

MÁRCIO AUGUSTO CAMPOS RIBEIRO

**PLASTICIDADE MITOCONDRIAL NA DOENÇA DE CHAGAS**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.**

**São Paulo  
2022**



**MÁRCIO AUGUSTO CAMPOS RIBEIRO**

**PLASTICIDADE MITOCONDRIAL NA DOENÇA DE CHAGAS**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.**

**Área de concentração: Biologia Morfofuncional.**

**Orientador: Prof. Dr. Julio Cesar Batista Ferreira.**

**Versão Original**

**São Paulo  
2022**

## RESUMO

Ribeiro, MAC. Plasticidade mitocondrial na doença de Chagas. [Tese (Doutorado em Biologia de Sistemas)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2022.

A doença de Chagas, que afeta 8 milhões de pessoas no mundo, é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. A infecção parasitária causada pelo *T. cruzi* causa disfunção mitocondrial na célula hospedeira, tanto na fase aguda, quanto na fase crônica da doença. Após a infecção é possível observar aumento do tamanho e densidade mitocondrial na célula hospedeira. Essas alterações acompanham a elevação da carga parasitária e co-localização entre parasita e mitocôndria da célula hospedeira. Entretanto, a real contribuição da mitocôndria da célula hospedeira no processo de infecção, bem como na degeneração tecidual causada pela doença de Chagas, ainda não foi elucidada. Sabendo que a mitocôndria é uma organela dinâmica, capaz de alterar seu número, tamanho e densidade de acordo com a demanda metabólica tecidual, hipotetizamos que tanto a infecção pelo parasita quanto a degeneração tecidual oriunda da infecção dependem da reorganização morfológica e funcional da mitocôndria da célula hospedeira para atender uma demanda energética aumentada do parasita. Além disso, propomos que uma modulação desses processos seja capaz de controlar e/ou prevenir a infecção e/ou progressão da doença de Chagas. Dessa forma o objetivo da presente proposta é investigar o papel da plasticidade mitocondrial da célula hospedeira na infecção pelo *T. cruzi* e degeneração tecidual.

Nossos resultados mostram que de fato a rede mitocondrial da célula hospedeira (fibroblastos em cultura) sofre mudança frente infecção com *T. cruzi*. Observamos aparecimento de agregados mitocondriais próximos aos parasitas e aumento nos níveis de proteínas relacionadas à fusão mitocondrial. Utilizando fibroblastos nocautes para proteínas específicas envolvidas nos processos de fissão e fusão mitocondrial, observamos que a ausência da proteína Opa1 (envolvida na fusão da membrana interna mitocondrial e formação de supercomplexos) aumenta tanto o número de células infectadas quanto o número de parasitas por célula (carga parasitária). A ausência da proteína Opa1 também aumenta a evasão parasitária, sugerindo um importante papel dessa proteína no processo de invasão-diferenciação-evasão parasitária. Entretanto, as células nocautes para Opa1 apresentam metabolismo celular semelhante às selvagens 24h após infecção, excluindo o componente bioenergético nesse fenótipo dependente de Opa1. Também observamos que fibroblastos com ausência da Mfn1 (envolvida na fusão de membrana externa mitocondrial) e Mff (envolvida na fissão mitocondrial) apresentam reduzida taxa de infecção, sem diferenças na diferenciação e evasão.

Nossos dados apontam para papel importante da dinâmica mitocondrial na infecção pelo *t. cruzi*, uma vez que a ausência de proteínas relacionadas à fusão mitocondrial na célula hospedeira facilitou o parasita completar seu ciclo de vida, e a ausência de proteínas relacionadas à fissão mitocondrial impôs dificuldade ao parasita para completar seu ciclo de vida.

**Palavras-chave:** Doença de Chagas. Controle de qualidade mitocondrial. *T. cruzi*. Fusão mitocondrial. Fissão mitocondrial.

## ABSTRACT

Ribeiro, MAC. Mitochondrial plasticity in Chagas disease. [Ph.D. Thesis (System Biology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2022.

Chagas disease (CD) which affects 8 million people worldwide, is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*. The parasitic infection caused by *T. cruzi* causes mitochondrial dysfunction in the host cell, both in the acute and chronic phases of the disease. Post infection, it is possible to observe an increase in mitochondrial size and density in the host cell. These changes follow the increase in parasite load and colocalization between parasite and host cell mitochondria. However, the real contribution of host cell mitochondria in the infection process, as well as in tissue degeneration caused by CD, has not yet been elucidated. Knowing that mitochondria is a dynamic organelle, capable of changing its number, size and density according to tissue metabolic demand, we hypothesized that both parasite infection and tissue degeneration resulting from infection dependence on the morphological and functional reorganization of the host cell mitochondria to meet the increased energy demand of the parasite. Furthermore, we propose that a modulation of these processes is capable of controlling and/or prevent progression of Chagas disease. Thus, the objective of the present proposal is to investigate the role of host cell mitochondrial plasticity in *T. cruzi* infection.

Our results show that, in fact, the mitochondrial network of the host cell (fibroblast in culture) undergoes change in the face of infection with *T. cruzi*. We observed the appearance of mitochondrial aggregates close to the parasite and an increase in the levels of proteins related to mitochondrial fusion. Using knockout fibroblast for specific proteins involved in mitochondrial fission and fusion processes, we observed that the absence of the Opa1 protein (involved in mitochondrial inner membrane fusion and supercomplex formation) increases both the number of infected cells (parasitic load). The absence of the Opa1 protein also increases parasite evasion, suggesting an important role of this protein in the parasite invasion-differentiation-evasion process. However, Opa1 knockout cells show similar cell metabolism to wild-type cells 24h after infection, excluding the bioenergetic component in this Opa1-dependent phenotype. We also observed that fibroblast lacking Mfn1 (involved in mitochondrial outer membrane fusion) and Mff (involved in mitochondrial fission) have a reduced infection rate with no differences in differentiation and evasion.

Our data point to an important role of mitochondrial dynamics in *T. cruzi* infection, since the absence of proteins related to mitochondrial fusion, specially Opa1, in host cell facilitated the parasite to complete its life cycle, and the absence of proteins related to mitochondrial fission made it difficult to the parasite to complete its life cycle.

**Keywords:** Chagas disease. Mitochondrial quality control. *T. cruzi*. Mitochondrial fusion. Mitochondrial fission.

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Controle de qualidade mitocondrial (CQM)

A mitocôndria é uma organela crítica para a manutenção da fisiologia celular, uma vez que a maior parte do ATP celular é produzido através de um processo chamado de fosforilação oxidativa, que ocorre no interior da mitocôndria. Além disso, a mitocôndria desempenha um importante papel na manutenção da homeostase redox e morte celular. Por conta de suas múltiplas funções, a mitocôndria é considerada uma central, para onde convergem sinais intracelulares, conectando sensores, e apresentando respostas, como a regulação da expressão de genes nucleares, frente a estímulos fisiológicos e patológicos [1]. Devido ao seu papel central na regulação da homeostase, as células eucarióticas desenvolveram uma série de mecanismos de segurança, capazes de manter a integridade e a funcionalidade da mitocôndria em situações de estresse [2, 3].

Esse sistema de controle de qualidade pode ser dividido em três níveis. O primeiro nível envolve uma rede de sistemas capazes de combater a toxicidade mitocondrial mediada pelo acúmulo de EROs e aldeídos reativos. O segundo nível envolve proteases e chaperonas responsáveis pela manutenção da proteostase mitocondrial. Já o terceiro nível envolve o controle do número e da morfologia mitocondrial através de dois processos interligados: dinâmica mitocondrial (fusão e fissão) e mitofagia (remoção mitocondrial). Em conjunto, esses sistemas são capazes de regular o estado redox, o equilíbrio proteostático e o conteúdo, tamanho e número de mitocôndrias (biogênese mitocondrial), que diretamente afetam o funcionamento mitocondrial perante condições basais e estressoras [4]. De fato, falhas no CQM e a consequente disfunção mitocondrial resultam em diferentes patologias [5, 6].

## 1.2 Primeiro nível de defesa: Sistema de detoxificação mitocondrial

O sistema de detoxificação é um importante mecanismo de controle de qualidade mitocondrial que promove proteção contra espécies reativas de oxigênio (EROs) e aldeídos.

O termo estresse oxidativo descreve situações que resultam de um desbalanço entre a geração de EROs e sua detoxificação. Organismos aeróbicos desenvolveram uma série de sistemas antioxidantes, enzimáticos e não enzimáticos,

que reagem diretamente com agentes oxidantes, neutralizando-os. Minimizando, assim, os danos celulares promovidos pelo estresse oxidativo [7].

A mitocôndria é a principal fonte celular de EROs, bem como possui a maior capacidade antioxidante [8]. O acúmulo de EROs mitocondrial é crítico para situações patológicas, como o dano de isquemia e reperfusão na disfunção cardíaca [1, 9, 10] e também para situações fisiológicas, como no processo de envelhecimento [11]. O uso de modelos animais de experimentação auxiliou no entendimento do papel do sistema antioxidante como a primeira linha de defesa contra a patologia de diversas doenças, como doenças cardíacas, metabólicas, neurodegenerativas e musculares. Deficiência na SOD foram ligadas ao acúmulo excessivo de EROs e disfunção mitocondrial, no coração, contribuindo com o estabelecimento da hipertrofia ventricular e a disfunção cardíaca em camundongos [12-14], no músculo esquelético, causando denervação de fibras musculares, atrofia e prejuízo contrátil [15] e no cérebro, onde causa dano neuronal e prejuízo funcional [16]. Por outro lado, a super expressão de Cu-ZnSOD atenuou os danos promovido pela isquemia e reperfusão no coração, e contra os efeitos neurotóxicos de beta amiloide, em neurônios [17-19].

De forma geral, o aumento da atividade enzimática antioxidante (ex. catalase, glutathione peroxidase, tioredoxina e peroxirredoxina) ou aumento dos níveis de antioxidantes não enzimáticos (ex. glutathione, N-acetilcisteína, ubiquinol, alpha-tocopherol, ácido ascórbico e ácido lipoic) reduzem o estresse oxidativo em diversos tecidos através da manutenção dos níveis de EROs em uma escala de nanomolar [16, 20, 21]. Entretanto, em relação ao tecido cardíaco, esses dados não se reproduziram em testes randomizados em humanos [22, 23]. Uma possível explicação para o fracasso dos testes em humanos está ligada à inabilidade desses antioxidantes de atacar devidamente o estresse oxidativo mitocondrial. Estudos recentes demonstraram que o desenvolvimento de antioxidantes que atuam dentro da mitocôndria atenua os danos oxidativos presentes no local [24-26]. Por fim, excesso de estímulo antioxidante pode prejudicar a sinalização redox intracelular [27].

