

PAPEL DO SISTEMA IMUNE NA DOENÇA DE CHAGAS – UMA BREVE REVISÃO

THE ROLE OF IMMUNE SYSTEM IN CHAGAS DISEASE – A SHORT REVIEW

Autores

George Kemil Abdalla¹
 Eduardo Elias Vieira de Carvalho²;
 Dayana Pousa Siqueira Abrahão¹;
 Douglas Reis Abdalla^{1*}

Resumo

Introdução: Aumentar a taxa de sobrevida a fim de reduzir os efeitos de um tratamento tardio, aliviar o sofrimento físico, psicossocial, espiritual, e regressar a criança de volta à sociedade com qualidade de vida são os propósitos dos tratamentos atuais para o câncer. **Objetivo:** analisar as evidências disponíveis sobre o abalo emocional do infante-juvenil diagnosticado com câncer, os cuidados paliativos utilizados pela equipe da saúde, e sua influência no tratamento e qualidade de vida dos pacientes. **Métodos:** A busca dos estudos primários da revisão integrativa foi realizada nas bases de dados US National Library of Medicine National Institutes of Health e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde. **Resultados:** A amostra foi composta de 21 estudos primários, publicados entre janeiro de 2005 e agosto de 2015, subdivididos em dois elos. O primeiro elo analisa a influência que o abalo emocional provocado pela alteração do estado de saúde do infante-juvenil pode ocasionar como prejuízo no tratamento e na vitalidade do mesmo. Já o segundo elo busca explorar de que modo os cuidados paliativos podem interferir na emoção do paciente frente o tratamento e o impacto causado mediante às suas respectivas emoções e suas possíveis melhorias de humor e qualidade de vida. **Conclusão:** Os resultados das pesquisas constataram avanços significativos a partir das diversas formas de intervir com atividades lúdicas e métodos de relaxamento, relacionando-os à redução dos sintomas depressivos e melhora da qualidade de vida dos pacientes. Tais intervenções fortalecem as estratégias de sobrevivência do infante-juvenil e aliviam o sofrimento causado pela incerteza de seu prognóstico e das dores causadas pelo câncer.

Palavras-chave: Chagas; T. cruzi; Resposta Imune

Filiação

1. Cursos de Saúde – Faculdade de Talentos Humanos, Uberaba-MG
2. Curso de Fisioterapia, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba (MG)

Autor Correspondente

Douglas Reis Abdalla,
 FACTHUS Campus III
 Av. Tônico dos Santos, 333
 B. São Cristóvão-38100-000,
 Uberaba – MG
 Fone: (34) 3311-7400
 E-mail: drabdalla@facthus.edu.br

Abstract

Introduction: The increase in overall survival rates, the reduction of negative effects of late treatments, the relief of physical, psychosocial, spiritual suffering, and the return of children back to society with a better quality of life are among the goals of modern cancer treatments. **Aim:** to analyze the emotional disturb in children and adolescents diagnosed with cancer, and the influence of palliative care provided by health staff on the treatment and quality of life of patients. **Methods:** This search for primary studies in the form of an integrative review was carried out in the following databases: the US National Library of Medicine National Institutes of Health and the Latin American and Caribbean Health Sciences. **Results:** The sample consisted of 21 primary studies published between January 2005 and August 2015, divided into two groups. The first group comprises studies that analyzed the bad influence that the emotional upheaval caused by the change of the children's health status can have on their lives. The second research group explores how palliative care can improve the patients emotional perspectives facing the treatment and the impact of these emotions on overall life quality. **Conclusion:** The results of the research have revealed significant advances from the different ways of intervening with play activities and relaxation methods, relating them to the reduction of depressive symptoms and improvement of patients' quality of life. Such interventions strengthen children's survival strategies and alleviate the suffering caused by the uncertainty of their prognosis and the pains caused by cancer.

Key-words: Chagas; T. cruzi; Immune response.

INTRODUÇÃO

Considerada como uma das mais sérias doenças infecto-parasitárias na América Latina, segundo a Organização Mundial de Saúde, apresentando cerca de 12 a 14 milhões de pessoas infectadas e, além disso, cerca de 75 a 90 milhões de pessoas expostas à infecção (WHO, 2016a; WHO, 2016b), a doença de Chagas foi descrita inicialmente por Carlos Justiniano Chagas em 1909, na região norte do estado de Minas Gerais, na cidade de Lassance, onde este realizava a campanha anti-palúdica

na estrada de ferro Central do Brasil (CHAGAS, 1909), denominando inicialmente o agente etiológico como *Schizotrypanum cruzi*. Já naquela época, Chagas já propunha esforço por parte das autoridades no combate a endemia no contexto sanitário e social.

Segundo relatos históricos (CHAGAS, 1909), podemos observar que o pesquisador brasileiro além de descobrir o agente etiológico, atualmente conhecido por *Trypanosoma cruzi*, buscou também, entender a biologia nos hospedeiros invertebrado e vertebrado, suas formas

Tabela 1: Hipóteses sobre a Patogênese da doença de Chagas

Mecanismo de Lesão Celular	Autor(es)
Persistência parasitária e resposta autoimune levaria a progressivos danos celulares	LEON; ENGMAN, 2003 CUNHA NETO, 2008
Presença de grande quantidade de infiltrado inflamatório poderia ser benéfico por destruir os parasitas, mas causaria a destruição tecidual	REIS et al., 1997 ALIBERTI et al., 2001 MICHAILOWSKY et al., 2001 ABDALLA et al., 2008

de transmissão, morfologias em cada um destes, sendo inicialmente descrita a transmissão vetorial pelo *Triatoma infestans*, popularmente chamado de “barbeiro”, bem como seus reservatórios e diversos aspectos de sua patogenia e sintomatologia (DIAS, 1993).

Dados da Organização Mundial de Saúde em 2006 demonstram que são extremamente raros os casos agudos da doença de Chagas, havendo drástica redução dos casos de indivíduos infectados, anteriormente comentado por Dias; Silveira (1996) como resultado do controle do vetor e à significativa diminuição da população rural, além do número de ranchos rurais e, ao maior controle dos bancos de sangue. Porém há registros de 13 milhões de pessoas vivendo nas Américas Central e Sul infectadas por *Trypanosoma cruzi* e cerca de 14 mil mortes anuais (VELOSO et al., 2008). Ainda, outro fator importante e preocupante, refere-se ao risco adicional nas transfusões de sangue e transplante de órgãos, que tem aumentado os casos da doença, recentemente, na Europa e Estados Unidos (ESPER et al., 2015).

Entretanto, de acordo com a resolução 51.14 (WHO, 2007), havia uma visão otimista de que os importantes avanços no combate a endemia chagásica nas últimas três décadas a permitiriam declarar que haveria a possibilidade de a doença de Chagas ser erradicada a partir de 2010, o que segundo Dias; Silveira; Schofield (2002) consideraram, tal condição, altamente positiva em termos econômicos, o que na prática não veio a acontecer. A consolidação desta perspectiva, como sempre, passará por vontade política e permanente atenção das entidades de fiscalização sanitária e dos profissionais em saúde.

FASES CLÍNICAS E FORMAS DA DOENÇA DE CHAGAS

De acordo com a forma de transmissão do *Trypanosoma cruzi* a doença de Chagas (DC) pode ser: adquirida e congênita, sendo a primeira a mais frequente. Na DC adquirida identificam-se duas fases: a aguda e a crônica.

Durante a fase aguda, em adultos, muitas vezes o diagnóstico é prejudicado pelos sintomas não serem específicos, passando-se na maioria dos casos, despercebidos. No entanto, em pacientes imunossuprimidos, crianças e idosos, podemos observar, em alguns casos, meningoencefalite e cardiopatia descompensada, além de no exame direto de sangue, verificar-se alta parasitemia. A seguir temos a fase crônica, que pode apresentar-se sem sinais e sintomas clínicos, a qual chamamos de Forma Indeterminada da Doença, porém, aproximadamente 10 a 30 anos pós-infecção algumas pessoas poderiam vir a desenvolver sintomas, podendo apresentar-se nas Formas Cardíaca, Digestiva, Nervosa e com Exacerbações Agudas (CHAGAS, 1910; PRATA, 1990).

