7 (26-9-78,0)	0,02
Função pancreática normal, n (%)†,	3682 (25,2)	54 (19,08)	0,02
HOMA-IR *	1,7 (0,9-3,0)	1,7 (1,0-2,8)	0,92
Resistência insulínica, n (%)††,	1472 (10,1)	21 (7,4)	0,14

* mediana (Intervalo interquartil P25- P75); † HOMA-B percentil >90%; ††HOMA-IR percentil >90%

HOMA-B - *Homeostasis model assesement – beta*; HOMA-IR- *Homeostasis model assesement- insulin resistance*

Tabela 3- Regressão Logística- Associação sorologia positiva para doença de Chagas (sem cardiopatia e com cardiopatia) com Diabetes mellitus, função das células beta (HOMA-B) e resistência insulínica (HOMA-IR), na linha de base do estudo ELSA-Brasil, agosto de 2008 - dezembro de 2010

	Sorologia positiva para Doença de Chagas sem cardiopatia			Sorologia positiva para Doença de Chagas com cardiopatia		
	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3
Diabetes	OR 1,25 (IC 95% 0,94-1,65)	OR 0,91 (IC 95% 0,68-1,22)	OR 0,89 (IC 95% 0,65-1,20)	OR 2,18 (IC 95% 1,21-3,92)	OR 1,29 (IC 95% 0,70-2,36)	OR 1,22 (IC 95% 0,65-2,30)
Função pancreática normal†	OR 0,70 (IC 95% 0,52-0,95)	OR 0,74 (IC 95% 0,55-0,99)	OR 0,78 (IC 95% 0,57-1,07)	OR 0,86 (IC 95% 0,44-1,69)	OR 0,92 (IC 95% 0,47-1,80)	OR 1,03 (IC 95% 0,51-2,09)
Resistência insulínica††	OR 0,72 (IC 95% 0,46-1,12)	OR 0,62 (IC 95% 0,40-0,98)	OR 0,67 (IC 95% 0,41-1,09)	OR 0,58 (IC 95% 0,18-1,88)	OR 0,42 (IC 95% 0,13-1,35)	OR 0,43 (IC 95% 0,12-1,49)

Modelo 1- sem ajustes; Modelo 2- ajuste por idade e sexo; Modelo 3- ajuste por idade, sexo, atividade física, circunferência de cintura, triglicérides, colesterol HDL, presença de hipertensão arterial, tabagismo, escolaridade (exceto na análise do HOMA-B)

5. Discussão

Apesar da prevalência dos níveis glicêmicos serem maiores entre aqueles participantes com sorologia positiva para doença de Chagas, na população estudada não houve associação independente entre DM e sorologia positiva para doença de Chagas (sem e com cardiopatia), na linha de base do estudo ELSA. Da mesma maneira, os valores do HOMA-B foram menores entre aqueles com sorologia positiva para doença de Chagas, mas sem associação independente. Também não houve associação entre RI, avaliada pelo HOMA-IR, e sorologia positiva, nem mesmo entre os com cardiopatia.

O parasitismo do *T. cruzi* no tecido adiposo gera aumento do estresse oxidativo e da secreção de peptídeos pró-inflamatórios por esse tecido, como citocinas (fator de necrose tumoral α (TNF α), interleucina-1 (IL-1 β), interferon γ (IFN γ)) e quimiocinas(11). Além disso, estudos demonstraram redução dos peptídeos anti-inflamatórios como adiponectina e PPAR γ , na fase aguda (10, 25, 26) e na fase crônica(8). Entretanto, em estudo realizado por Barbosa-Ferreira e colaboradores, os indivíduos com cardiopatia chagásica, com e sem alteração da função ventricular esquerda, apresentaram níveis maiores de adiponectina, cuja etiologia é incerta e a hipótese aventada seria a disfunção autonômica(27). Esse ambiente inflamatório propiciaria aumento da RI, assim como ocorre na obesidade. No presente estudo, o aumento da RI foi definido pelo HOMA-IR acima do percentil 90%, ponto de corte bastante específico. Apesar da fisiopatologia sugerir que entre os indivíduos com doença de Chagas poderia haver aumento da RI, não foi encontrada diferença relevante na análise multivariada, em relação àqueles com sorologia negativa para doença de Chagas. Esse achado é corroborado pelo artigo de Cabalén e colaboradores, em que na fase crônica não houve diferença da RI, avaliada pelo HOMA-IR, entre os ratos com e sem infecção pelo *T. cruzi*(8).