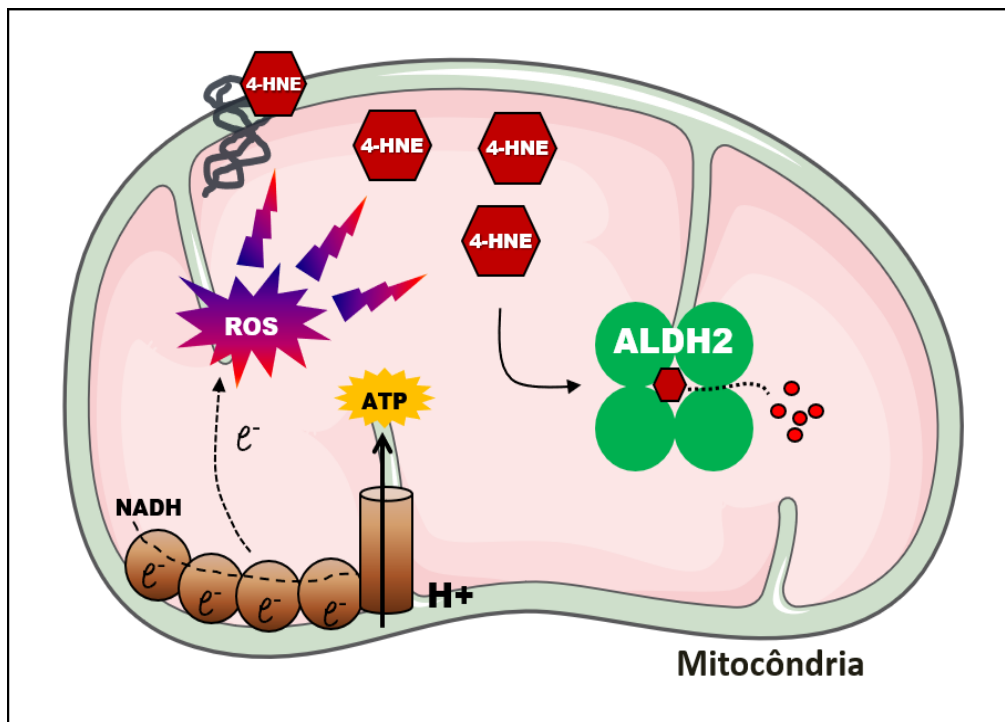
Além do acúmulo de EROs, crítico em diversas patologias, estudos recentes revelaram que o acúmulo de aldeídos tóxicos endógenos desempenha importante papel na progressão de doenças em diversos sistemas [28-31]. O 4-hidroxinonenal (4-HNE), o produto final da peroxidação lipídica das membranas mitocondriais, é um aldeído altamente reativo que rapidamente forma adutos proteicos [32]. Os efeitos deletérios do acúmulo de 4-HNE, como disfunção mitocondrial, ocorrem de forma dose-dependente, ou seja, quanto maior a formação de adutos, maior o dano

celular/tecidual [9, 33-35]. A formação excessiva de adutos de 4-HNE impacta na fisiologia mitocondrial/celular causando redução de sua atividade ATPase e prejuízo à proteostase, redução do consumo de oxigênio, prejuízos funcionais, como redução da contratilidade cardíaca e muscular esquelética e iniciando morte celular por apoptose de forma prematura [9, 36]. Ainda, o aumento na formação de adutos proteicos foi reportada na disfunção cardíaca e muscular em humanos [36-38]. Os dados sugerem que o acúmulo de 4-HNE pode servir como marcadores para a detecção da progressão de diversas doenças.

A aldeído desidrogenase 2 (ALDH2), membro da família das aldeído desidrogenases [39, 40], é uma enzima mitocondrial tetramérica responsável pela conversão de aldeídos tóxicos, como o 4-HNE, em ácidos mais fracos [41-44]. A ALDH2 se mostrou uma enzima importante na proteção de miócitos cardíacos, neurônios e células do pulmão contra a sobrecarga de aldeídos [43, 45-47]. A ativação farmacológica da ALDH2 utilizando uma molécula chamada Alda-1 protege contra os danos de isquemia e reperfusão em diversos tecidos [47-51].

Recentemente o nosso grupo demonstrou que a redução da carga de aldeídos através da ativação da ALDH2 é o suficiente para melhorar a função ventricular cardíaca através do melhoramento da bioenergética cardíaca e redução da geração de EROs [33, 34]. Além disso, o tratamento com Alda-1 também foi eficaz em reduzir a carga de aldeídos e melhorar a função do órgão em outros tecidos submetidos à isquemia e reperfusão, como o cérebro, pulmão, fígado e intestino [47, 51-53]. Esses achados sugerem que a ALDH2 desempenha um papel fundamental na manutenção do controle de qualidade mitocondrial, e destaca o potencial valor terapêutico dos ativadores da ALDH2 no combate dos efeitos deletérios dos aldeídos em diversas patologias.





**Figura 1: Esquema ilustrativo do sistema de detoxificação mitocondrial.** A formação excessiva de espécies reativas de oxigênio leva a aumento da peroxidação lipídica e consequente formação do 4-HNE, um aldeído altamente reativo que forma adutos com proteínas. O acúmulo de adutos de 4-HNE causa disfunção mitocondrial e contribui para a propagação do estresse celular relacionado com diversas condições. A aldeído desidrogenase 2 (ALDH2), localizada na matriz mitocondrial, é a enzima responsável pela conversão do 4-HNE em ácido fraco.

### 1.3 Segundo nível de defesa: Manutenção da proteostase mitocondrial

O envelhecimento correto de proteínas é crítico para a homeostase celular em todos os compartimentos celulares. Em casos onde as proteínas são mal envelhadas, ou sofrem danos, se faz necessário a reciclagem e remoção dessas proteínas, para evitar o acúmulo de agregados proteicos, que podem se deletérios às células. Em condições patológicas ocorre a formação exacerbada de agregados de proteína que podem acumular no citosol, núcleo e mitocôndria [2].

De acordo com a teoria da endossimbiose, a mitocôndria, que era uma proteobactéria de vida livre, foi incorporada por uma célula precursora da célula eucariótica aproximadamente 1,5 bilhões de anos atrás [54]. Durante o processo evolutivo, a maior parte do genoma mitocondrial foi transferido para o genoma nuclear. Aproximadamente 1100 proteínas mitocondriais são codificadas pelo núcleo, traduzidas no citosol e importadas para a mitocôndria [2, 55]. Essas proteínas trabalham em sincronia com as 13 proteínas codificadas pela mitocôndria (todas subunidades da cadeia de transporte de elétrons) para manutenção da produção de ATP [56]. Mudanças no balanço estequiométrico entre as proteínas codificadas pelo

núcleo e mitocôndria, devido à prejuízo na importação de proteínas para o interior da mitocôndria e danos na conformação proteica, bem como mutações no DNA mitocondrial, afetam a proteostase da organela, causando danos na integridade e funcionalidade das mitocôndrias. Portanto, a rede de chaperonas e a proteostase mitocondrial são essenciais para a manutenção da homeostase proteica da organela.

Chaperonas e chaperoninas mitocondriais, incluindo mtHsp70, Hsp60 e Hsp10, são partes do sistema de qualidade mitocondrial. Tais proteínas auxiliam a maquinaria de importação de proteína, o enovelamento proteico, a montagem da cadeia de transporte de elétrons, e a prevenção da formação de agregados proteicos de proteínas mal enoveladas [2, 57]. A redução da expressão de chaperonas mitocondriais foi observada em diversas condições patológicas, incluindo doenças cardiovasculares, neurológicas diabetes mellitus 1 e 2 [58-61]. A elevação da expressão de Hsp60 e Hsp10 foi reportada na insuficiência cardíaca em humanos, o que sugere uma resposta compensatória por conta do prejuízo na proteostase mitocondrial [62, 63]. De fato, a super expressão, individual ou combinada, de Hsp60 e Hsp10 protegem a função mitocondrial e previnem a morte de cardiomiócitos, induzida pela hipóxia e reoxigenação ou tratamento com doxorubicina [64-66].

Junto com as chaperonas, as proteases mitocondriais são essenciais para o controle de qualidade da organela. As proteases mitocondriais são necessárias para degradar proteínas mal enoveladas, danificadas e não enoveladas, que não podem ser re-enoveladas por chaperonas. Lon e ClpXP são proteases solúveis localizadas na matriz mitocondrial. Lon degrada proteínas desnaturadas e oxidadas, entretanto os substratos de ClpXP ainda precisam ser identificados. Outra classe de proteases está localizada na membrana interna da mitocôndria. Essas AAA metaloproteases (ATPases associadas com várias atividades celulares) expõem seus sítios catalíticos para a matriz mitocondrial (m-AAA protease) ou para o espaço intermembrana (i-AAA protease) e estão envolvidas no processamento de degradação de proteínas [67-70].