Na DC os órgãos mais estudados, seja em modelos animais ou seres humanos são o coração, cólon e esôfago, existindo várias hipóteses sobre a patogênese desta doença, como podemos verificar na tabela 1.

PAPEL DO SISTEMA IMUNE NA DOENÇA DE CHAGAS

Segundo Corrêa Oliveira et al., 1999, as manifestações clínicas observadas na DC no ser humano,

devem-se, em grande parte, à resposta imune dirigida ao parasita. O sistema imune está envolvido tanto na redução da carga parasitária, mas também, poderia estar envolvido no aparecimento de lesões clínicas na fase crônica (Brodsky; Barral Neto, 1996; Bilate; Cunha Neto, 2008). No homem, a infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, assim como em outras infecções por microorganismos patogênicos intracelulares, sensibiliza diferentes compartimentos do sistema imune, levando ao aparecimento de respostas humorais e celulares específicas contra o parasita (Scharfstein; Morrot, 1999; Teixeira et al., 2002), onde a diminuição dos parasitas no sangue e a resistência a re-infecção caracterizam a infecção humana e de outros modelos experimentais como camundongos (Millar; Kahn, 2000).

Os estudos utilizando camundongos como modelo experimental tem permitido monitorizar as múltiplas alterações nos diversos órgãos e tecidos, demonstrando as mais diversas variações conforme a cepa do parasita, através de sua virulência, patogenicidade e seu tropismo (Scharfstein; Morrot, 1999). Tem sido demonstrado que na fase aguda da infecção por diferentes cepas, as lesões histopatológicas decorrem diretamente do parasitismo tissular. Abdalla et al., 2008 observaram no tecido cardíaco que os animais que apresentavam uma maior densidade parasitária eram os que possuíam o maior grau de lesões em nível de miocárdio. Há evidências de que as células parasitadas ao se romperem após a evolução das formas intracelulares liberam os produtos antigênicos parasitários ocorrendo localmente à formação de imunocomplexos (Brenner; Gazzinelli, 1997; Kierszenbaum, 2005) com fixação do complemento e intensa reação inflamatória em que, além dos macrófagos, participam também os PMN neutrófilos, com focos inflamatórios confluentes e a destruição de células não parasitadas (Andrade, 1996; Rowland; Kuhn, 1978; Cunningham; Kuhn, 1980; Tarleton; Kuhn, 1984; Tarleton; Scott, 1987; Russo et al., 1988; Andrade et al., 1985; Melo, 2008).

A infecção experimental aguda pelo parasita causa, no modelo murino, uma ativação de Linfócito B, com hiperprodução de imunoglobulina (Ig), e nessa fase, a resposta contra antígenos parasitários representa apenas uma pequena fração da Ig total produzida (Minoprio et al., 1989). O aparecimento de anticorpos específicos está relacionado com a queda da parasitemia e os isotipos IgG₁, IgG_{2a} e IgG_{2b} estão associados com anticorpos envolvidos na eliminação de formas sangüíneas do parasita (Brodsky et al., 1989). No entanto, o estudo de Zuniga et al., 2005 demonstraram que a depleção de células B imaturas favorece o aumento das taxas de apoptose e como consequência a sobrevivência do parasita.

Anticorpos e citocinas produzidas especificamente em resposta aos antígenos parasitários potencializam as atividades antiparasitárias de todas estas células efectoras (Reis et al., 1997).

Marinho et al., 1999, demonstraram que a carga parasitária na fase aguda é decisiva no desenvolvimento

da patologia, do parasitismo e da ativação do sistema imune na fase crônica.

Papel das citocinas na resposta imune ao parasita

A invasão de diversos tipos celulares, em especial de macrófagos, pelo *Trypanosoma cruzi* inicia uma série de interações moleculares que mobilizam a resposta imune inata do hospedeiro (Burleigh; Andrews, 1998; Corrêa Oliveira et al., 1999; Freire de Lima et al., 2000; Zauza; Borges Pereira, 2001; Souza et al., 2007). Macrófagos secretam a citocina IL-12, que ativa as células apresentadoras de antígeno, Natural Killer (NK), a produzir IFN- γ (Gazzinelli et al., 1992; Lieke et al., 2006). Esta citocina, então, age reciprocamente sobre os macrófagos, juntamente com o auxílio de TNF- α , ativando a expressão da enzima óxido nítrico sintase induzida (NOSi), que desta forma produz óxido nítrico (NO), um produto do metabolismo da L-arginina, para a atividade microbicida a partir da produção de metabólitos reativos do oxigênio (Souza et al., 2007; Lieke et al., 2006; Chandra et al., 2002). Quando ativados por citocinas, os macrófagos liberam ainda mais superóxidos e peróxido de hidrogênio do que os resistentes normais e os mecanismos de destruição O₂-independentes também são potencializados (Clark; Rockett, 1996), muito provavelmente pela estabilidade do RNAm da iNOs do hospedeiro (Bergeron; Olivier, 2006).

Na literatura podemos verificar vários trabalhos abordando a importância da citocina IFN- γ na resistência à infecção por *Trypanosoma cruzi*, tanto em modelos animais, quanto em seres humanos apresentando as formas indeterminada e cardíaca da DC. Torrico et al., 1991, demonstraram que animais resistentes tornam-se susceptíveis quando tratados com anticorpos anti-IFN- γ . Da mesma forma Antúnez; Cardoni, 2001, demonstraram que a síntese desta citocina e ativação de macrófagos estão diretamente relacionados à resistência dos animais à infecção chagásica. Entretanto, o estudo de Martins et al., 2000, mostra que camundongos resistentes e susceptíveis secretam quantidades semelhantes desta citocina quando infectados pelo *Trypanosoma cruzi*, fato este que corrobora com os dados de Souza et al., 2007, demonstrando que indivíduos chagásicos nas formas cardíaca e indeterminada da doença apresentam níveis semelhantes de IFN- γ e TNF- α . No entanto, outros estudos demonstraram que animais tratados com o IFN- γ , têm a capacidade de inibição da replicação do parasita *in vitro*, e também, empregando-se linhagens de macrófagos e de fibroblastos (Pinge Filho et al., 1999; Corrêa Oliveira et al., 1999).

De acordo com os estudos de Lieke et al., 2006 e Costa et al., 2006, o papel protetor do IFN- γ está diretamente relacionado com a síntese de NO, no entanto, independe dos outros tipos de IFN (IFN- α e IFN- β). Anteriormente, Hölscher et al., 1998, também puderam demonstrar a importância do IFN- γ , utilizando camundongos deficientes em IFN- γ e iNOs, demonstrando que ambos animais apresentavam

susceptibilidade à infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. Este resultado, levou os pesquisadores a concluir que quanto o IFN- γ e NO mediado pela iNOs, são cruciais para a atividade tripanomicida dos macrófagos e sobrevivência dos camundongos na fase aguda da infecção chagásica.

Além disso, o estudo de Duthie; Kahn, 2006, demonstra a importância do IFN- γ na proteção a esta infecção ao estimular células da resposta imune inata e adaptativa. Ainda, o trabalho de Abrahamsohn; Da Silva; Coffman, 2000, reforça a importância das citocinas Th₁ para a resistência da infecção *in vivo*, ao tratar camundongos com anti-IFN- γ , anti-TNF- α e anti-IL-12, que acabou levando a um agravamento da doença.