Estudos com chagásicos portadores das formas indeterminada e determinada (cardíaca e digestiva) demonstraram menor resposta insulínica à sobrecarga glicêmica comparados com os não chagásicos(14, 28). Essa diferença persistiu mesmo quando a sobrecarga foi realizada com glicose endovenosa(28). O pâncreas, assim como o tecido adiposo, é um importante alvo do *T. cruzi*. Nagayochi e colaboradores demonstraram que em ratos infectados, o parasitismo desse órgão acontece precocemente, acompanhado de intensa inflamação próximo aos vasos sanguíneos e ductos, associado com destruição acinar do pâncreas(29). Nesse mesmo estudo, na fase aguda, foi detectada a presença da forma amastigota nas células beta pancreáticas, alteração da arquitetura da ilhota, assim como menor secreção de insulina quando realizados estudos fisiológicos(29). A hipoinsulinemia já havia sido descrita por outros autores e as causas podem ser multifatoriais como: consequência do parasitismo do pâncreas, da inflamação, fibrose e atrofia do parênquima subsequente; insulinite(13); ganglionite intrapancreática (12, 14); anormalidades na inervação pancreática, principalmente a parassimpática(13, 30); alteração do eixo enteroinsular, relacionada com a disfunção autonômica(29). No presente estudo, a melhor função das células beta foi definida pelo percentil do HOMA-B acima de 90%. Ao contrário do sugerido na literatura, na linha de base do ELSA-Brasil, não houve diferença na função endócrina pancreática entre os participantes com sorologia positiva e negativa para doença de Chagas.

Novaes e colaboradores realizaram estudo randomizado em ratos infectados (n=10) e não infectados (n=10) e detectaram que os ratos parasitados com o *T. cruzi* apresentavam níveis maiores de glicemia em jejum e após o teste com glicose anidra(15). Santos e colaboradores, em um estudo com 647 mulheres com média de idade semelhante, detectaram maior frequência de DM e hiperglicemias em pacientes com cardiopatia chagásica (n= 178) quando comparadas as mulheres sem doença de Chagas (n=285) e àquelas com as outras formas da doença (n=184) (16). Todavia, Barbosa-Ferreira e colaboradores, realizaram um estudo com

participantes chagásicos com a forma cardíaca (n=30) e com a forma indeterminada (n=15) em que não houve diferença nos níveis glicêmicos quando comparados com os indivíduos do grupo controle (n=15)(27). Há outros estudos em humanos, mas com amostra muito pequena, como estudo realizado por Guariento e colaboradores, em que não houve diferença nos níveis glicêmicos de jejum e após teste de tolerância oral a glicose (100g) entre os 16 indivíduos chagásicos e os 28 indivíduos do grupo controle(14).

Apesar das alterações fisiopatológicas do tecido adiposo e pancreático parasitados pelo *T. cruzi* sugerirem que a doença de Chagas seja um fator de risco para DM e as doenças infecciosas estarem, cada vez mais, sendo associadas a fisiopatologia do diabetes(31), os dados do presente estudo não corroboraram essa hipótese mesmo quando os participantes com sorologia positiva para doença de Chagas foram categorizados pela forma cardíaca. O diabetes é uma doença complexa e multifatorial, o que pode justificar os achados negativos. A população da linha de base do estudo ELSA foi constituída por participantes de alto risco para desenvolvimento de resistência à insulina e DM, sendo a maioria deles sedentários (52,42%), com elevado IMC (26,4) e com a média da circunferência abdominal (95,3 cm e 87,7 cm, homens e mulheres respectivamente) acima do recomendado pela OMS, exceto para os homens com cardiopatia chagásica. O Brasil possui uma das taxas mais altas de diabetes do mundo, sendo que, em 2013, eram estimados cerca de 11,9 milhões de brasileiros com DM(32). Assim como a população da linha de base do estudo ELSA, a população brasileira tem hábitos de vida e condições de saúde fortemente associados ao diabetes: a maioria dos brasileiros são sedentários, os hábitos alimentares são inadequados e a frequência de excesso de peso foi de 53,8% pelos dados do estudo Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) de 2016(33). Diante desse panorama, o estilo de vida da população e a frequência alta de sobrepeso/obesidade entre os brasileiros justificam a crescente prevalência do diabetes, enquanto a doença de Chagas e a cardiopatia