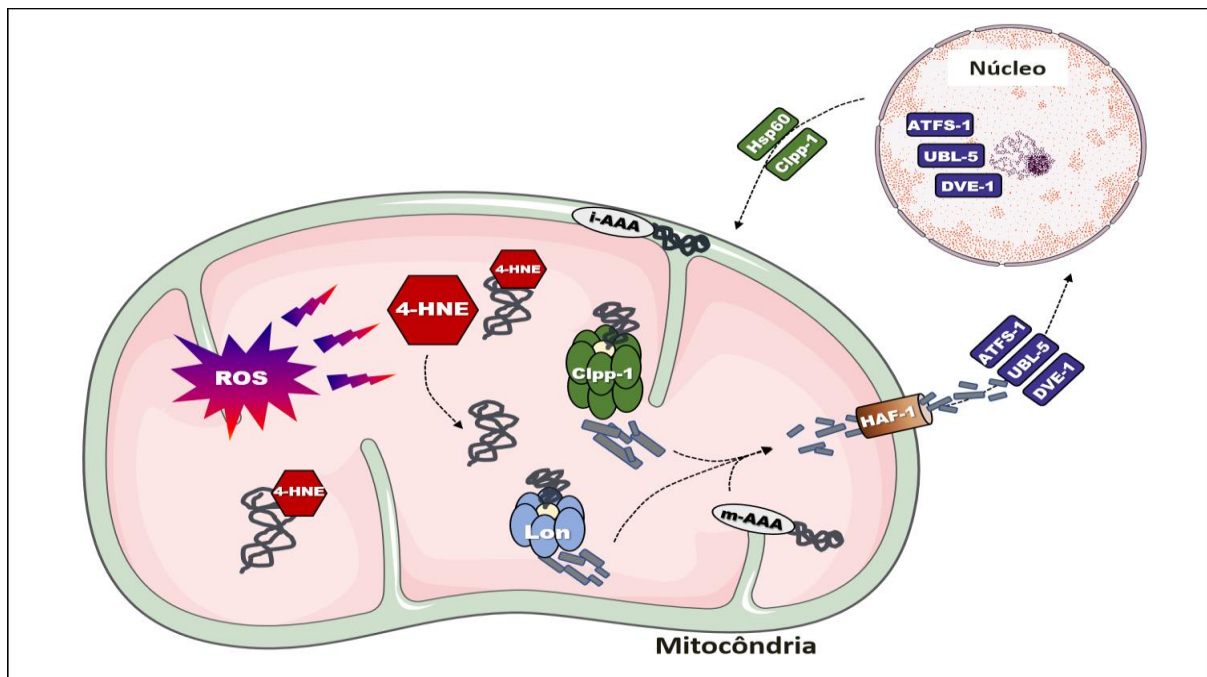
Ambas as proteases, i-AAA e m-AAA, degradam proteínas mal formadas do espaço intermembrana mitocondrial [2]. Problemas nas proteases i-AAA e m-AAA afetam a morfologia, proteostase e bioenergética mitocondrial [67, 71]. Defeitos nessas proteases estão relacionadas com diversas patologias e no processo de envelhecimento. Em camundongos idosos ocorre uma redução na expressão de Lon, em condições basais, o que aponta para uma redução na capacidade de lutar contra estresses proteostáticos [72]. Em alguns casos, a perda da maquinaria de CQM causa problemas bem cedo na vida de uma criança, como mutações em ClpP, que foram

associadas com a síndrome de Perrault, causando perdas auditivas [73]. Ainda, Wai e colaboradores demonstraram que a remoção da protease YME1L1 (m-AAA), especificamente no coração, altera o metabolismo e morfologia mitocondrial e causa disfunção cardíaca em camundongos [74].

Uma vez que a maior parte das proteínas mitocondriais são codificadas no núcleo, a comunicação entre mitocôndria e núcleo é extremamente importante para o controle de qualidade mitocondrial. Essa comunicação, que é conhecida como sinalização mitocondrial retrógrada, regula a proteostase mitocondrial através do aumento de expressão de genes mitocondriais presentes no núcleo [75]. Inicialmente identificado em células de mamíferos [76], esse processo foi caracterizado e bem explorado no nematoide *Caenorhabditis elegans*, onde prejuízos na resposta à proteínas mitocondriais não enoveladas (UPRmt) prejudica a função mitocondrial e afeta negativamente a longevidade [77].

De forma resumida, a perda da proteostase mitocondrial ativa a UPRmt, que culmina no acúmulo de peptídeos mitocondriais no citosol e translocação do fator transcricional ATFS-1 para o núcleo. Em associação com outros fatores transcricionais (UBL-5 e DVE-1), a ATFS-1 promove a expressão de genes envolvidos com a proteostase mitocondrial (ex. chaperonas e proteases), o metabolismo glicolítico, detoxificação e resposta imune inata, aliviando assim o estresse e re-estabelecendo a homeostase mitocondrial [78-80].

Recentemente, Fiorese e colaboradores descreveram como a UPRmt é regulada em mamíferos [81]. Eles sugerem que a ATF5, um fator de transcrição em mamíferos, desempenha papel protetor na disfunção mitocondrial através da regulação da sinalização da UPRmt, similar ao que ocorre com ATFS-1 em vermes.



**Figura 2: Esquema ilustrativo da manutenção da proteostase mitocondrial.** O acúmulo de proteínas mal enoveladas resulta em aumento de proteólise e liberação de peptídeos mitocondriais no citosol. Esses peptídeos podem ativar fatores de transcrição, como ATFS-1, UBL-5 e DVE-1, que uma vez no núcleo promovem regulação positiva de genes envolvidos com a proteostase mitocondrial (chaperonas e proteases), aliviam o estresse e reestabelecem a homeostase mitocondrial.

#### 1.4 Terceiro nível de defesa: dinâmica mitocondrial e mitofagia

As mitocôndrias geralmente formam uma rede altamente dinâmica que desempenha um papel crucial na bioenergética celular. A manutenção do tamanho, forma, número e localização mitocondrial depende de um mecanismo de controle de qualidade bem conservado, que inclui a maquinaria mitocondrial de fusão e fissão e mitofagia [82-84]. Problemas nesses processos resultam em acúmulo de mitocôndrias não saudáveis, que são frequentemente associadas com diversas patologias [85-87].

##### 1.4.1 Fusão mitocondrial

A fusão mitocondrial é importante para a troca de DNA, membranas, proteínas e metabólitos entre mitocôndrias vizinhas, assim auxiliando na manutenção da fosforilação oxidativa, potencial de membrana e replicação/reparo de DNA [82]. A fusão mitocondrial requer a fusão das membranas externa e interna de duas mitocôndrias [88]. Em células de mamíferos a fusão é coordenada pelas proteínas Mitofusina 1 (Mfn1) e Mitofusina 2 (Mfn2), que estão localizadas na membrana externa da mitocôndria, e pela proteína *Optic atrophy 1* (OPA1). As mitofusinas, que apresentam 80% de similaridade entre si [89] são *dynamain-like GTPases* que

apresentam um domínio catalítico que se liga em GTP, na porção N-terminal da proteína, e ficam ancoradas na membrana externa da mitocôndria através do seu domínio C-terminal transmembrar [90]. A fusão das membranas externas se dá quando ocorre a hidrólise de GTP, que induz uma mudança conformacional nas proteínas, que colocam as membranas das mitocôndrias vizinhas em contato uma com a outra [91, 92]. Além do seu papel na regulação da dinâmica mitocondrial, a Mfn2 também conecta a mitocôndria ao retículo endoplasmático, um processo importante para o controle da captação de cálcio e morte celular [93]. A proteína OPA1, responsável pela fusão da membrana interna da mitocôndria, é uma dynamin-like GTPase que está ancorada na membrana interna da organela através de um domínio transmembrar na sua porção N-terminal [94]. OPA1 é submetida à processamento proteolítico por duas peptidases (OMA1 e YME1L1) [95], e quando isso leva à acúmulo de sua forma curta acontece fragmentação da rede mitocondrial e danos estruturais à crista mitocondrial [67, 96].

A fusão mitocondrial é extremamente importante para a fisiologia de diversos tecidos. A deleção de Mfn1 ou Mfn2, em camundongos, leva à morte ainda no útero [97]. A remoção combinada de Mfn1 e Mfn2 no coração de camundongos levou a insuficiência cardíaca [98]. Interessantemente, Hall e colaboradores recentemente demonstraram que animais duplo knockout para Mfn1/Mfn2 no coração, foram protegidos contra o insulto agudo de isquemia e reperfusão, através da redução do contato entre mitocôndria e retículo sarcoplasmático [99]. Esses achados sugerem que Mfn1 e Mfn2 podem desempenhar papel protetivo ou causar prejuízo de acordo com a condição estressante. Problemas na dinâmica mitocondrial causados pela deleção de OPA1, ou desbalanço em seu processamento, também causam fragmentação mitocondrial, déficit bioenergético e insuficiência cardíaca em camundongos [74, 100].

De forma geral, enzimas que controlam a fusão mitocondrial são essenciais para a manutenção da bioenergética e viabilidade celular. Ainda, intervenção farmacológicas e não farmacológicas que modulem Mfn1, Mfn2 e OPA1 podem ter efeitos protetores contra condições patológicas agudas e crônicas.

#### **1.4.2 Fissão mitocondrial**

A fissão é um processo altamente regulado, que se prejudicado pode alterar o metabolismo, a proliferação e a viabilidade celular [101, 102]. A fissão mitocondrial

é crítica para segregar mitocôndrias disfuncionais, onde a porção disfuncional pode ser endereçada para recuperação se fusionando com outra mitocôndria saudável, ou ser mandada para degradação através da mitofagia [103]. A fissão mitocondrial é iniciada pela proteína Drp1 (*dynamamin-related protein 1*). Após ativação, a Drp1 transloca do citosol para a membrana externa da mitocôndria, onde se liga com o auxílio de proteínas adaptadoras (Mff e Fis1) e comprime ambas membranas mitocondriais, externa e interna [104, 105]. Prejuízos nesse processo foram associados à doenças neurodegenerativas, cardiovasculares e câncer [102, 106]. De fato, redução da fissão mitocondrial, por conta de mutação no gene Dnm1 (Drp1) causa progressiva deficiência na produção de energia e cardiomiopatia dilatada em roedores [107]. No outro oposto, a fissão excessiva também tem impacto negativo no coração, durante o estabelecimento do dano de isquemia e reperfusão [88]. Os mecanismos que regulam a fissão são diferentes, de acordo com a sua finalidade. A proliferação mitocondrial ocorre com o auxílio da proteína adaptadora Mff e o retículo endoplasmático, e ocorre no meio da mitocôndria. Já a fissão para degradação ocorre com o auxílio da proteína adaptadora Fis1 e o lisossomo e acontece nas pontas das mitocôndrias [108].

Inibição da fissão mitocondrial de forma farmacológica, ou genética é capaz de proteger diferentes tipos celulares em situações de estresse. A inibição da fissão usando um mutante dominante negativo para Drp1 protege cardiomiócitos em cultura contra o estresse de hipóxia e reoxigenação [109]. Já a inibição farmacológica por meio do uso da molécula mdivi-1 (*mitochondrial division inhibitor 1*), que inibe a atividade da Drp1, mostrou efeito protetor em modelo animal de isquemia cerebral [110] e doença de Alzheimer [111]. Outra ferramenta disponível é um inibidor seletivo da maquinaria de fissão (peptídeo p110, Qi et al 2013), que inibe a interação entre as proteínas de fissão Fis1 e Drp1, reduz a fissão mitocondrial e melhora a bioenergética em diferentes modelos de danos de isquemia e reperfusão, incluindo cardiomiócitos primários, modelo de função cardíaca ex vivo e em modelo in vivo de infarto do miocárdio [112]. Interessantemente, uma dose única do peptídeo p110 durante a reperfusão após a oclusão transiente da artéria coronária é suficiente para inibir a excessiva fissão mitocondrial, aumenta o consumo de oxigênio e melhora a função cardíaca no longo prazo [112]. Em conjunto esses estudos fornecem evidências que bloquear a fissão excessiva tem efeito protetor contra insultos estressores. Portanto, terapias capazes de reduzir a excessiva fissão mitocondrial podem ser uma valiosa ferramenta contra diversas patologias.