Martins *et al.*, 1999, utilizando camundongos Knock-out para IFN- γ , investigaram o papel desta citocina na indução de apoptose e proteção do hospedeiro durante a infecção aguda pelo *Trypanosoma cruzi*. Confirmaram que o IFN- γ tem um papel crucial na defesa do hospedeiro ao parasita, controlando a resposta imune, pela indução de NO, o qual leva a indução de apoptose durante a infecção experimental pelo parasita, com a morte deste, promovendo uma estabilidade da doença, levando a fase crônica da infecção em camundongos.

Bilate; Cunha-Neto, 2008, relatam em seu estudo, que o infiltrado inflamatório encontrado no tecido cardíaco de pacientes com cardiomiopatia por Doença de Chagas contém macrófagos, células T CD8+ expressando granzimas e células T CD4. Em outros relatos de estudos mostram que pacientes do grupo com cardiomiopatia por doença de Chagas com perfil de citocina Th₁, como IFN- γ suprimem citocinas de tipo Th₂, como IL-4, e elevados níveis plasmáticos de TNF- α corroboram com essa supressão. Além disso, células mononucleares do sangue periférico de pacientes crônicos produzem mais IFN- γ e menos IL-10, reforçando a hipótese de que os pacientes com cardiomiopatia por doença de Chagas exacerbam uma resposta imune de perfil Th₁.

Da mesma maneira, os estudos de Sardinha *et al.*, 2006; Reyes *et al.*, 2006, demonstram que a deficiência das citocinas Th₁ como IFN- γ , TNF- α e IL-12, além de macrófagos em camundongos é fator importante de susceptibilidade à infecção, assim como no estudo de Ferraz *et al.*, 2007, que demonstrou a importância destas citocinas para o melhor resultado do tratamento da doença com as drogas Posaconazole e Benznidazole.

No entanto, não podemos creditar importância apenas ao IFN- γ pela resistência e proteção contra a infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. Hunther; Sliffer; Araújo, 1996, estudaram o papel da IL-12 na resposta imune na infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, utilizando camundongos BALB/c infectados com a cepa Tulahuen. Observaram que a administração de IL-12 para camundongos infectados com o *Trypanosoma cruzi* resultou em uma redução na parasitemia e um atraso no tempo de morte destes animais. Além disso, a neutralização de IL-12 endógena resultou em um aumento na parasitemia, bem como uma diminuição dos níveis séricos de IFN- γ , demonstrando que o efeito protetivo da IL-12 é dependente do IFN- γ e TNF- α . Sendo assim,

podemos observar que estas citocinas não estão atuando isoladamente, mas de forma sinérgica.

A citocina TNF- α também tem, isoladamente, um importante papel no processo preparatório da imunidade adquirida, incluindo a indução da expressão de adesinas, que localizam os sítios de infecção para os leucócitos do sangue, a partir da parede endotelial. O TNF- α também representa um mecanismo inato de induzir a maturação final e migração de células dendríticas da pele e mucosas para órgãos linfóides, onde iniciarão a ativação e expansão de clones de leucócitos específicos para antígenos microbianos (Fearon; Locksley, 1996).

Recentemente, Andrade; Magalhães; Pessina, 2008, observaram a importância do TNF- α no desenvolvimento da fase aguda da doença de Chagas em camundongos C3H/He infectados com a cepa Peruvian. Neste estudo puderam observar que apesar desta citocina ser importante na sobrevivência do animal por favorecer a diminuição da parasitemia por destruição do parasita, paradoxalmente, induziria a necrose de órgãos como o coração, elevando a taxa de mortalidade destes animais. Propuseram, desta forma, uma terapia adjuvante com uma droga inibidora desta citocina, pentoxifilina, para diminuir os efeitos colaterais desta citocina e diminuir as áreas de necrose tecidual e favorecer a destruição do parasita via TNF- α .

A citocina IL-6 também apresenta papel interessante no que diz respeito a resistência e sinalização de comprometimento causados pelas lesões cardíacas na doença de Chagas, como observado por Gao; Pereira, 2002, ao verificarem que os níveis desta citocina elevados favoreciam os animais infectados por diminuir o pico de parasitemia, no entanto, havia uma migração maior de parasitas para o tecido cardíaco. Por outro lado, níveis elevados dessa citocina associada a maiores níveis séricos de proteína C reativa poderiam estar relacionados a maior gravidade de lesões no parênquima cardíaco de indivíduos do sexo masculino em um recente estudo realizado por López *et al.*, 2006.

Em seus estudos, Saeftel; Fleischer; Hoerauf, 2001, investigaram a produção de NO em todas as fases da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, utilizando camundongos BALB/c tratados em intervalos de tempo após a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* com inibidores da iNOs, aminoguanidina ou L-NIL. Observaram que os animais tratados no início da infecção resultaram em 100% de morte, e que os tratados após a fase aguda todos os animais sobreviveram, sugerindo que o NO é essencial no controle da infecção aguda pelo *Trypanosoma cruzi*.

As propriedades efetoras exibidas pelos macrófagos também podem ser apresentadas pelos neutrófilos. Os neutrófilos produzem uma explosão oxidativa mais intensa do que os macrófagos e seus grânulos secretores contêm proteínas altamente citotóxicas (Wardlaw; Kay, 1995), sendo ativados por citocinas como IFN- γ , TNF- α e GM-CSF; destruindo substâncias extracelulares mediadas pela H₂O₂ enquanto os componentes granulares estão envolvidos na destruição intracelular dos organismos internalizados.

Estão presentes nas lesões inflamatórias infectadas por parasitas e, provavelmente, atuam na eliminação dos parasitas das células rompidas (Chimelli; Scaravilli, 1997).

No entanto, há várias evidências de que a resposta inata ao *Trypanosoma cruzi* se auto-regula, reduzindo a ativação dos macrófagos e a produção local de NO (Acosta Rodríguez *et al.*, 2007).

Em diversos estudos as citocinas de padrão Th₂ apresentam-se como importantes na regulação da resposta imune (Souza *et al.*, 2007), mas poderiam favorecer o crescimento do parasita e sua disseminação tecidual. Anteriormente, Gazzinelli *et al.*, 1992 afirma que as citocinas regulatórias IL-10 e TGF- β inibem *in vitro* a produção de NO e a atividade tripanomicida de macrófagos infectados e ativados por IFN- γ . Corroborando com estas informações, os trabalhos de Reed *et al.*, 1994; Minoprio *et al.*, 1993, demonstraram a relação entre maior susceptibilidade de linhagens murinas à infecção e uma maior produção da citocina anti-inflamatória IL-10.

Nesta mesma linha de estudo, Abrahamsohn; Coffman, 1996, observaram que camundongos geneticamente deficientes em IL-10 são capazes de controlar melhor a infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. No entanto, a necessidade de produzir IL-10 pode estar relacionada com a proteção do hospedeiro contra a sua própria resposta imune.

Alguns estudos (Pinge Filho *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 1992) demonstraram que sobrenadantes de esplenócitos de camundongos infectados produziram um fator inibidor da secreção de IFN- γ , o qual foi bloqueado por anticorpo anti-IL10. Silva *et al.*, 1992, observaram que no baço de camundongos se produziam RNAm para IL-10 durante a fase aguda da infecção, demonstrando que a IL-10 bloqueia a habilidade do IFN- γ de inibir a replicação intracelular do *Trypanosoma cruzi* em macrófagos destes animais.

Gomés *et al.*, 2003, estudaram o papel da IL-10 e IFN- γ em pacientes chagásicos nas formas cardíaca e indeterminada, além de avaliarem o balanço destas duas citocinas na evolução da doença. Neste estudo puderam verificar que os níveis de IL-10, em cultura das células mononucleares do sangue periférico, estavam aumentados a partir de 24h, e que os níveis de IFN- γ só aumentavam a partir do 6º dia. Além disso, observaram que os níveis de IL-10 estavam maiores em pacientes na forma Indeterminada da doença e o IFN- γ em pacientes na forma cardíaca da DC, o que segundo eles, o valor de IFN- γ poderia ser correlacionado com a evolução da doença. Neste estudo concluíram que o IFN- γ tanto pode contribuir na proteção do hospedeiro, mas pode também, contribuir para o agravamento dos danos cardíacos. Igualmente, Souza *et al.*, 2007 observaram uma maior produção de IFN- γ em cultura de macrófagos nos pacientes com a forma cardíaca do que naqueles com a forma indeterminada, porém o nível de IL-10 foi semelhante em ambos os grupos.