chagásica parecem não se configurar como fator de risco relevante para o desenvolvimento do DM.

Grande número de participantes, elevado rigor na coleta de dados (questionários, antropometria e exames complementares) são pontos fortes do presente estudo. Algumas limitações incluem o diagnóstico da doença de Chagas ter se baseado em único exame sorológico e a impossibilidade da classificação pelas formas digestivas da doença de Chagas. Outra limitação é a natureza transversal do estudo, que não permite inferir se as formas crônicas da doença de Chagas se configuram como fator preditor independente para DM aumento da RI e disfunção da célula beta. O seguimento longitudinal dos participantes para comparação das taxas do desenvolvimento de diabetes e dos níveis glicêmicos entre os chagásicos e não chagásicos seria de grande valor.

6. Conclusão

Apesar de achados de estudos prévios de alterações proinflamatórias no tecido adiposo e no pâncreas de indivíduos infectados pelo *T.cruzi*, os resultados do presente estudo evidenciaram que, na população estudada do estudo ELSA que apresentava elevado risco para DM, a sorologia positiva para doença de Chagas (sem e com cardiopatia) não trouxe associação significativa entre DM, RI e alteração da função endócrina pancreática. Trata-se de achado relevante, uma vez que a doença de Chagas é muito prevalente no Brasil e América Latina, locais onde a prevalência de diabetes está em ascensão.

7. Referências Bibliográficas

1. Organization WH. Chagas disease (American trypanosomiasis). 2016.
2. Martins-Melo FR, Ramos AN, Jr., Alencar CH, Heukelbach J. Prevalence of Chagas disease in Brazil: a systematic review and meta-analysis. *Acta Trop*. 2014;130:167-74.
3. Bern C, Montgomery SP. An estimate of the burden of Chagas disease in the United States. *Clin Infect Dis*. 2009;49(5):e52-4.
4. Andrade ZA, Silva HR. Parasitism of adipocytes by *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1995;90(4):521-2.