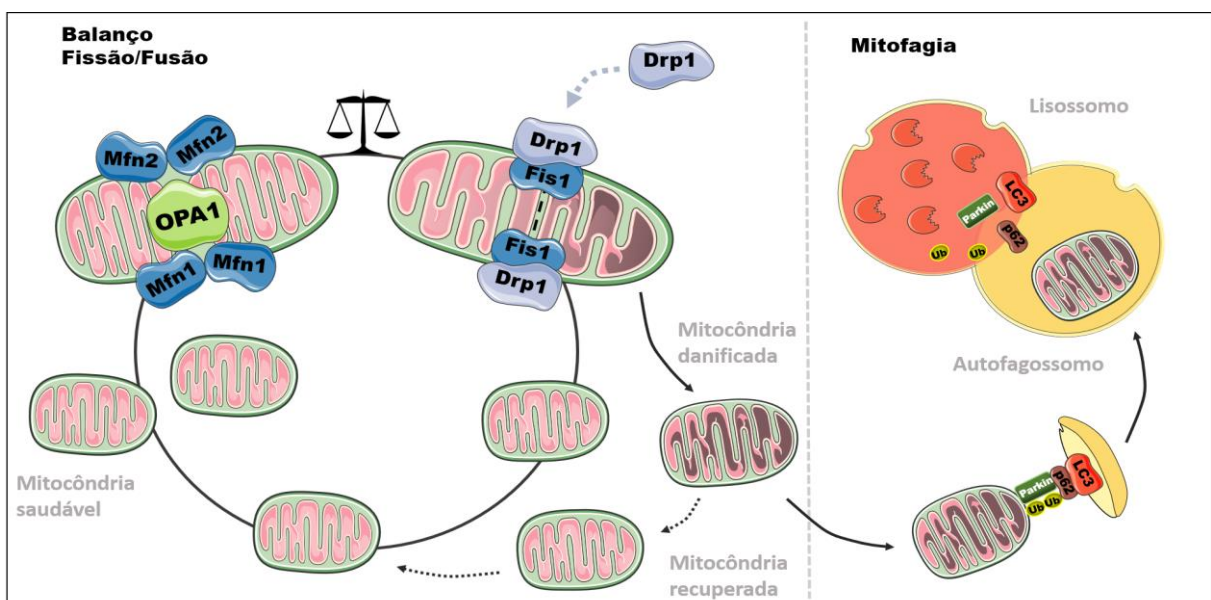
### 1.4.2 Mitofagia

O acúmulo de mitocôndrias disfuncionais parece desempenhar papel crítico em diversas patologias. Portanto, a renovação mitocondrial é necessária para a manutenção da homeostase celular. Mitocôndrias disfuncionais podem ser ativamente marcadas para eliminação através de um processo conhecido como autofagia mitocondrial (mitofagia). Brevemente, em mitocôndrias saudáveis PINK1 é importada para a membrana interna da mitocôndria, onde é degradada. Durante o estresse, ocorre dissipação do potencial de membrana mitocondrial, o que resulta em acúmulo de PINK1 na superfície mitocondrial, que fosforila/ativa a ubiquitina E3 ligase Parkin [113]. Parkin ubiquitina proteínas-chave que podem ser degradadas pelo proteassoma ou reconhecidas por proteínas adaptadoras da autofagia. Essas proteínas adaptadoras são capazes de atuar como receptores de carga, que os recrutam para o autofagossomo [114]. Então, os autofagossomos se fundem com os lisossomos para degradar as mitocôndrias sequestradas [115]. Este processo é conhecido como macroautofagia. A mitocôndria também pode ser engolfada através de invaginações membranares do lisossomo, um processo chamado de microautofagia [116, 117]. Tanto a macroautofagia quanto a microautofagia são essenciais para a remoção de mitocôndrias disfuncionais durante o estresse celular [88].

O prejuízo na mitofagia está associado com o envelhecimento e diversas patologias, como doenças neurodegenerativas, miopatias, desordens metabólicas e câncer [118]. Durante o envelhecimento ocorre redução da função mitocondrial, acompanhada do aumento da mitofagia [119]. Em doenças cardíacas os marcadores de autofagia estão aumentados [120, 121]. Entretanto, o acúmulo dessas proteínas pode significar tanto o aumento, quanto a redução do fluxo autofágico [122]. De fato, durante a insuficiência cardíaca ocorre aumento de marcadores autofágicos e redução do fluxo autofágico, enquanto que 4 semanas de treinamento físico forma suficientes para elevar o fluxo autofágico [123]. De forma similar, em modelo de atrofia muscular esquelética a mitofagia estava prejudicada, e treinamento físico mostrou efeito benéfico [124]. Estudos com animais geneticamente modificados mostram que a autofagia é essencial para a manutenção da homeostase cardíaca e neurológica [125-127]. Em animais com knockout para genes relacionados à autofagia, em tecidos específicos ocorre acúmulo de mitocôndrias desorganizadas e estresse oxidativo

[128, 129], enquanto que a super expressão desses genes auxiliam na melhora da cardiomiopatia [130].

Por fim, a mitofagia parece desempenhar um papel essencial durante o estabelecimento do dano agudo da isquemia e reperfusão no coração, um processo caracterizado pelo acúmulo de mitocôndria danificadas e grave estresse oxidativo. O aumento farmacológico da autofagia previne a morte celular que segue o dano de isquemia e reperfusão [116, 131, 132]. Entretanto, mais estudos se fazem necessários para avaliar se os efeitos cardioprotetores ocorrem por conta do aumento de remoção de mitocôndrias danificadas. De fato, a remoção de Parkin ou p62/SQTSTM1 é suficiente para abolir os efeitos cardioprotetores do preconditionamento isquêmico e do tratamento com sinvastatina em roedores [133, 134].



**Figura 3: Esquema ilustrativo da plasticidade (dinâmica) mitocondrial.** Alterações na demanda bioenergética celular ou condições patológicas podem desencadear o processo de fissão mitocondrial, no qual a Drp1 transloca-se para a mitocôndria e se liga à Fis1. Essas mitocôndrias menores podem ser recuperadas ou removidas. As mitocôndrias recuperadas entram novamente no ciclo de vida da organela e se fundem com novas mitocôndrias. Mfn1 e Mfn2 regulam a fusão da membrana externa, ao passo que a OPA1 é responsável pela fusão da membrana interna. As mitocôndrias danificadas podem ser removidas por mitofagia. Nesse processo, a mitocôndria é identificada por marcadores específicos, sequestrada pelo autofagossomo e a fusão deste com o lisossomo permite a degradação da organela.



## 6. CONCLUSÃO

Os diferentes componentes do controle de qualidade mitocondrial foram afetados nas condições avaliadas neste trabalho. Durante a infecção celular pelo parasita *T. cruzi* observamos modulação da dinâmica mitocondrial (um dos componentes do controle de qualidade mitocondrial). Em células com prejuízo na maquinaria de fusão mitocondrial a infecção parasitária foi exacerbada. Por outro lado, células com prejuízo na maquinaria de fissão mitocondrial apresentaram menor porcentagem de infecção.

O sistema de detoxificação do controle de qualidade mitocondrial foi avaliado sob duas diferentes condições, na atrofia muscular causada pela constrição crônica do nervo isquiático e durante o processo de envelhecimento. Em ambas as condições observamos papel relevante da enzima aldeído desidrogenase 2.

A enzima ALDH2 participa no processo de disfunção muscular esquelética causada pela CCI, e, portanto, é um bom alvo terapêutico para o tratamento de condições que causem atrofia e disfunção muscular esquelética.

Por fim, observamos que a enzima ALDH2 apresenta diferentes expressões e atividade em diferentes tecidos, e isso pode estar ligado às diferenças metabólicas de cada tecido. Além disso, durante o envelhecimento, o cérebro apresenta prejuízo na atividade da ALDH2 e a modulação genética da atividade da enzima pode agravar os efeitos deletérios causados durante o processo de envelhecimento.

Nossos resultados ressaltam a importância do controle de qualidade mitocondrial nas mais diferentes condições fisiológicas e/ou patológicas, uma vez que a modulação de componentes desse sistema pode causar consequências deletérias.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Campos, J.C., K.M. Gomes, and J.C. Ferreira, *Impact of exercise training on redox signaling in cardiovascular diseases*. Food Chem Toxicol, 2013. **62**: p. 107-19.
2. Baker, M.J., T. Tatsuta, and T. Langer, *Quality control of mitochondrial proteostasis*. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2011. **3**(7).
3. Kotiadis, V.N., M.R. Duchen, and L.D. Osellame, *Mitochondrial quality control and communications with the nucleus are important in maintaining mitochondrial function and cell health*. Biochim Biophys Acta, 2014. **1840**(4): p. 1254-65.
4. Campos, J.C., et al., *Mitochondrial Quality Control in Cardiac Diseases*. Front Physiol, 2016. **7**: p. 479.
5. Ueta, C.B., et al., *Disruption of mitochondrial quality control in peripheral artery disease: New therapeutic opportunities*. Pharmacol Res, 2017. **115**: p. 96-106.
6. Merlini, L., P. Bonaldo, and E. Marzetti, *Editorial: Pathophysiological Mechanisms of Sarcopenia in Aging and in Muscular Dystrophy: A Translational Approach*. Front Aging Neurosci, 2015. **7**: p. 153.
7. Kornfeld, O.S., et al., *Mitochondrial reactive oxygen species at the heart of the matter: new therapeutic approaches for cardiovascular diseases*. Circ Res, 2015. **116**(11): p. 1783-99.
8. Figueira, T.R., et al., *Mitochondria as a source of reactive oxygen and nitrogen species: from molecular mechanisms to human health*. Antioxid Redox Signal, 2013. **18**(16): p. 2029-74.
9. Campos, J.C., et al., *Exercise training restores cardiac protein quality control in heart failure*. PLoS One, 2012. **7**(12): p. e52764.
10. Chouchani, E.T., et al., *Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS*. Nature, 2014. **515**(7527): p. 431-435.
11. Hekimi, S., J. Lapointe, and Y. Wen, *Taking a "good" look at free radicals in the aging process*. Trends Cell Biol, 2011. **21**(10): p. 569-76.
12. Strassburger, M., et al., *Heterozygous deficiency of manganese superoxide dismutase results in severe lipid peroxidation and spontaneous apoptosis in murine myocardium in vivo*. Free Radic Biol Med, 2005. **38**(11): p. 1458-70.
13. Morten, K.J., B.A. Ackrell, and S. Melov, *Mitochondrial reactive oxygen species in mice lacking superoxide dismutase 2: attenuation via antioxidant treatment*. J Biol Chem, 2006. **281**(6): p. 3354-9.
14. Lu, Z., et al., *Extracellular superoxide dismutase deficiency exacerbates pressure overload-induced left ventricular hypertrophy and dysfunction*. Hypertension, 2008. **51**(1): p. 19-25.
15. Larkin, L.M., et al., *Skeletal muscle weakness due to deficiency of CuZn-superoxide dismutase is associated with loss of functional innervation*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2011. **301**(5): p. R1400-7.
16. Lee, K.H., M. Cha, and B.H. Lee, *Neuroprotective Effect of Antioxidants in the Brain*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(19).
17. Chen, Z., et al., *Overexpression of MnSOD protects against myocardial ischemia/reperfusion injury in transgenic mice*. J Mol Cell Cardiol, 1998. **30**(11): p. 2281-9.
18. Miller, J.D., et al., *MnSOD protects against COX1-mediated endothelial dysfunction in chronic heart failure*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010. **298**(5): p. H1600-7.