Jacobs *et al.*, 1998, estudaram os efeitos da produção exógena e endógena de NO por estímulo de IL-10, demonstrando que a IL-10 auto-regula a produção de NO por macrófagos ativados por LPS, levando-os a analisar a influência da IL-10 na infecção *in vitro*.

Soares *et al.*, 2001, utilizando camundongos BALB/c, estudaram o curso da infecção do *Trypanosoma cruzi*, em animais geneticamente deficientes em IL-4, cuja resposta Th₁ foi bem acentuada, correlacionando com os níveis de IFN- γ . Na fase aguda da infecção, pode-se observar uma alta parasitemia e parasitismo tecidual, e níveis muito altos de IFN- γ , concluindo que esta citocina tem um papel duplo na infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, onde se por um lado, essa citocina tem um papel protetor no controle do parasitismo, por outro, atua como um mediador crítico da cardiopatia chagásica. Em outro estudo, Acosta Rodríguez *et al.*, 2007 afirma que IL-4 é capaz de proteger e ativar células B contra a infecção por *Trypanosoma cruzi*.

Reis *et al.*, 1997, afirmaram em seus estudos que as citocinas, como em outras doenças infecciosas, têm na DC, um papel fundamental no controle do *Trypanosoma cruzi* na fase crônica, enquanto que, Aliberti *et al.*, 2001, sugeriram que as citocinas têm um papel crucial na expressão de quimiocinas, modulando a resposta inflamatória durante a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* dando resistência para o hospedeiro. Observaram também que na infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, havia indução da produção de citocinas inflamatórias e regulatórias, e quimiocinas como, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES e JE em macrófagos ou em cardiomiócitos. Gomes *et al.*, 2005, demonstraram que uma resposta exacerbada Th₁, mediada por uma interação de citocinas e quimiocinas (CCR5 e CXCR3) estava relacionada com a gravidade das lesões cardíacas em pacientes chagásicos crônicos.

Estudos recentes têm abordado o papel do TGF- β , uma citocina produzida por vários tipos celulares, incluindo fibroblastos e células T, em invasão do ciclo celular por *Trypanosoma cruzi*. Bilate; Cunha-Neto, 2008 em seus estudos mostraram que SB-431542, um inibidor do receptor tipo I de TGF- β , prejudica a invasão de cardiomiócitos por *Trypanosoma cruzi*, assim como a diferenciação e liberação de tripomastigotas, reduzindo, desta maneira, o número de células infectadas por parasitas. Outra informação interessante que estes autores destacam é que o *Trypanosoma cruzi* usaria precursores de TGF- β para manter o seu próprio ciclo de vida intracelular. Estes achados sugerem que o TGF- β pode ser um potencial alvo para o tratamento da doença de Chagas.

Esse conjunto de evidências e estudos são claros indicativos de que a resposta imune inata é ativa durante a infecção por *Trypanosoma cruzi*, colaborando para o estabelecimento da resposta imune específica e, dependendo da regulação homeostática de seus componentes efetores, pode ser decisiva para o estabelecimento da resistência ou susceptibilidade à fase aguda, bem como ao desenvolvimento posterior de patologia associada à fase crônica da infecção (Scharfstein; Morrot, 1999).

Papel dos linfócitos T na resposta imune ao *Trypanosoma cruzi*:

A infecção causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi* desencadeia uma complexa e interessante resposta imune que por um lado, pode favorecer o crescimento do parasita, desencadeando a persistência parasitária, ou mesmo graves lesões teciduais, como também pode levar a completa destruição do parasita e controle da doença.

Diversos estudos relatam que em animais timentomizados assim que nascem e em camundongos atímicos, congenitamente deficientes em células T, observou-se aumento da susceptibilidade à infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, demonstrando a importância deste tipo celular como mecanismo de proteção (Kierzembaum; Pienkowski, 1979; Engman; Leon, 2002; Higuchi, 1999). A transferência de células T, provenientes de camundongos imunizados com formas epimastigotas, também foi capaz de induzir a proteção *in vivo* ao parasita (Reed, 1980). Há também trabalhos que tentam demonstrar um possível papel endócrino complementar a resposta imune, influenciando na defesa do hospedeiro. Roggero *et al.*, 2006 observaram que o tratamento de camundongos C57Bl/6 e BALB/c infectados pela cepa Tulahuen com glicocorticóides endógenos foi capaz de reverter parcialmente a atrofia do timo e desta maneira, aumentar os níveis séricos de TNF- α e diminuição de tímócitos CD4+ e CD8+, favorecendo a resistência destes animais.

A interação entre macrófagos e linfócitos T através de moléculas co-estimuladoras e citocinas é essencial para uma resposta imune adequada e, desta maneira, controle dos efeitos deste patógeno (Souza *et al.*, 2007). A resposta protetora e/ou autoimunidade desenvolvida durante a fase aguda e o tipo de célula T auxiliar (Th) a ser expandido são influenciadas pelas citocinas presentes no ambiente durante o processo de diferenciação de células T com consequente ativação preferencial de Th₁ ou Th₂ (Soares; dos Santos, 1999). A partir de clones específicos para *Trypanosoma cruzi*, foi demonstrado em experimentos de transferências de células CD4+, que as células com potencial imunoprotetivo, possuíam fenótipo Th₁ (Nickell; Keane; So, 1993). A amplificação da resposta imune Th₁ mediada por citocinas IL-12 e IFN- γ está, segundo Habib *et al.*, 2007, diretamente relacionada com a molécula de CD40L, receptor de CD40, expressada por células dendríticas a partir da indução por T CD4+, reduzindo a parasitemia na fase aguda da infecção chagásica.

As células T CD4+ produzem IL-4 e IL-10 suprimindo a resposta do tipo Th₁, através principalmente da redução da síntese de IFN- γ (Vogt *et al.*, 2008), provocando uma infecção crônica ou severidade das lesões (Reis *et al.*, 1997). Em seus estudos Reed; Roters; Goild, 1983 e Plata, 1985 observaram que na infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, o comprometimento da resposta imune tem sido associado à disfunção de células T auxiliares CD4+ (Th), sendo que outros pesquisadores ainda incluem a diminuição da síntese e utilização de IL-

2 (Nabors; Tarleton, 1991; Kierzembaum, 1990; Soares *et al.*, 1999; Corrêa Oliveira *et al.*, 1999; Engman; Leon, 2002).

A resposta imune adquirida, mediada por linfócitos T CD4+ e T CD8+ convencionais e pelos anticorpos produzidos por células B convencionais, é absolutamente essencial para o controle da parasitemia e para sobrevivência do hospedeiro. Estes dados foram obtidos infectando-se camundongos deficientes na expressão de moléculas de histocompatibilidade classe I ou II, deficientes em células T CD8 ou T CD4 maduras, respectivamente (Tarleton *et al.*, 1992; Rottenberg *et al.*, 1995). Os animais deficientes em T CD8 ou CD4 apresentam alta carga parasitária nos tecidos, mas pouca ou nenhuma lesão tecidual (Tarleton, 1995).

Estes dados sugerem que a lesão tecidual é consequência do processo de controle do parasitismo tecidual por Linfócitos efetores (Tarleton, 1995). A necessidade de células T CD4+ na defesa poderia estar relacionada com ativação imunológica de macrófagos infectados e com a destruição intracelular de parasitas por células do tipo Th₁, produtoras de IFN- γ e, no caso de Th₂, com a indução da produção de anticorpos líticos protetores (Brenner, 1986).