5. Buckner FS, Wilson AJ, Van Voorhis WC. Detection of live *Trypanosoma cruzi* in tissues of infected mice by using histochemical stain for beta-galactosidase. *Infect Immun*. 1999;67(1):403-9.
6. Burke S, Nagajyothi F, Thi MM, Hanani M, Scherer PE, Tanowitz HB, et al. Adipocytes in both brown and white adipose tissue of adult mice are functionally connected via gap junctions: implications for Chagas disease. *Microbes Infect*. 2014;16(11):893-901.
7. Combs TP, Nagajyothi, Mukherjee S, de Almeida CJ, Jelicks LA, Schubert W, et al. The adipocyte as an important target cell for *Trypanosoma cruzi* infection. *J Biol Chem*. 2005;280(25):24085-94.
8. Cabalen ME, Cabral MF, Sanmarco LM, Andrada MC, Onofrio LI, Ponce NE, et al. Chronic *Trypanosoma cruzi* infection potentiates adipose tissue macrophage polarization toward an anti-inflammatory M2 phenotype and contributes to diabetes progression in a diet-induced obesity model. *Oncotarget*. 2016;7(12):13400-15.
9. Wen JJ, Nagajyothi F, Machado FS, Weiss LM, Scherer PE, Tanowitz HB, et al. Markers of oxidative stress in adipose tissue during *Trypanosoma cruzi* infection. *Parasitol Res*. 2014;113(9):3159-65.
10. 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.
11. Nagajyothi F, Desruisseaux MS, Machado FS, Upadhyaya R, Zhao D, Schwartz GJ, et al. Response of adipose tissue to early infection with *Trypanosoma cruzi* (Brazil strain). *J Infect Dis*. 2012;205(5):830-40.
12. Saldanha JC, dos Santos VM, dos Reis MA, da Cunha DF, Antunes Teixeira VP. Morphologic and morphometric evaluation of pancreatic islets in chronic Chagas' disease. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo*. 2001;56(5):131-8.
13. dos Santos VM, de Lima MA, Cabrine-Santos M, de Stefani Marquez D, de Araujo Pereira G, Lages-Silva E, et al. Functional and histopathological study of the pancreas in hamsters (*Mesocricetus auratus*) infected and reinfected with *Trypanosoma cruzi*. *Parasitol Res*. 2004;94(2):125-33.
14. Guariento ME, Saad MJ, Muscelli EO, Gontijo JA. Heterogenous insulin response to an oral glucose load by patients with the indeterminate clinical form of Chagas' disease. *Braz J Med Biol Res*. 1993;26(5):491-5.
15. Novaes RD, Goncalves RV, Penitente AR, Talvani A, Neves CA, Natali AJ, et al. *Trypanosoma cruzi* infection alters glucose metabolism at rest and during exercise without modifying the morphology of pancreatic islets in rats. *Pathol Res Pract*. 2012;208(8):480-8.
16. dos Santos VM, da Cunha SFdC, Teixeira VdPA, Monteiro JP, dos Santos JAM, dos Santos TAM, et al. Frequência de diabetes mellitus e hiperglicemia em mulheres chagásicas e não chagásicas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 1999;32(5):489-96.
17. Schmidt MI, Duncan BB, Mill JG, Lotufo PA, Chor D, Barreto SM, et al. Cohort Profile: Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Int J Epidemiol*. 2015;44(1):68-75.
18. Aquino EM, Barreto SM, Bensenor IM, Carvalho MS, Chor D, Duncan BB, et al. Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): objectives and design. *Am J Epidemiol*. 2012;175(4):315-24.
19. Diniz Mde F, Beleigoli AM, Ribeiro AL, Vidigal PG, Bensenor IM, Lotufo PA, et al. Factors associated with metabolically healthy status in obesity, overweight, and normal weight at baseline of ELSA-Brasil. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(27):e4010.
20. Fedeli LG, Vidigal PG, Leite CM, Castilhos CD, Pimentel RA, Maniero VC, et al. [Logistics of collection and transportation of biological samples and the organization of the central laboratory in the ELSA-Brasil]. *Rev Saude Publica*. 2013;47 Suppl 2:63-71.

21. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9.
22. Geloneze B, Vasques AC, Stabe CF, Pareja JC, Rosado LE, Queiroz EC, et al. HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome: Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2009;53(2):281-7.
23. [Brazilian Consensus on Chagas disease]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38 Suppl 3:7-29.
24. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee. *Global Recommendations on Physical Activity for Health*. Geneva: World Health Organization Copyright (c) World Health Organization 2010.; 2010.
25. Nagajyothi F, Desruisseaux MS, Thiruvur N, Weiss LM, Braunstein VL, Albanese C, et al. Trypanosoma cruzi infection of cultured adipocytes results in an inflammatory phenotype. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(9):1992-7.
26. Nagajyothi F, Desruisseaux MS, Jelicks LA, Machado FS, Chua S, Scherer PE, et al. Perspectives on adipose tissue, chagas disease and implications for the metabolic syndrome. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2009;2009:824324.
27. Barbosa-Ferreira JM, Mady C, Ianni BM, Lopes HF, Ramires FJ, Salemi VM, et al. Dysregulation of Autonomic Nervous System in Chagas' Heart Disease Is Associated with Altered Adipocytokines Levels. *PLoS One*. 2015;10(7):e0131447.
28. Oliveira LC, Juliano Y, Novo NF, Neves MM. Blood glucose and insulin response to intravenous glucose by patients with chronic Chagas' disease and alcoholism. *Braz J Med Biol Res*. 1993;26(11):1187-90.
29. Nagajyothi F, Kuliawat R, Kusminski CM, Machado FS, Desruisseaux MS, Zhao D, et al. Alterations in glucose homeostasis in a murine model of Chagas disease. *Am J Pathol*. 2013;182(3):886-94.
30. Rocha A, de Oliveira LC, Alves RS, Lopes ER. [Pancreatic neuronal loss in chronic Chagas' disease patients]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1998;31(1):43-9.
31. Dufurrena Q, Amjad FM, Scherer PE, Weiss LM, Nagajyothi J, Roth J, et al. Alterations in pancreatic beta cell function and Trypanosoma cruzi infection: evidence from human and animal studies. *Parasitol Res*. 2016.
32. IDF Diabetes Atlas [Internet]. 2013.
33. Saúde M. VIGITEL (Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico) Brasil http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/junho/07/vigitel_2016_jun17.pdf