19. Iadecola, C., et al., *SOD1 rescues cerebral endothelial dysfunction in mice overexpressing amyloid precursor protein*. Nat Neurosci, 1999. **2**(2): p. 157-61.
20. Goszcz, K., et al., *Antioxidants in Cardiovascular Therapy: Panacea or False Hope?* Front Cardiovasc Med, 2015. **2**: p. 29.
21. Ansar, M., et al., *Increased Lung Catalase Activity Confers Protection Against Experimental RSV Infection*. Sci Rep, 2020. **10**(1): p. 3653.
22. Kritharides, L. and R. Stocker, *The use of antioxidant supplements in coronary heart disease*. Atherosclerosis, 2002. **164**(2): p. 211-9.
23. Ye, Y., J. Li, and Z. Yuan, *Effect of antioxidant vitamin supplementation on cardiovascular outcomes: a meta-analysis of randomized controlled trials*. PLoS One, 2013. **8**(2): p. e56803.
24. Subramanian, S., B. Kalyanaraman, and R.Q. Migrino, *Mitochondrially targeted antioxidants for the treatment of cardiovascular diseases*. Recent Pat Cardiovasc Drug Discov, 2010. **5**(1): p. 54-65.
25. Oyewole, A.O. and M.A. Birch-Machin, *Mitochondria-targeted antioxidants*. FASEB J, 2015. **29**(12): p. 4766-71.
26. Ni, R., et al., *Therapeutic inhibition of mitochondrial reactive oxygen species with mito-TEMPO reduces diabetic cardiomyopathy*. Free Radic Biol Med, 2016. **90**: p. 12-23.
27. Ristow, M., et al., *Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(21): p. 8665-70.
28. Bradley, M.A., W.R. Markesbery, and M.A. Lovell, *Increased levels of 4-hydroxynonenal and acrolein in the brain in preclinical Alzheimer disease*. Free Radic Biol Med, 2010. **48**(12): p. 1570-6.
29. Cohen, G., et al., *Signaling properties of 4-hydroxyalkenals formed by lipid peroxidation in diabetes*. Free Radic Biol Med, 2013. **65**: p. 978-987.
30. Chen, C.H., L. Sun, and D. Mochly-Rosen, *Mitochondrial aldehyde dehydrogenase and cardiac diseases*. Cardiovasc Res, 2010. **88**(1): p. 51-7.
31. Chen, Y.R. and J.L. Zweier, *Cardiac mitochondria and reactive oxygen species generation*. Circ Res, 2014. **114**(3): p. 524-37.
32. Roede, J.R. and D.P. Jones, *Reactive species and mitochondrial dysfunction: mechanistic significance of 4-hydroxynonenal*. Environ Mol Mutagen, 2010. **51**(5): p. 380-90.
33. Gomes, K.M., et al., *Aldehyde dehydrogenase 2 activation in heart failure restores mitochondrial function and improves ventricular function and remodelling*. Cardiovasc Res, 2014. **103**(4): p. 498-508.
34. Gomes, K.M., et al., *Aldehydic load and aldehyde dehydrogenase 2 profile during the progression of post-myocardial infarction cardiomyopathy: benefits of Alda-1*. Int J Cardiol, 2015. **179**: p. 129-38.
35. Dalleau, S., et al., *Cell death and diseases related to oxidative stress: 4-hydroxynonenal (HNE) in the balance*. Cell Death Differ, 2013. **20**(12): p. 1615-30.
36. Ferreira, J.C., et al., *Protein quality control disruption by PKC $\beta$ II in heart failure; rescue by the selective PKC $\beta$ II inhibitor,  $\beta$ IIV5-3*. PLoS One, 2012. **7**(3): p. e33175.
37. Nakamura, K., et al., *Carvedilol decreases elevated oxidative stress in human failing myocardium*. Circulation, 2002. **105**(24): p. 2867-71.
38. Weiss, D.J., et al., *Oxidative damage and myofiber degeneration in the gastrocnemius of patients with peripheral arterial disease*. J Transl Med, 2013. **11**: p. 230.

39. Marchitti, S.A., et al., *Non-P450 aldehyde oxidizing enzymes: the aldehyde dehydrogenase superfamily*. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2008. **4**(6): p. 697-720.
40. Vasiliou, V., et al., *Aldehyde dehydrogenases: from eye crystallins to metabolic disease and cancer stem cells*. *Chem Biol Interact*, 2013. **202**(1-3): p. 2-10.
41. Perez-Miller, S., et al., *Alda-1 is an agonist and chemical chaperone for the common human aldehyde dehydrogenase 2 variant*. *Nat Struct Mol Biol*, 2010. **17**(2): p. 159-64.
42. Sobreira, T.J., et al., *Structural shifts of aldehyde dehydrogenase enzymes were instrumental for the early evolution of retinoid-dependent axial patterning in metazoans*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011. **108**(1): p. 226-31.
43. Ferreira, J.C. and D. Mochly-Rosen, *Nitroglycerin use in myocardial infarction patients*. *Circ J*, 2012. **76**(1): p. 15-21.
44. Josan, S., et al., *In vivo measurement of aldehyde dehydrogenase-2 activity in rat liver ethanol model using dynamic MRSI of hyperpolarized [1-(13)C]pyruvate*. *NMR Biomed*, 2013. **26**(6): p. 607-12.
45. Sun, L., J.C. Ferreira, and D. Mochly-Rosen, *ALDH2 activator inhibits increased myocardial infarction injury by nitroglycerin tolerance*. *Sci Transl Med*, 2011. **3**(107): p. 107ra111.
46. Zambelli, V.O., et al., *Aldehyde dehydrogenase-2 regulates nociception in rodent models of acute inflammatory pain*. *Sci Transl Med*, 2014. **6**(251): p. 251ra118.
47. Ding, J., et al., *Alda-1 Attenuates Lung Ischemia-Reperfusion Injury by Reducing 4-Hydroxy-2-Nonenal in Alveolar Epithelial Cells*. *Crit Care Med*, 2016. **44**(7): p. e544-52.
48. Chen, C.H., et al., *Activation of aldehyde dehydrogenase-2 reduces ischemic damage to the heart*. *Science*, 2008. **321**(5895): p. 1493-5.
49. Chen, C.H., et al., *Targeting aldehyde dehydrogenase 2: new therapeutic opportunities*. *Physiol Rev*, 2014. **94**(1): p. 1-34.
50. Gross, E.R., et al., *A personalized medicine approach for Asian Americans with the aldehyde dehydrogenase 2\*2 variant*. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2015. **55**: p. 107-27.
51. Fu, S.H., et al., *Alda-1 reduces cerebral ischemia/reperfusion injury in rat through clearance of reactive aldehydes*. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2014. **387**(1): p. 87-94.
52. Zhang, T., et al., *Alda-1, an ALDH2 activator, protects against hepatic ischemia/reperfusion injury in rats via inhibition of oxidative stress*. *Free Radic Res*, 2018. **52**(6): p. 629-638.
53. Zhu, Q., et al., *Pretreatment with the ALDH2 agonist Alda-1 reduces intestinal injury induced by ischaemia and reperfusion in mice*. *Clin Sci (Lond)*, 2017. **131**(11): p. 1123-1136.
54. Gray, M.W., G. Burger, and B.F. Lang, *Mitochondrial evolution*. *Science*, 1999. **283**(5407): p. 1476-81.
55. Pagliarini, D.J., et al., *A mitochondrial protein compendium elucidates complex I disease biology*. *Cell*, 2008. **134**(1): p. 112-23.
56. Jovaisaite, V. and J. Auwerx, *The mitochondrial unfolded protein response—synchronizing genomes*. *Curr Opin Cell Biol*, 2015. **33**: p. 74-81.
57. Pellegrino, M.W., A.M. Nargund, and C.M. Haynes, *Signaling the mitochondrial unfolded protein response*. *Biochim Biophys Acta*, 2013. **1833**(2): p. 410-6.
58. MacKenzie, J.A. and R.M. Payne, *Mitochondrial protein import and human health and disease*. *Biochim Biophys Acta*, 2007. **1772**(5): p. 509-23.