Hoft *et al.*, 2000, investigaram uma potencial relação entre resposta Th₁ e resistência ao *Trypanosoma cruzi*, estudando a habilidade de células Th₁ proteger camundongos BALB/c susceptíveis contra parasitas virulentos, através do desenvolvimento de protocolos capazes de induzir resposta Th₁ e Th₂ *in vivo*. A partir daí, indicaram que a resposta CD4+ Th₁ está envolvida no desenvolvimento da imunidade protetiva ao *Trypanosoma cruzi* e que, poderia se desenvolver no futuro, estratégias de imunização, vacinas, para a DC.

Rottenberg *et al.*, 1992, evidenciaram em experimentos de transferência e de depleção de linfócitos T CD4+ a participação adicional de linfócitos citotóxicos, como sido em vários estudos. A atividade efetora das células CD8+ tem sido confirmada *in vivo* pelo aumento da susceptibilidade observada em camundongos cujo desenvolvimento desta população é comprometido pela ausência da expressão de moléculas de classe I, devida à eliminação do gene que codifica a β 2-microglobulina (Tarleton *et al.*, 1992), apresentando estas células nos hospedeiros durante a fase aguda da infecção chagásica, tanto em modelos experimentais, quanto em humanos, epítomos codificados por um grande grupo de genes da família trans-sialidase (Martin *et al.*, 2006) e também, em camundongos tratados com anticorpos monoclonais anti-CD8+ (Tarleton *et al.*, 1990). Como o infiltrado inflamatório do miocárdio é composto principalmente por células CD8+, foi sugerido o envolvimento destas não só em eventos de proteção, mas também na autoimunidade observada na DC (Tarleton *et al.*, 1992; Sato *et al.*, 1992).

O predomínio de células T CD8+ no miocárdio de indivíduos infectados pelo *Trypanosoma cruzi* reflete o perfil das moléculas de adesão e receptores de quimiocinas exibido por estas células na circulação (dos Santos *et al.*, 2001). Neste estudo, puderam afirmar que a prevalência de células T CD8+ no miocárdio de

indivíduos infectados pelo *Trypanosoma cruzi* e a adesão de moléculas expressas pelas células do endotélio cardíaco, citocinas, quimiocinas e antígenos parasitários presentes no tecido inflamado, contribui para o estabelecimento e perpetuação da miocardite chagásica. Para tanto, utilizaram camundongos C3H, infectados com a cepa colombiana, para poderem correlacionar com a distribuição das células T CD8+, com a dos pacientes e chegar à mesma conclusão de Reis *et al.*, 1997, que o IFN- γ tem um efetivo controle da infecção chagásica, induzindo também a proliferação de células T CD8+. Corroborando com estes estudos, Kroll-Palhães *et al.*, 2008, observaram uma via de sinalização de células através da expressão de moléculas CCR5 por células T CD8+ e TNF- α e seu receptor TNFR1, o qual bloqueia a ação desta citocina, diminuindo os danos cardíacos.

Outro membro da família de receptores do TNF é o Fas/ Fas Ligand (Fas-L), um potente indutor de apoptose, assim como da ativação celular, regulação das atividades quimiotáticas e efectoras, bem como na síntese de quimiocinas e citocinas, que está diretamente relacionada com a presença de células T CD8+ no tecido cardíaco na infecção experimental por *Trypanosoma cruzi* (Oliveira *et al.*, 2007). Neste estudo, utilizando camundongos BALB/c knock-out para Fas-L, observaram uma menor lesão tecidual no parênquima cardíaco, bem como quantidade de infiltrado inflamatório, porém este sendo constituído em grande parte por células T CD8+, além de uma grande síntese de IL-10 por estas células. Em outro estudo, Guillermo *et al.*, 2007, observaram que animais infectados com o clone Dm28c do *Trypanosoma cruzi* e tratados com anti-Fas-L bloqueou a ativação de células T CD8+, e aumentou a síntese de IL-10, assim como de IL-4 por células T CD4+, propondo um equilíbrio da síntese desta substância pela ação de células T CD4+ e T CD8+.

Estado de imunossupressão na doença de Chagas:

Durante a fase aguda da doença de Chagas, seja em camundongos e humanos, é marcada por um estado de imunossupressão (Takle; Snary, 1993). Células T de camundongos infectados *in vitro* demonstram uma baixa produção de citocinas de padrão de resposta Th₁ e resposta proliferativa a mitógenos, característico de uma resposta imunossupressiva (Ouaissi *et al.*, 2001).

A imunodeficiência característica da fase aguda da infecção experimental é revelada pela baixa resposta humoral sobre antígenos parasitários específicos e não específicos. Em camundongos, segundo Ouaissi *et al.*, 2001, a atividade de moléculas do parasita e células imunossupressivas tem sido diretamente implicadas na imunodeficiência. Ensaio *in vitro* têm demonstrado que a resposta proliferativa de células CD4 sobre mitógenos é alta na ausência de CD8 ou macrófagos, mas baixa do que no controle. Em camundongos knock-out para CD8, a ativação de células CD4 é deficiente, indicando que a população CD8 está envolvida nesta imunossupressão (Souza *et al.*, 2007).

Mais recentemente, tem sido proposto que a inibição da proliferação de células T em camundongos infectados com *Trypanosoma cruzi* tome lugar através da secreção de IFN- γ e NO. Além disso, outras formas de imunossupressão envolveriam apoptose de células T CD4 de animais infectados, como descrito por vários autores (Freire de Lima *et al.*, 2006; Goñi; Alcaide; Fresno, 2002; Abrahamsohn; Coffman, 1995; Martins *et al.*, 1999). Finalmente, outras substâncias solúveis, incluindo citocinas supressivas como TGF- β , IL-4 e IL-10, além de mediadores inflamatórios como Prostaglandina (PG), revelaram contato com antígenos do parasita, tendo também sido propostos como causa de imunossupressão pelo *Trypanosoma cruzi* (Tarleton, 1988; Fernandez Gomez *et al.*, 1998; Pinge Filho *et al.*, 1999; Freire de Lima *et al.*, 2006).

Papel imunossupressor do óxido nítrico:

Apesar da importância do NO como mecanismo microbicida na fase aguda da infecção experimental, tem sido demonstrado que o NO também induz imunossupressão nessa fase da infecção (Abrahamsohn; Coffmann, 1995).

Os mecanismos pelos quais o NO exerce função imunossupressora ainda não são claros, entretanto, foi demonstrado que o NO pode inibir a apresentação de antígenos por macrófagos regulando negativamente a expressão de moléculas MHC (Sicher; Vasquez; Lu, 1994). Além disso, outros estudos revelam que o NO pode alterar o funcionamento de complexos enzimáticos no metabolismo celular, inibir a duplicação de DNA ou causar danos diretos no DNA sugerindo que o NO não só pode inibir a replicação, mas também pode induzir a morte celular (Granger; Lehninger, 1982; Lepoivre *et al.*, 1990). Estas informações são observadas no estudo de Freire de Lima *et al.*, 2006, quando verificaram que os níveis deste mediador estava relacionado a indução da arginase pela citocina anti-inflamatória TGF- β , capaz de causar a apoptose de células.

Para confirmar o papel do IFN- γ e NO na imunossupressão, Goñi; Alcaide; Fresno, 2002, utilizaram camundongos knock-out em IFN- γ R ou iNOs. As células esplênicas (SC) de camundongos não infectados, também KO, proliferaram exatamente como as células dos controles, que eram das linhagens Sv129 e C57BL/6 respectivamente, em resposta a Con-A. Entretanto, a resposta de SC dos animais KO infectados a Con-A foi minimamente depreciada (cerca de 20 a 30% de inibição) comparados com os controles. A produção de NO foi grandemente diminuída em SC ativadas com Con-A nos animais KO iNOs. Em concordância a carência de produção significativa NO, L-NMMA não afetou a proliferação pelas SC nestes animais infectados. Chegaram à conclusão de que os animais KO apresentaram uma alta parasitemia, porém muito pouca imunossupressão, afirmando que neste caso, a imunossupressão não foi necessária para o desenvolvimento do parasita, pois o mesmo pôde crescer

melhor devido à facilidade pelos animais serem KO, sendo assim a imunossupressão não seria necessária pelo parasita e sim uma resposta excessiva do sistema imune, levando aos danos teciduais.