Anexo A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



ESTUDO LONGITUDINAL DE SAÚDE DO ADULTO – Elsa Brasil

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Apresentação do estudo:

O Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – Elsa Brasil – é uma pesquisa sobre doenças crônicas que acometem a população adulta, principalmente as doenças cardiovasculares e o diabetes. É um estudo pioneiro no Brasil por ser realizado em várias cidades e por acompanhar as pessoas estudadas por um longo período de tempo. Graças a pesquisas semelhantes desenvolvidas em outros países, hoje se sabe, por exemplo, da importância de cuidados à pressão arterial e à dieta para a prevenção dessas doenças.

Objetivos do estudo:

O Elsa Brasil investigará fatores que podem levar ao desenvolvimento dessas doenças, ou ao seu agravamento, visando sugerir medidas mais eficazes de prevenção ou tratamento. Os fatores investigados incluem aspectos relacionados aos hábitos de vida, família, trabalho, lazer e saúde em geral, inclusive fatores genéticos.

Instituições envolvidas no estudo:

O Elsa Brasil envolverá 15.000 funcionários de instituições públicas de ensino e pesquisa localizadas em seis estados brasileiros (BA, ES, MG, RJ, RS e SP)¹. É coordenado por representantes de cada Centro de Investigação, do Ministério da Saúde e do Ministério da Ciência e Tecnologia, tendo sido aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa dos seis centros. Em Salvador, o estudo está sob a responsabilidade da Universidade Federal da Bahia, sob a coordenação do Instituto de Saúde Coletiva.

Participação no estudo:

O/A Sr./a é convidado/a a participar do Elsa Brasil, que envolve o acompanhamento dos participantes por pelo menos sete anos, com a realização de entrevistas, de exames e medidas que ocorrerão em várias etapas.

Inicialmente, o/a Sr./a fará a primeira parte da entrevista preferencialmente em sua unidade de trabalho e será agendado/a para comparecer ao Centro de Investigação Elsa (CI-BA), situado na Av. Araújo Pinho nº 513, Canela, em três momentos: o primeiro com duração de cerca de quatro horas pela manhã, e os outros dois à tarde, com duração prevista em uma hora cada. No CI-BA, o/a Sr/a. fará a segunda parte da entrevista, realizará algumas medidas (peso, altura, circunferência de cintura, quadril e pescoço e pressão arterial), exame de urina de 12 horas noturnas, ultrassom do abdome e carótidas, ecocardiograma, eletrocardiograma, fotografia do fundo de olho e exames especializados de fisiologia cardiovascular (Variabilidade da Frequência Cardíaca e Velocidade da Onda do Pulso). Realizará também exames de sangue², para os quais, serão feitas duas coletas: a primeira quando chegar, em

jejum de 12 horas, e a segunda, após duas horas da ingestão de uma bebida doce padrão (exceto os diabéticos que receberão um lanche específico em substituição). O total de sangue coletado será aproximadamente de 65 ml, e não traz inconveniências para adultos. Apenas um leve desconforto pode ocorrer associado à picada da agulha. Algumas vezes pode haver sensação momentânea de tontura ou pequena reação local, mas esses efeitos são passageiros e não oferecem riscos. A maioria desses exames já faz parte da rotina médica e nenhum deles emite radiação.