59. Jin, J., et al., *Proteomic identification of a stress protein, mortalin/mthsp70/GRP75: relevance to Parkinson disease*. Mol Cell Proteomics, 2006. **5**(7): p. 1193-204.
60. Baseler, W.A., et al., *Proteomic alterations of distinct mitochondrial subpopulations in the type 1 diabetic heart: contribution of protein import dysfunction*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2011. **300**(2): p. R186-200.
61. Shepherd, D.L., et al., *Mitochondrial proteome disruption in the diabetic heart through targeted epigenetic regulation at the mitochondrial heat shock protein 70 (mtHsp70) nuclear locus*. J Mol Cell Cardiol, 2018. **119**: p. 104-115.
62. Knowlton, A.A., et al., *Differential expression of heat shock proteins in normal and failing human hearts*. J Mol Cell Cardiol, 1998. **30**(4): p. 811-8.
63. Schäfler, A.E., et al., *Overexpression of heat shock protein 60/10 in myocardium of patients with chronic atrial fibrillation*. Ann Thorac Surg, 2002. **74**(3): p. 767-70.
64. Lin, K.M., et al., *Combined and individual mitochondrial HSP60 and HSP10 expression in cardiac myocytes protects mitochondrial function and prevents apoptotic cell deaths induced by simulated ischemia-reoxygenation*. Circulation, 2001. **103**(13): p. 1787-92.
65. Hollander, J.M., et al., *Overexpression of PHGPx and HSP60/10 protects against ischemia/reoxygenation injury*. Free Radic Biol Med, 2003. **35**(7): p. 742-51.
66. Shan, Y.X., et al., *Hsp10 and Hsp60 modulate Bcl-2 family and mitochondria apoptosis signaling induced by doxorubicin in cardiac muscle cells*. J Mol Cell Cardiol, 2003. **35**(9): p. 1135-43.
67. Griparic, L., T. Kanazawa, and A.M. van der Bliek, *Regulation of the mitochondrial dynamin-like protein Opa1 by proteolytic cleavage*. J Cell Biol, 2007. **178**(5): p. 757-64.
68. Song, Z., et al., *OPA1 processing controls mitochondrial fusion and is regulated by mRNA splicing, membrane potential, and Yme1L*. J Cell Biol, 2007. **178**(5): p. 749-55.
69. Bonn, F., et al., *Presequence-dependent folding ensures MrpL32 processing by the m-AAA protease in mitochondria*. EMBO J, 2011. **30**(13): p. 2545-56.
70. Gerdes, F., T. Tatsuta, and T. Langer, *Mitochondrial AAA proteases--towards a molecular understanding of membrane-bound proteolytic machines*. Biochim Biophys Acta, 2012. **1823**(1): p. 49-55.
71. Nolden, M., et al., *The m-AAA protease defective in hereditary spastic paraplegia controls ribosome assembly in mitochondria*. Cell, 2005. **123**(2): p. 277-89.
72. Bota, D.A., J.K. Ngo, and K.J. Davies, *Downregulation of the human Lon protease impairs mitochondrial structure and function and causes cell death*. Free Radic Biol Med, 2005. **38**(5): p. 665-77.
73. Jenkinson, E.M., et al., *Perrault syndrome is caused by recessive mutations in CLPP, encoding a mitochondrial ATP-dependent chambered protease*. Am J Hum Genet, 2013. **92**(4): p. 605-13.
74. Wai, T., et al., *Imbalanced OPA1 processing and mitochondrial fragmentation cause heart failure in mice*. Science, 2015. **350**(6265): p. aad0116.
75. Haynes, C.M., C.J. Fiorese, and Y.F. Lin, *Evaluating and responding to mitochondrial dysfunction: the mitochondrial unfolded-protein response and beyond*. Trends Cell Biol, 2013. **23**(7): p. 311-8.
76. Zhao, Q., et al., *A mitochondrial specific stress response in mammalian cells*. EMBO J, 2002. **21**(17): p. 4411-9.

77. Haynes, C.M., et al., *The matrix peptide exporter HAF-1 signals a mitochondrial UPR by activating the transcription factor ZC376.7 in C. elegans*. Mol Cell, 2010. **37**(4): p. 529-40.
78. Benedetti, C., et al., *Ubiquitin-like protein 5 positively regulates chaperone gene expression in the mitochondrial unfolded protein response*. Genetics, 2006. **174**(1): p. 229-39.
79. Jovaisaite, V., L. Mouchiroud, and J. Auwerx, *The mitochondrial unfolded protein response, a conserved stress response pathway with implications in health and disease*. J Exp Biol, 2014. **217**(Pt 1): p. 137-43.
80. Nargund, A.M., et al., *Mitochondrial and nuclear accumulation of the transcription factor ATFS-1 promotes OXPHOS recovery during the UPR(mt)*. Mol Cell, 2015. **58**(1): p. 123-33.
81. Fiorese, C.J., et al., *The Transcription Factor ATF5 Mediates a Mammalian Mitochondrial UPR*. Curr Biol, 2016. **26**(15): p. 2037-2043.
82. Liesa, M., M. Palacín, and A. Zorzano, *Mitochondrial dynamics in mammalian health and disease*. Physiol Rev, 2009. **89**(3): p. 799-845.
83. Dorn, G.W. and R.N. Kitsis, *The mitochondrial dynamism-mitophagy-cell death interactome: multiple roles performed by members of a mitochondrial molecular ensemble*. Circ Res, 2015. **116**(1): p. 167-82.
84. Shirihai, O.S., M. Song, and G.W. Dorn, *How mitochondrial dynamism orchestrates mitophagy*. Circ Res, 2015. **116**(11): p. 1835-49.
85. Chan, D.C., *Mitochondria: dynamic organelles in disease, aging, and development*. Cell, 2006. **125**(7): p. 1241-52.
86. Dorn, G.W., *Mitochondrial dynamics in heart disease*. Biochim Biophys Acta, 2013. **1833**(1): p. 233-41.
87. Andres, A.M., et al., *A time to reap, a time to sow: mitophagy and biogenesis in cardiac pathophysiology*. J Mol Cell Cardiol, 2015. **78**: p. 62-72.
88. Disatnik, M.H., et al., *New therapeutics to modulate mitochondrial dynamics and mitophagy in cardiac diseases*. J Mol Med (Berl), 2015. **93**(3): p. 279-87.
89. Santel, A., et al., *Mitofusin-1 protein is a generally expressed mediator of mitochondrial fusion in mammalian cells*. J Cell Sci, 2003. **116**(Pt 13): p. 2763-74.
90. Wai, T. and T. Langer, *Mitochondrial Dynamics and Metabolic Regulation*. Trends Endocrinol Metab, 2016. **27**(2): p. 105-117.
91. Cao, Y.L., et al., *MFN1 structures reveal nucleotide-triggered dimerization critical for mitochondrial fusion*. Nature, 2017. **542**(7641): p. 372-376.
92. Qi, Y., et al., *Structures of human mitofusin 1 provide insight into mitochondrial tethering*. J Cell Biol, 2016. **215**(5): p. 621-629.
93. Dorn, G.W., M. Song, and K. Walsh, *Functional implications of mitofusin 2-mediated mitochondrial-SR tethering*. J Mol Cell Cardiol, 2015. **78**: p. 123-8.
94. Delettre, C., et al., *Nuclear gene OPA1, encoding a mitochondrial dynamin-related protein, is mutated in dominant optic atrophy*. Nat Genet, 2000. **26**(2): p. 207-10.
95. Anand, R., et al., *The i-AAA protease YME1L and OMA1 cleave OPA1 to balance mitochondrial fusion and fission*. J Cell Biol, 2014. **204**(6): p. 919-29.
96. van der Bliek, A.M., Q. Shen, and S. Kawajiri, *Mechanisms of mitochondrial fission and fusion*. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2013. **5**(6).
97. Chen, H., et al., *Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development*. J Cell Biol, 2003. **160**(2): p. 189-200.
98. Chen, Y., Y. Liu, and G.W. Dorn, *Mitochondrial fusion is essential for organelle function and cardiac homeostasis*. Circ Res, 2011. **109**(12): p. 1327-31.

99. Hall, A.R., et al., *Hearts deficient in both Mfn1 and Mfn2 are protected against acute myocardial infarction*. Cell Death Dis, 2016. **7**: p. e2238.
100. Chen, L., et al., *OPA1 mutation and late-onset cardiomyopathy: mitochondrial dysfunction and mtDNA instability*. J Am Heart Assoc, 2012. **1**(5): p. e003012.
101. Twig, G., et al., *Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy*. EMBO J, 2008. **27**(2): p. 433-46.
102. Song, M., et al., *Abrogating Mitochondrial Dynamics in Mouse Hearts Accelerates Mitochondrial Senescence*. Cell Metab, 2017. **26**(6): p. 872-883.e5.
103. Gottlieb, R.A. and D. Bernstein, *Mitochondrial remodeling: Rearranging, recycling, and reprogramming*. Cell Calcium, 2016. **60**(2): p. 88-101.
104. Suzuki, M., et al., *Novel structure of the N terminus in yeast Fis1 correlates with a specialized function in mitochondrial fission*. J Biol Chem, 2005. **280**(22): p. 21444-52.
105. Otera, H., et al., *Mff is an essential factor for mitochondrial recruitment of Drp1 during mitochondrial fission in mammalian cells*. J Cell Biol, 2010. **191**(6): p. 1141-58.
106. Ma, J.T., et al., *Effects of Dynamin-related Protein 1 Regulated Mitochondrial Dynamic Changes on Invasion and Metastasis of Lung Cancer Cells*. J Cancer, 2019. **10**(17): p. 4045-4053.
107. Ashrafian, H., et al., *A mutation in the mitochondrial fission gene Dnm1l leads to cardiomyopathy*. PLoS Genet, 2010. **6**(6): p. e1001000.
108. Kleele, T., et al., *Distinct fission signatures predict mitochondrial degradation or biogenesis*. Nature, 2021. **593**(7859): p. 435-439.
109. Ong, S.B., et al., *Inhibiting mitochondrial fission protects the heart against ischemia/reperfusion injury*. Circulation, 2010. **121**(18): p. 2012-22.
110. Wang, J., et al., *Mdivi-1 prevents apoptosis induced by ischemia-reperfusion injury in primary hippocampal cells via inhibition of reactive oxygen species-activated mitochondrial pathway*. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2014. **23**(6): p. 1491-9.
111. Baek, S.H., et al., *Inhibition of Drp1 Ameliorates Synaptic Depression, A $\beta$  Deposition, and Cognitive Impairment in an Alzheimer's Disease Model*. J Neurosci, 2017. **37**(20): p. 5099-5110.
112. Disatnik, M.H., et al., *Acute inhibition of excessive mitochondrial fission after myocardial infarction prevents long-term cardiac dysfunction*. J Am Heart Assoc, 2013. **2**(5): p. e000461.
113. Kane, L.A., et al., *PINK1 phosphorylates ubiquitin to activate Parkin E3 ubiquitin ligase activity*. J Cell Biol, 2014. **205**(2): p. 143-53.
114. Lazarou, M., et al., *The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy*. Nature, 2015. **524**(7565): p. 309-314.
115. Youle, R.J. and D.P. Narendra, *Mechanisms of mitophagy*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2011. **12**(1): p. 9-14.
116. Yogalingam, G., et al., *Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) phosphorylation by protein kinase C $\delta$  (PKC $\delta$ ) inhibits mitochondria elimination by lysosomal-like structures following ischemia and reoxygenation-induced injury*. J Biol Chem, 2013. **288**(26): p. 18947-60.
117. Hwang, S., M.H. Disatnik, and D. Mochly-Rosen, *Impaired GAPDH-induced mitophagy contributes to the pathology of Huntington's disease*. EMBO Mol Med, 2015. **7**(10): p. 1307-26.
118. Palikaras, K., et al., *Mitophagy and age-related pathologies: Development of new therapeutics by targeting mitochondrial turnover*. Pharmacol Ther, 2017. **178**: p. 157-174.
119. Sun, N., et al., *Measuring In Vivo Mitophagy*. Mol Cell, 2015. **60**(4): p. 685-96.