Dentre os variados papéis do NO na infecção por *Trypanosoma cruzi* porém, com pouca evidência da sua atuação, estaria o mecanismo de lesão tecidual. Borges *et al.*, (2009), em seu estudo, objetivou analisar a contribuição do óxido nítrico no desenvolvimento da inflamação e da fibrose cardíaca na fase aguda da infecção experimental por cepas Y e Colombiana do *Trypanosoma cruzi*. Verificaram que a inflamação foi significativamente maior nos animais infectados pela cepa Colombiana, comparada com os infectados com a cepa Y, tanto nos animais ditos selvagens (C57BL/6) quanto nos animais C57BL/6 deficientes na síntese do óxido nítrico induzida (iNOs). O parasitismo cardíaco dos animais C57BL/6 deficientes na síntese do óxido nítrico infectados pela cepa Colombiana foi significativamente maior que o destes mesmos animais infectados com a cepa Y, assim como, os animais C57BL/6 infectados com a cepa Colombiana ou cepa Y. Os dados reforçam o papel do óxido nítrico no controle do parasitismo e sugerem seu papel na proteção tecidual, controlando a inflamação e potencialmente diminuindo lesões cardíacas durante a fase aguda na doença de Chagas experimental.

Papel da Prostaglandina E₂ na resposta imune durante a infecção chagásica:

Outra substância importante por induzir imunossupressão é a PGE₂. Mas é conveniente fazermos uma breve revisão sobre a mesma, antes de abordar sua atuação junto ao sistema imune na infecção chagásica.

Juntamente com o NO, as prostaglandinas têm inúmeros efeitos cardiovasculares e inflamatórios (Vane; Botting, 1992; Moncada; Palmer; Higgs, 1991). A ciclooxigenase (COX) é a primeira enzima no caminho no qual o ácido araquidônico é convertido a PG, prostaciclina e tromboxane A₂ (Vane; Botting, 1990; Smith; Marnett, 1991).

As prostaglandinas (PG) são pequenas moléculas lipídicas que regulam numerosos processos no organismo, incluindo função renal, agregação plaquetária, liberação de neurotransmissores e modulação da função imune (Harris *et al.*, 2002).

As isoformas constitutivas, COX-1 e iNOs constitutiva, estão presentes em muitos tipos de células, enquanto as isoformas induzidas da ciclooxigenase (COX-2) e iNOS são expressas após estimulação das células com uma variedade de agentes incluindo endotoxinas (lipopolissacarídeos bacterianos) e um número de citocinas e mitógenos (Lee *et al.*, 1992; Xie; Robertson; Simmons, 1992; Akaraseerenont *et al.*, 1995).

A indução de COX-2 e iNOs resulta no aumento da síntese de PGE₂ e NO. Entretanto, o mecanismo envolvido nesta síntese aumentada de PGE₂ e NO são complicadas pela interação entre os produtos de dois sistemas (Marotta; Santebini; Di Rosa, 1992; Salvemini *et al.*, 1993; Akaraseerenont *et al.*, 1995) e pelas citocinas

usadas para indução (Radomski; Palmer; Moncada, 1990; Schini *et al.*, 1992).

Na presença de NO (Davidge *et al.*, 1995; Salvemini *et al.*, 1995) ocorre um aumento significativo da produção de PG, possivelmente pela interação direta do NO com a porção heme presente na enzima COX (Salvemini *et al.*, 1993), contudo, existem alguns trabalhos que nos permite questionar esta hipótese (Tsai, 1994; Hajjar *et al.*, 1995). A situação inversa também ocorre, vários trabalhos demonstram a ação inibitória da PGE₂ sobre a síntese de NO (Sowa; Przewolcki, 1994; Hirokawa *et al.*, 1994; Pinge Filho *et al.*, 1999).

Enquanto muitas das citocinas induzem aumento da COX-2, existem algumas que são capazes de inibir esta enzima. As IL-4 e IL-10, que possuem como características antagonizar os efeitos das citocinas pró-inflamatórias, como visto anteriormente, inibem a indução da COX-2 em monócitos estimulados por LPS ou Con A (Te Velde *et al.*, 1990; Yano *et al.*, 1995).

Em macrófagos, TGF- β inibe a indução de COX-2 por LPS, além de afetar também a indução da iNOs em várias células (Vodovotz; Bogdan, 1994; Freire de Lima *et al.*, 2006), mas na maioria dos resultados demonstram uma supressão da síntese da iNOs. A regulação negativa dos dois maiores componentes do processo inflamatório poderia contribuir para a ação anti-inflamatória desta citocina.

Segundo Harris *et al.*, 2002, a PGE₂ é produzida por muitas células do organismo, incluindo fibroblastos, macrófagos e alguns tipos de células malignas, e exercem suas ações pela combinação de quatro subtipos de receptores (EP1, EP2, EP3 e EP4).

No mesmo estudo, Harris *et al.*, 2002, ainda comentam que a expressão dos receptores funcionais (EP1, EP3 e EP4) ocorre na membrana nuclear das células. Recentemente, Tanaka *et al.*, 2008 observaram o papel de sinalização dos receptores EP1 e EP2 na dissociação do complexo de junção celulares em células de câncer colorretal humano. Contudo, o estudo de Löffler *et al.*, 2008 observou que o tratamento de células de câncer colorretal com baixas doses de PGE₂ leva a efeitos mitogênicos, via proteínas Gi, efeito este ligado principalmente ao receptor EP3.

A PGE₂ é um mediador multifuncional, que possui efeitos tanto estimulatórios como inibitórios. A noção de que PG regula negativamente o sistema imune é reflexo dos estudos realizados *in vitro* que relatam a habilidade de inibir a linfoproliferação, a produção de IL-2 e a síntese de anticorpos IgM por linfócito B (Sterin Borda *et al.*, 1996; Celentano *et al.*, 1995).

Existem estudos que indicam que PGE₂ pode atuar diretamente nas células B para aumentar a produção de IgE e IgG1 induzida por IL-4. Os efeitos de PGE₂ nas células T precisam ser também considerados, pois linfocinas de células T são críticas na mudança de isotipos. Os Th de camundongos têm sido separados em subgrupos Th₁ e Th₂, baseados na síntese de IL-2 e IFN- γ para Th₁ e IL-4 e IL-5 para o subgrupo Th₂ (Mossman *et al.*, 1986; Osborn *et al.*, 2008).

A PGE₂ não afeta somente o balanço de IL-2/ IL-4, mas também, quando secretadas por macrófagos e outras células no início da resposta imune, regulariam negativamente IFN- γ , que é importante para a regulação positiva de moléculas MHC classe II e para a mudança de isotipo de Ig para IgG2a (Walker *et al.*, 1983), mas não a síntese de IL-4. Desta forma, a secreção de PGE₂ favoreceria uma resposta do tipo Th₂, levando também a produção de IgG1 e IgE por células B (Phipps; Stein; Roper, 1991; Roper; Phipps, 1994).