Caso necessário, será solicitada sua liberação para participar da pesquisa em horário de trabalho.

A coleta de sangue segue rotinas padronizadas e será realizada, assim como os demais procedimentos, por pessoal capacitado e treinado para este fim, supervisionados por profissional qualificado que poderá orientá-lo no caso de dúvida, ou alguma outra eventualidade.

Após esta primeira etapa do estudo, o/a Sr/a. será periodicamente contatado/a por telefone, correspondência ou e-mail para acompanhar as modificações no seu estado de saúde e para obtenção de informações adicionais. Estão previstas novas visitas ao CI-BA a cada três anos. Por isso, é muito importante informar seu novo endereço e telefone em caso de mudança.

Para poder monitorar melhor sua situação de saúde, é essencial obter detalhes clínicos em registros de saúde. Assim, necessitamos obter informações da UFBA e de outras instituições do sistema de saúde, a respeito da ocorrência de hospitalizações, licenças médicas, eventos de saúde, aposentadoria, ou afastamento de qualquer natureza. Para isso é imprescindível que nos autorize por escrito o acesso às mesmas ao final deste documento. Infelizmente, sem essa

autorização, não será possível sua participação no estudo pois dela depende a confirmação de eventos clínicos.

Armazenamento de material biológico:

Serão armazenadas amostras de sangue, urina e ácido desoxirribonucleico (DNA) por um período de cinco anos, sem identificação nominal, de forma segura e em locais especialmente preparados para a conservação das mesmas. Assim como em outras pesquisas no país e no mundo, essas amostras são fundamentais para futuras análises que possam ampliar o conhecimento sobre as doenças em estudo, contribuindo para o avanço da ciência.

Análises adicionais, de caráter genético ou não, que não foram incluídas nos objetivos definidos no protocolo original da pesquisa, somente serão realizadas mediante a apresentação de projetos de pesquisa específicos, aprovados pelo Comitê Diretivo e pelos Comitês de Ética em Pesquisa de cada uma das instituições envolvidas, incluindo a assinatura de novos Termos de Consentimento Livre e Esclarecido.

Seus direitos como participante:

Sua participação é inteiramente voluntária, sendo fundamental que ocorra em todas as etapas do estudo. Entretanto, se quiser, poderá deixar de responder a qualquer pergunta durante a entrevista, recusar-se a fazer qualquer exame, solicitar a substituição do/a entrevistador/a, ou deixar de participar da pesquisa a qualquer momento.

Não será feito qualquer pagamento pela sua participação e todos os procedimentos realizados serão inteiramente gratuitos. Os participantes poderão ter acesso aos resultados das análises realizadas no estudo por meio de publicações científicas e do *website* oficial da pesquisa (www.elsa.org.br).

Os exames e medidas realizados no estudo não têm por objetivo fazer o diagnóstico médico de qualquer doença. Entretanto, como eles podem contribuir para o/a Sr/a. conhecer melhor sua saúde, os resultados destes exames e medidas lhe serão entregues e o/a Sr/a. será orientado a procurar as unidades da rede SUS ou outro serviço de saúde de sua preferência, quando eles indicarem alguma alteração em relação aos padrões considerados normais. Se durante a sua permanência no CI-BA forem identificados problemas que requeiram atenção de urgência/emergência, o/a Sr/a. será atendido/a no Hospital Universitário Professor Edgard Santos.

Todas as informações obtidas do/a Sr/a. serão confidenciais, identificadas por um número e sem menção ao seu nome. Elas serão utilizadas exclusivamente para fins de análise científica e serão guardadas com segurança - somente terão acesso a elas os pesquisadores envolvidos no projeto. Com a finalidade exclusiva de controle de qualidade, sua entrevista será gravada e poderá ser revista pela supervisão do projeto. A gravação será destruída posteriormente. Como nos demais aspectos do projeto, serão adotados procedimentos para garantir a confidencialidade das informações gravadas. Em nenhuma hipótese será permitido o acesso a informações individualizadas a qualquer pessoa, incluindo empregadores, superiores hierárquicos e seguradoras.