120. Nakai, A., et al., *The role of autophagy in cardiomyocytes in the basal state and in response to hemodynamic stress*. Nat Med, 2007. **13**(5): p. 619-24.
121. Zhu, H., et al., *Cardiac autophagy is a maladaptive response to hemodynamic stress*. J Clin Invest, 2007. **117**(7): p. 1782-93.
122. Klionsky, D.J., et al., *Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition)*. Autophagy, 2016. **12**(1): p. 1-222.
123. Campos, J.C., et al., *Exercise reestablishes autophagic flux and mitochondrial quality control in heart failure*. Autophagy, 2017. **13**(8): p. 1304-1317.
124. Campos, J.C., et al., *Exercise prevents impaired autophagy and proteostasis in a model of neurogenic myopathy*. Sci Rep, 2018. **8**(1): p. 11818.
125. Kubli, D.A., et al., *Parkin protein deficiency exacerbates cardiac injury and reduces survival following myocardial infarction*. J Biol Chem, 2013. **288**(2): p. 915-26.
126. Gong, G., et al., *Parkin-mediated mitophagy directs perinatal cardiac metabolic maturation in mice*. Science, 2015. **350**(6265): p. aad2459.
127. Matheoud, D., et al., *Parkinson's Disease-Related Proteins PINK1 and Parkin Repress Mitochondrial Antigen Presentation*. Cell, 2016. **166**(2): p. 314-327.
128. Tanaka, Y., et al., *Accumulation of autophagic vacuoles and cardiomyopathy in LAMP-2-deficient mice*. Nature, 2000. **406**(6798): p. 902-6.
129. Wu, J.J., et al., *Mitochondrial dysfunction and oxidative stress mediate the physiological impairment induced by the disruption of autophagy*. Aging (Albany NY), 2009. **1**(4): p. 425-37.
130. Bhuiyan, M.S., et al., *Enhanced autophagy ameliorates cardiac proteinopathy*. J Clin Invest, 2013. **123**(12): p. 5284-97.
131. Hamacher-Brady, A., N.R. Brady, and R.A. Gottlieb, *Enhancing macroautophagy protects against ischemia/reperfusion injury in cardiac myocytes*. J Biol Chem, 2006. **281**(40): p. 29776-87.
132. Sala-Mercado, J.A., et al., *Profound cardioprotection with chloramphenicol succinate in the swine model of myocardial ischemia-reperfusion injury*. Circulation, 2010. **122**(11 Suppl): p. S179-84.
133. Huang, C., et al., *Preconditioning involves selective mitophagy mediated by Parkin and p62/SQSTM1*. PLoS One, 2011. **6**(6): p. e20975.
134. Andres, A.M., et al., *Mitophagy is required for acute cardioprotection by simvastatin*. Antioxid Redox Signal, 2014. **21**(14): p. 1960-73.
135. Chagas, C., *Nova tripanozomíaze humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do Schizotrypanum cruzi n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem*, in *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, I.O. Cruz, Editor. 1909: Rio de Janeiro.
136. World Health Organization, W. *Chagas disease (American trypanosomiasis)*. [cited 2018; Available from: <http://www.who.int/chagas/disease/en/>].
137. Martins-Melo, F.R., et al., *Prevalence of Chagas disease in Brazil: a systematic review and meta-analysis*. Acta Trop, 2014. **130**: p. 167-74.
138. Bern, C., et al., *Trypanosoma cruzi and Chagas' Disease in the United States*. Clin Microbiol Rev, 2011. **24**(4): p. 655-81.
139. Hotez, P.J., *Neglected infections of poverty in the United States of America*. PLoS Negl Trop Dis, 2008. **2**(6): p. e256.
140. Cruz-Reyes, A. and J.M. Pickering-López, *Chagas disease in Mexico: an analysis of geographical distribution during the past 76 years--a review*. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2006. **101**(4): p. 345-54.
141. Basile, L., et al., *Chagas disease in European countries: the challenge of a surveillance system*. Euro Surveill, 2011. **16**(37).



142. Strasen, J., et al., *Epidemiology of Chagas disease in Europe: many calculations, little knowledge*. Clin Res Cardiol, 2014. **103**(1): p. 1-10.
143. Yasukawa, K., *Blood donor screening for Trypanosoma cruzi infection in Japan*. Transfusion, 2014. **54**(3): p. 745-6.
144. Rey, L., *Parasitologia*. 4<sup>a</sup> ed. 2008, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
145. Rassi, A. and W.C. Little, *Chagas' heart disease*. Clin Cardiol, 2000. **23**(12): p. 883-9.
146. Punukollu, G., et al., *Clinical aspects of the Chagas' heart disease*. Int J Cardiol, 2007. **115**(3): p. 279-83.
147. Pérez-Molina, J.A. and I. Molina, *Chagas disease*. Lancet, 2018. **391**(10115): p. 82-94.
148. Barrett, M.P., et al., *The trypanosomiases*. Lancet, 2003. **362**(9394): p. 1469-80.
149. Cançado, J.R., *Criteria of Chagas disease cure*. Mem Inst Oswaldo Cruz, 1999. **94 Suppl 1**: p. 331-5.
150. Cerecetto, H. and M. González, *Chemotherapy of Chagas' disease: status and new developments*. Curr Top Med Chem, 2002. **2**(11): p. 1187-213.
151. Rodrigues Coura, J. and S.L. de Castro, *A critical review on Chagas disease chemotherapy*. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2002. **97**(1): p. 3-24.
152. Libisch, M.G., et al., *Early*. Front Microbiol, 2018. **9**: p. 1889.
153. Wen, J.J., et al., *Tissue-specific oxidative imbalance and mitochondrial dysfunction during Trypanosoma cruzi infection in mice*. Microbes Infect, 2008. **10**(10-11): p. 1201-9.
154. Mukherjee, S., et al., *Microarray analysis of changes in gene expression in a murine model of chronic chagasic cardiomyopathy*. Parasitol Res, 2003. **91**(3): p. 187-96.
155. Garg, N., et al., *Gene expression analysis in mitochondria from chagasic mice: alterations in specific metabolic pathways*. Biochem J, 2004. **381**(Pt 3): p. 743-52.
156. Uyemura, S.A., et al., *Heart FoF1-ATPase changes during the acute phase of Trypanosoma cruzi infection in rats*. Mol Cell Biochem, 1996. **165**(2): p. 127-33.
157. Vyatkina, G., et al., *Impaired mitochondrial respiratory chain and bioenergetics during chagasic cardiomyopathy development*. Biochim Biophys Acta, 2004. **1689**(2): p. 162-73.
158. Uyemura, S.A., S. Albuquerque, and C. Curti, *Energetics of heart mitochondria during acute phase of Trypanosoma cruzi infection in rats*. Int J Biochem Cell Biol, 1995. **27**(11): p. 1183-9.
159. Báez, A.L., et al., *Chronic indeterminate phase of Chagas' disease: mitochondrial involvement in infection with two strains*. Parasitology, 2013. **140**(3): p. 414-21.
160. Wen, J.J., et al., *Phenyl-alpha-tert-butyl nitron reverses mitochondrial decay in acute Chagas' disease*. Am J Pathol, 2006. **169**(6): p. 1953-64.
161. Wen, J.J. and N. Garg, *Oxidative modification of mitochondrial respiratory complexes in response to the stress of Trypanosoma cruzi infection*. Free Radic Biol Med, 2004. **37**(12): p. 2072-81.
162. Blagih, J. and R.G. Jones, *Polarizing macrophages through reprogramming of glucose metabolism*. Cell Metab, 2012. **15**(6): p. 793-5.
163. Teixeira, M.M., R.T. Gazzinelli, and J.S. Silva, *Chemokines, inflammation and Trypanosoma cruzi infection*. Trends Parasitol, 2002. **18**(6): p. 262-5.
164. Garg, N., V.L. Popov, and J. Papaconstantinou, *Profiling gene transcription reveals a deficiency of mitochondrial oxidative phosphorylation in Trypanosoma*