A PGE₂ inibe a produção *in vitro* de células formadoras de placas e a produção de IgM por ação de ativadores policlonais (LPS ou antígenos timo-independentes) (Phipps; Roper; Stein, 1990). Alguns trabalhos têm demonstrado que PGE₂ (Roper *et al.*, 1990) e substâncias que aumentam os níveis de AMPc intracelular (Lycke; Severinson; Strober, 1990) podem aumentar em até 26 vezes a produção de IgE e IgG1, sinergizando com IL-4 e simultaneamente promover a redução de IgM e IgG3 em esplenócitos de camundongos estimulados com LPS e PGE₂ ou PGE₁ (Phipps; Roper; Stein, 1990; Roper *et al.*, 1990) através do receptor EP3 (Löffler *et al.*, 2008).

Com relação à ação da PGE₂ sobre a linfoproliferação, alguns trabalhos sugerem que as PG poderiam inibir a proliferação celular por atuar também na inibição das ciclinas e conseqüentemente no ciclo celular. Existem relatos demonstrando que a expressão e ativação da COX-2 diminuem os níveis de ciclina D1 (Sheng *et al.*, 1997), possivelmente por aumentar a síntese de PGE₂ e conseqüentemente os níveis intracelulares de AMPc, visto que este segundo mensageiro pode inibir estas ciclinas (Ward *et al.*, 1999).

Experimentos realizados *in vitro* e também na fase aguda da doença demonstraram que PGE₂ induz imunossupressão por interferir no processo de apresentação de antígeno inibindo a expressão de moléculas MHC classe II, inibir a produção de IL-2 e reduzir a ativação mediada pelo receptor de IL-2 em linfócitos T, além de reduzir a secreção de IFN- γ e a linfoproliferação. As PG são também capazes de induzir mudança de classe de Ig em linfócitos B, levando preferencialmente à produção de IgE e IgG1 e de inibir a resposta do tipo Th₁, atuando sobre Th₀, para a expressão de citocinas com padrão Th₂ (Silva *et al.*, 1995; Golden; Tarleton, 1991; Harris *et al.*, 2002).

Existem dados na literatura descrevendo aumento da produção de PGE₂ durante a infecção por *Trypanosoma cruzi*. Sterin Borda *et al.*, 1996, demonstraram que os linfócitos T CD8⁺ de camundongos infectados com a cepa CA-1 (não letal) produzem mais PGE₂ quando comparados aos animais normais. Verificaram ainda, que o aumento da produção de PGE₂ pelos linfócitos T se deve à ligação de IgG, produzida durante a infecção, aos receptores muscarínicos. Recentemente, Abdalla *et al.*, 2008 verificaram que níveis aumentados de PGE₂ estavam relacionados a maior lesão tecidual no parênquima cardíaco de animais infectados com a cepa Y do *Trypanosoma cruzi* e que o tratamento com drogas inibidoras seletivas para COX-2 foi capaz de

diminuir essas lesões e contribuir na síntese maior de óxido nítrico.

Formação de corpos lipídicos em monócitos durante a fase aguda da Doença de Chagas:

Durante a fase aguda da doença de Chagas, tem-se observado, *in vivo*, um aumento do número de monócitos no sangue periférico e macrófagos no coração de animais infectados. Estas células exibem claros sinais morfológicos de ativação e estão diretamente envolvidos na inibição da multiplicação do parasita no miocárdio (Melo; Machado, 2001).

Em seu trabalho experimental, Melo *et al.*, 2003, investigaram a formação de corpos lipídicos em monócitos do sangue periférico bem como em macrófagos peritoneais e cardíacos durante a fase aguda da infecção chagásica em ratos, sendo que paralelamente, correlacionaram a ocorrência desses corpos lipídicos com processo inflamatório no coração e produção de PGE₂ por estas células peritoneais. Puderam observar que a concentração de PGE₂ aumentou durante a fase aguda, com um pico no 12^o dia pós-infecção, proporcionalmente a quantidade de corpos lipídicos por células. Sugeriram a partir destes dados, que os corpos lipídeos nos macrófagos, poderiam participar na formação aumentada de PGE₂ durante a fase aguda da doença. Outros estudos também revelaram que macrófagos peritoneais são importantes para a produção de PGE₂ durante a infecção (Celentano *et al.*, 1995; Borges *et al.*, 1998; Freire de Lima *et al.*, 2000). Além, tem sido observado em estudos experimentais que a PGE₂ é responsável por inibir a lipólise em adipócitos e ainda estar envolvida no mecanismo de lipogênese (Wortman *et al.*, 2009).

Ao contrário dos macrófagos, os monócitos não induzem aumento de corpos lipídicos, apesar de produzirem IL-1 β , TNF- α e IL-6 (Van Voorhis, 1991; Melo *et al.*, 2003).

Lesões teciduais no parênquima cardíaco durante a infecção chagásica aguda e crônica:

Há tempos têm-se associado à difusa e intensa miocardite durante a doença de Chagas aguda à multiplicação do parasita (Andrade, Z., 1999). Foi demonstrado, por Grimaud; Andrade, 1984, que a integridade das miocélulas cardíacas está preservada mesmo na presença de ninho parasitário, contendo numerosos parasitos, com estrutura normal, em contato direto com as miofibrilas e as organelas intracelulares. Entretanto, Andrade, Z., 1996 afirma que a fase aguda começa com reação focal em torno das fibras parasitadas e destruídas, mas logo aparece um componente inflamatório difuso, com comprometimento mais ou menos intenso de células ou estruturas não parasitadas. Os parasitos intracelulares multiplicam-se ativamente por divisão binária das formas amastigotas, evoluindo para formas flageladas; por vezes, sofrem degenerações espontâneas, determinando alterações focais da célula parasitada. Além das lesões causadas diretamente pelos parasitas, este processo tem um componente de

citotoxicidade imunológica bem evidenciável ao exame ultra-estrutural.

Silva *et al.*, 1985 estudando as lesões necrótico-inflamatórias em músculos de camundongos na fase aguda da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, procuraram verificar se complexos imunes estariam envolvidos na patogênese das lesões, tendo verificado depósitos de imunoglobulinas e complemento, e detectado a presença de complexos imunes no soro, concomitante com uma queda do Complemento. Esses achados indicaram que complexos imunes participam da patogênese das lesões necrótico-inflamatórias observadas na fase aguda da infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi*.

Entre as células inflamatórias da miocardite aparecem linfócitos, grandes e pequenos, além de células NK e macrófagos (Andrade *et al.*, 1994), que podem ser vistos fazendo aderências e fusão de membranas externas com os miócitos, os quais exibem, precisamente nestes pontos de contato, fenômenos de citotoxicidade focal, com tumefação de mitocôndrias e do retículo endoplasmático, lise das miofibrilas e fragmentação de discos intercalares (Andrade, 1999). Ocorre, segundo o autor, adicionalmente uma microangiopatia, caracterizada pela ação citotóxica de células imunologicamente competentes sobre o endotélio de capilares miocárdicos, através da participação de citocinas. Nos pontos de contato com linfócitos e macrófagos as células endoteliais mostram graus variáveis de tumefação, vacuolização e lise, favorecendo a agregação plaquetária e a formação de trombos fibrinosos (Rossi; Gonçalves; Ribeiro dos Santos, 1984; Tanowitz; Burns; Sinha, 1990), provavelmente possibilitando uma via vascular, adicional, de agressão aos miócitos (Andrade *et al.*, 1994). Ainda, podemos verificar que uma resposta imune inadequada pode favorecer o crescimento do parasita e conseqüentemente levar a progressivos danos celulares, como também uma resposta imune exacerbada pode causar danos teciduais, mesmo na ausência de parasita. Desta forma, Michelin; Silva; Cunha, 2005, observaram que o tratamento de animais infectados com a cepa Y do *Trypanosoma cruzi* durante a fase aguda da doença de Chagas experimental com drogas inibidoras da COX-2, salicilato de sódio e meloxicam diminuíram os níveis de PGE₂, assim como da expressão de citocinas em cultura de células esplênicas, além de reduzir significativamente a parasitemia daqueles animais, além de aumentar a síntese de IL-2, o que poderia explicar a redução das lesões teciduais nos animais em nosso estudo anterior, onde podemos observar que níveis elevados de PGE₂ em animais infectados favorecia ao maior pico de parasitemia, bem como menor taxa de sobrevivência, assim como reduzidos níveis de óxido nítrico, apresentando uma miocardite significativamente maior que nos animais que receberam tratamento com inibidores da COX-2 e maior quantidade de fibrose no parênquima cardíaco durante a fase aguda da doença (Abdalla *et al.*, 2008).