Uma cópia deste Termo de Consentimento lhe será entregue. Se houver perguntas ou necessidade de mais informações sobre o estudo, ou qualquer intercorrência, o/a Sr/a. pode procurar a Professora Estela Maria Leão de Aquino, Instituto de Saúde Coletiva, Rua Araújo Pinho, 513, Campus do Canela, telefone (71) 3283-7490 coordenadora do projeto no CI-BA.

O Comitê de Ética e Pesquisa do Instituto de Saúde Coletiva pode ser contatado pelo seguinte telefone: (71) 3283-7418.

Sua assinatura abaixo significa que o/a Sr/a. leu e compreendeu todas as informações e concorda em participar da pesquisa Elsa Brasil.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Nome do/a participante:

Documento de Identidade:

Data de nascimento:

Endereço:

Telefones para contato:

Declaro que compreendi as informações apresentadas neste documento e dei meu consentimento para participação no estudo.

Autorizo os pesquisadores do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – Elsa Brasil, a obter informações sobre a ocorrência de hospitalizações, licenças médicas, eventos de saúde, aposentadoria, ou afastamento de qualquer natureza em registros de saúde junto ao Serviço Médico Universitário Rubem Brasil Soares e a outras instituições de saúde públicas ou privadas, conforme indicar a situação específica.

No caso de hospitalização, autorizo, adicionalmente, que o/a representante do ELSA, devidamente credenciado/a, copie dados constantes na papeleta de internação, bem como

resultados de exames realizados durante minha internação.

As informações obtidas somente poderão ser utilizadas para fins estatísticos e deverão ser mantidas sob proteção, codificadas e sem minha identificação nominal.

Assinatura _____

Declaro concordar que amostras de sangue sejam armazenadas para análises futuras sobre as doenças crônicas em estudo.

Sim **Não**

Assinatura _____

Local _____ Data ____/____/____

Nome do/a entrevistador/a:

Código do/a entrevistador/a no CI-MG.....

Assinatura: _____

Anexo B- Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (COEP/UFMG)

Universidade Federal de Minas Gerais
Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - COEP

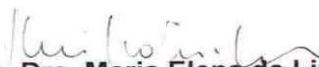
Parecer nº. ETIC 186/06

Interesse: Prof. (a) Sandhi Maria Barreto
Depto. De Medicina Preventiva e Social
Faculdade de Medicina -UFMG



DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP, aprovou no dia 28 de junho de 2006 o projeto de pesquisa intitulado “**ELSA - Estudo longitudinal da saúde do adulto.**” bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

pi 
Profa. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia
Presidente do COEP/UFMG

Anexo C- Folha de aprovação no Programa de Pós Graduação em Ciências Aplicadas a Saúde do Adulto

	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO</p>	
---	--	---

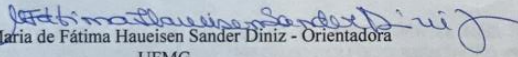
FOLHA DE APROVAÇÃO

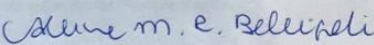
DOENÇA DE CHAGAS E ALTERAÇÃO DO METABOLISMO DA GLICOSE

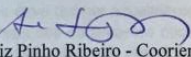
BRUNA ARAUJO MARTINS RESENDE

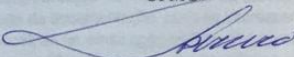
Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, área de concentração CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO.

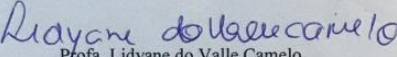
Aprovada em 28 de abril de 2017, pela banca constituída pelos membros:


Prof. Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz - Orientadora
UFMG


Prof. Alline Maria Rezende Beleigoli - Coorientadora
UFMG


Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro - Coorientador
UFMG


Prof. Maria do Carmo Pereira Nunes
UFMG


Prof. Lidyane do Valle Camelo
UFMG

Belo Horizonte, 28 de abril de 2017.