- cruci-infected murine hearts: implications in chagasic myocarditis development.* Biochim Biophys Acta, 2003. **1638**(2): p. 106-20.
165. Lentini, G., N. Dos Santos Pacheco, and B.A. Burleigh, *Targeting host mitochondria: A role for the Trypanosoma cruzi amastigote flagellum.* Cell Microbiol, 2018. **20**(2).
  166. O'Leary, M.F., et al., *Adaptive plasticity of autophagic proteins to denervation in aging skeletal muscle.* Am J Physiol Cell Physiol, 2013. **304**(5): p. C422-30.
  167. Carnio, S., et al., *Autophagy impairment in muscle induces neuromuscular junction degeneration and precocious aging.* Cell Rep, 2014. **8**(5): p. 1509-21.
  168. Fernandes, M.C., et al., *Extracellular amastigotes of Trypanosoma cruzi are potent inducers of phagocytosis in mammalian cells.* Cell Microbiol, 2013. **15**(6): p. 977-91.
  169. Towbin, H., T. Staehelin, and J. Gordon, *Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1979. **76**(9): p. 4350-4.
  170. Pernas, L., et al., *Mitochondria Restrict Growth of the Intracellular Parasite Toxoplasma gondii by Limiting Its Uptake of Fatty Acids.* Cell Metab, 2018. **27**(4): p. 886-897.e4.
  171. Wing, S.S., S.H. Lecker, and R.T. Jagoe, *Proteolysis in illness-associated skeletal muscle atrophy: from pathways to networks.* Crit Rev Clin Lab Sci, 2011. **48**(2): p. 49-70.
  172. Glass, D.J., *Molecular mechanisms modulating muscle mass.* Trends Mol Med, 2003. **9**(8): p. 344-50.
  173. Nicoletti, I., et al., *Skeletal muscle abnormalities in chronic heart failure patients: relation to exercise capacity and therapeutic implications.* Congest Heart Fail, 2003. **9**(3): p. 148-54.
  174. Tisdale, M.J., *Cancer cachexia.* Curr Opin Gastroenterol, 2010. **26**(2): p. 146-51.
  175. Harcourt, L.J., et al., *Low dose formoterol administration improves muscle function in dystrophic mdx mice without increasing fatigue.* Neuromuscul Disord, 2007. **17**(1): p. 47-55.
  176. Muller, F.L., et al., *Denervation-induced skeletal muscle atrophy is associated with increased mitochondrial ROS production.* Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2007. **293**(3): p. R1159-68.
  177. Caron, A.Z., et al., *A novel hindlimb immobilization procedure for studying skeletal muscle atrophy and recovery in mouse.* J Appl Physiol (1985), 2009. **106**(6): p. 2049-59.
  178. Gopalakrishnan, R., et al., *Muscle volume, strength, endurance, and exercise loads during 6-month missions in space.* Aviat Space Environ Med, 2010. **81**(2): p. 91-102.
  179. Ott, C. and T. Grune, *Protein oxidation and proteolytic signalling in aging.* Curr Pharm Des, 2014. **20**(18): p. 3040-51.
  180. Tang, H., et al., *Smad3 initiates oxidative stress and proteolysis that underlies diaphragm dysfunction during mechanical ventilation.* Sci Rep, 2017. **7**(1): p. 14530.
  181. Fulle, S., et al., *Age-dependent imbalance of the antioxidative system in human satellite cells.* Exp Gerontol, 2005. **40**(3): p. 189-97.
  182. Tiago, T., et al., *Peroxynitrite induces F-actin depolymerization and blockade of myosin ATPase stimulation.* Biochem Biophys Res Commun, 2006. **342**(1): p. 44-9.

183. Prochniewicz, E., et al., *Functional, structural, and chemical changes in myosin associated with hydrogen peroxide treatment of skeletal muscle fibers*. Am J Physiol Cell Physiol, 2008. **294**(2): p. C613-26.
184. Coto Montes, A., et al., *Potential early biomarkers of sarcopenia among independent older adults*. Maturitas, 2017. **104**: p. 117-122.
185. Hummel, S.L., et al., *Thirty-day outcomes in Medicare patients with heart failure at heart transplant centers*. Circ Heart Fail, 2010. **3**(2): p. 244-52.
186. Hulbert, A.J., et al., *Life and death: metabolic rate, membrane composition, and life span of animals*. Physiol Rev, 2007. **87**(4): p. 1175-213.
187. Pipinos, I.I., et al., *Mitochondrial defects and oxidative damage in patients with peripheral arterial disease*. Free Radic Biol Med, 2006. **41**(2): p. 262-9.
188. Bennett, G.J. and Y.K. Xie, *A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man*. Pain, 1988. **33**(1): p. 87-107.
189. Ingalls, C.P., et al., *Dihydropyridine and ryanodine receptor binding after eccentric contractions in mouse skeletal muscle*. J Appl Physiol (1985), 2004. **96**(5): p. 1619-25.
190. Ryan, T.E., et al., *Mitochondrial therapy improves limb perfusion and myopathy following hindlimb ischemia*. J Mol Cell Cardiol, 2016. **97**: p. 191-196.
191. Zhang, D., et al., *Expression of myostatin RNA transcript and protein in gastrocnemius muscle of rats after sciatic nerve resection*. J Muscle Res Cell Motil, 2006. **27**(1): p. 37-44.
192. Dow, D.E., et al., *Number of contractions to maintain mass and force of a denervated rat muscle*. Muscle Nerve, 2004. **30**(1): p. 77-86.
193. Pigna, E., et al., *Denervation does not Induce Muscle Atrophy Through Oxidative Stress*. Eur J Transl Myol, 2017. **27**(1): p. 6406.
194. Cheema, N., et al., *Apoptosis and necrosis mediate skeletal muscle fiber loss in age-induced mitochondrial enzymatic abnormalities*. Aging Cell, 2015. **14**(6): p. 1085-93.
195. Kletzien, H., et al., *Age-related effect of cell death on fiber morphology and number in tongue muscle*. Muscle Nerve, 2018. **57**(1): p. E29-E37.
196. McClung, J.M., et al., *Caspase-3 regulation of diaphragm myonuclear domain during mechanical ventilation-induced atrophy*. Am J Respir Crit Care Med, 2007. **175**(2): p. 150-9.
197. Schwartz, L.M., *Skeletal Muscles Do Not Undergo Apoptosis During Either Atrophy or Programmed Cell Death-Revisiting the Myonuclear Domain Hypothesis*. Front Physiol, 2018. **9**: p. 1887.
198. Powers, S.K., A.J. Smuder, and A.R. Judge, *Oxidative stress and disuse muscle atrophy: cause or consequence?* Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2012. **15**(3): p. 240-5.
199. Abruzzo, P.M., et al., *Oxidative stress in the denervated muscle*. Free Radic Res, 2010. **44**(5): p. 563-76.
200. Carraro, U., D. Coletti, and H. Kern, *The Ejtm Specials "The Long-Term Denervated Muscle"*. Eur J Transl Myol, 2014. **24**(1): p. 3292.
201. Jung, H.Y., et al., *Myricetin improves endurance capacity and mitochondrial density by activating SIRT1 and PGC-1 $\alpha$* . Sci Rep, 2017. **7**(1): p. 6237.
202. Partridge, L. and D. Gems, *Mechanisms of ageing: public or private?* Nat Rev Genet, 2002. **3**(3): p. 165-75.
203. HARMAN, D., *Ageing: a theory based on free radical and radiation chemistry*. J Gerontol, 1956. **11**(3): p. 298-300.
204. Hartl, F.U., *Cellular Homeostasis and Aging*. Annu Rev Biochem, 2016. **85**: p. 1-4.

205. Sohal, R.S. and B.H. Sohal, *Hydrogen peroxide release by mitochondria increases during aging*. Mech Ageing Dev, 1991. **57**(2): p. 187-202.
206. Asensi, M., et al., *Ratio of reduced to oxidized glutathione as indicator of oxidative stress status and DNA damage*. Methods Enzymol, 1999. **299**: p. 267-76.
207. Capel, F., et al., *Due to reverse electron transfer, mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> release increases with age in human vastus lateralis muscle although oxidative capacity is preserved*. Mech Ageing Dev, 2005. **126**(4): p. 505-11.
208. Navarro, A. and A. Boveris, *Rat brain and liver mitochondria develop oxidative stress and lose enzymatic activities on aging*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2004. **287**(5): p. R1244-9.
209. Pham-Huy, L.A., H. He, and C. Pham-Huy, *Free radicals, antioxidants in disease and health*. Int J Biomed Sci, 2008. **4**(2): p. 89-96.
210. Chung, H.Y., et al., *The molecular inflammatory process in aging*. Antioxid Redox Signal, 2006. **8**(3-4): p. 572-81.
211. Cutler, R.G., *Oxidative stress profiling: part I. Its potential importance in the optimization of human health*. Ann N Y Acad Sci, 2005. **1055**: p. 93-135.
212. Gil, L., et al., *Age-associated analysis of oxidative stress parameters in human plasma and erythrocytes*. Free Radic Res, 2006. **40**(5): p. 495-505.
213. Papac-Milicevic, N., C.J. Busch, and C.J. Binder, *Malondialdehyde Epitopes as Targets of Immunity and the Implications for Atherosclerosis*. Adv Immunol, 2016. **131**: p. 1-59.
214. Sultana, R., M. Perluigi, and D.A. Butterfield, *Lipid peroxidation triggers neurodegeneration: a redox proteomics view into the Alzheimer disease brain*. Free Radic Biol Med, 2013. **62**: p. 157-169.
215. Barrera, G., et al., *Role of 4-hydroxynonenal-protein adducts in human diseases*. Antioxid Redox Signal, 2015. **22**(18): p. 1681-702.
216. Sendur, O.F., et al., *Antioxidant status in patients with osteoporosis: a controlled study*. Joint Bone Spine, 2009. **76**(5): p. 514-8.
217. Petersen, D.R. and J.A. Doorn, *Reactions of 4-hydroxynonenal with proteins and cellular targets*. Free Radic Biol Med, 2004. **37**(7): p. 937-45.
218. Kunz, W.S., *Different metabolic properties of mitochondrial oxidative phosphorylation in different cell types--important implications for mitochondrial cytopathies*. Exp Physiol, 2003. **88**(1): p. 149-54.
219. Cancherini, D.V., B.B. Queliconi, and A.J. Kowaltowski, *Pharmacological and physiological stimuli do not promote Ca<sup>2+</sup>-sensitive K<sup>+</sup> channel activity in isolated heart mitochondria*. Cardiovasc Res, 2007. **73**(4): p. 720-8.
220. Fernandes, M.C. and N.W. Andrews, *Host cell invasion by Trypanosoma cruzi: a unique strategy that promotes persistence*. FEMS Microbiol Rev, 2012. **36**(3): p. 734-47.
221. Ward, A.I., et al., *Analysis of Trypanosoma cruzi Persistence Foci at Single-Cell Resolution*. mBio, 2020. **11**(4).
222. Arias-Del-Angel, J.A., R.G. Manning-Cela, and M. Santillán, *Dynamics of Mammalian Cell Infection by*. Front Microbiol, 2020. **11**: p. 559660.
223. Miedel, C.J., et al., *Assessment of Spontaneous Alternation, Novel Object Recognition and Limb Clasping in Transgenic Mouse Models of Amyloid- $\beta$  and Tau Neuropathology*. J Vis Exp, 2017(123).
224. Grant, D.M., *Detoxification pathways in the liver*. J Inherit Metab Dis, 1991. **14**(4): p. 421-30.
225. Sohal, R.S. and A. Dubey, *Mitochondrial oxidative damage, hydrogen peroxide release, and aging*. Free Radic Biol Med, 1994. **16**(5): p. 621-6.

226. Perna, G., et al., *Are Anxiety Disorders Associated with Accelerated Aging? A Focus on Neuroprogression*. *Neural Plast*, 2016. **2016**: p. 8457612.
227. Joshi, A.U., et al., *Aldehyde dehydrogenase 2 activity and aldehydic load contribute to neuroinflammation and Alzheimer's disease related pathology*. *Acta Neuropathol Commun*, 2019. **7**(1): p. 190.