Todos estes mecanismos se associam para produzir uma miocardite difusa, com intenso comprometimento da musculatura do miocárdio. Estas

lesões podem induzir insuficiência cardíaca congestiva, muitas vezes associada com graves arritmias resultantes do comprometimento direto do sistema excito-condutor do coração (Andrade, 1996). O envolvimento do tecido excito-condutor do coração, na miocardiopatia chagásica, é tão freqüente e importante que pode mesmo ser considerado como uma lesão fundamental desta doença.

Assim sendo, o comportamento do hospedeiro na fase aguda pós-terapia específica tem mostrado claramente o papel primordial do parasito na patogenia das lesões difusas do miocárdio. Os mecanismos associados, fundamentalmente de natureza imunológica, são importantíssimos, mas não possuem autonomia (Gazzinelli *et al.*, 1988). O mesmo é provavelmente verdadeiro para a fase crônica progressiva da miocardite chagásica, o que, todavia é muito mais difícil de ser demonstrado (Andrade, 1999).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desafio do tratamento específico da doença de Chagas não está apenas na procura de drogas capazes de eliminar os parasitos do organismo, mas, e principalmente, na possibilidade de que a cura parasitológica possa contribuir para a regressão das lesões, quer seja na fase aguda, onde as reações antígeno-anticorpo estão envolvidas ou na fase crônica onde os mecanismos de imunidade celular são predominantes (Andrade, 1996). O tratamento etiológico desta doença, na fase aguda, é aceito por todos os pesquisadores, haja vista a reconhecida importância do parasita nesta fase e a resposta satisfatória, com altos índices de cura parasitológica e sorológica (Andrade, 1996).

O critério de cura implica na ausência do parasito após o tratamento, assim como na ausência da resposta imune humoral contra o parasito, ou seja, no desaparecimento dos anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* (Luquetti; Rassi, 1996).

A partir destes estudos, relacionamos a síntese de PGE₂ durante as fases aguda e crônica da doença de Chagas em animais infectados com *Trypanosoma cruzi*, com as lesões cardíacas, avaliando também a produção de mediadores inflamatórios no miocárdio, utilizando inibidor da COX-2 nestes animais, evidenciando um potencial terapêutico e vislumbra novos estudos, para melhor entendimento dos mecanismos celulares e moleculares envolvidos na resposta imune ao *T. cruzi*.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, G. K.; FARIA, G. E. L.; SILVA, K. T.; CASTRO, E. C. C.; REIS, M. A.; MICHELIN, M. A. *Trypanosoma cruzi*: The role of PGE₂ in immune response during acute phase of Chagas' disease. **Experimental Parasitology**. n. 118, p. 514-521, 2008.
- ABRAHAMSOHN, I. A. ; SILVA, A. P. G.; COFFMAN, R. L. Effects of interleukin-4 deprivation and treatment on resistance to *Trypanosoma cruzi*.

Infection Immunity, v. 68, n. 4, p. 1975-1979, Apr. 2000.

ABRAHAMSOHN, I.; COFFMAN, R. L. Cytokine and nitric oxide regulation of the immunosuppression in *Trypanosoma cruzi* infection. **J Immunol**. v. 155, p. 3955, 1995.

ABRAHAMSOHN, I.; COFFMAN, R.L. *Trypanosoma cruzi*: IL-10, TNF, IFN- γ and IL-12 regulate innate and acquired immunity to infection. **Exp Parasitol**. n. 84, p. 231-244, 1996.

ACOSTA RODRÍGUEZ, E. V.; ZUNIGA, E. I.; MONTES, C. L.; MERINO, M. C.; BERMEJO, D. A.; AMEZCUA, M. C.; MOTRAN, C. C.; GRUPPI, A. *Trypanosoma cruzi* Infection Beats the B-cell Compartment Favouring Parasite Establishment: Can we Strike First? **Scandinavian Journal of Immunology**. v. 66, p. 137-142, 2007.

AKARASEREENONT, P.; MITCHELL, J. A.; BAKHLE; THIEMERMANN, C.; VANE, J.R. Comparison of induction of cyclooxygenase and nitric oxide synthase by endotoxin in endothelial cells and macrophages. **European Journal Pharmacology**. v. 273, p. 121-128, 1995.

ALCAIDE, P.; FRESNO, M. AgC10, a mucin from *Trypanosoma cruzi*, destabilizes TNF and cyclooxygenase-2 mRNA by inhibiting mitogen-activated protein kinase p38. **Eur J Immunol**. v. 34, p. 1695-1704, 2004.

ALIBERTI, J. C. S.; SOUTO, J. T.; MARINO, A. P. M. P.; LANNES VIEIRA, J.; TEIXEIRA, M. M.; FARBER, J.; GAZZINELLI, R. T.; SILVA, J. S. Modulation of chemokine production and inflammatory responses in interferon-g- and tumor necrosis factor-R1-deficient mice during *Trypanosoma cruzi* infection. **American Journal Pathology**, v. 158, n. 4, p. 1433-1439, Apr. 2001.

ANDRADE, S. G. Influence of *Trypanosoma cruzi* strain on the pathogenesis of chronic cardiomyopathy in mice. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 85, n. 1, p. 17-27, 1990.

ANDRADE, S. G. Influência do tratamento específico na regressão das lesões fibróticas-inflamatórias do miocárdio na doença de Chagas experimental. **Rev Soc Bras Med Trop**. n. 29, supl II, p. 65-67, 1996.

ANDRADE, S. G.; FILHO, A. C.; DE SOUZA, A. J. M.; LIMA, E. S.; ANDRADE, Z. A. Influence of treatment with immunosuppressive drugs in mice chronically infected with *Trypanosoma cruzi*. **Int J Exp Pathol**. v. 78, p. 391-399, 1997.

ANDRADE, S. G.; MAGALHÃES, L. A.; PESSINA, D. H. Importance of TNF- α in the course of acute infection with *Trypanosoma cruzi*: influence of its inhibition by

pentoxifylline treatment. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 103, suppl I, p. 21-26, 2008.

ANDRADE, S.G. *et al.* Immunological response of Swiss mice to infection with three different strains of *Trypanosoma cruzi*. **Ann Med Trop Parasitol**. v. 79, n. 4, p. 397-407, 1985.

ANDRADE, V.; ANDRADE, S. G.; NETTO, M. B.; PONTES, A. L.; CASTRO, R. Avaliação do comportamento de diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi* na infecção de seis linhagens isogênicas de camundongos. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 18, n. 3, p. 143-154, 1985.

ANDRADE, Z. A. A patogenia da doença de Chagas face ao tratamento específico. **Rev Soc Bras Med Trop**. n. 29, supl II, p. 68-71, 1996.

ANDRADE, Z. A. Immunopathology of Chagas disease. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 94, suppl. 1, p. 71-80, 1999.

ANDRADE, Z. A.; ANDRADE, S.G.; CORREA, R.; SADIGURSKY, M.; FERRANS, V.J. Myocardial changes in acute *Trypanosoma cruzi* infection. Ultrastructural evidence of immune damage and role of microangiopathy. **The American Journal Pathology**. v. 144, p. 1403-1411, 1994.

ANTÚNEZ, M. I.; CARDONI, R. L. Circulating levels of cyclooxygenase metabolites in experimental *Trypanosoma cruzi* infections. **Mediators of Inflammation**. v. 13, n. 4, p. 235-240, 2004.

ANTÚNEZ, M. I.; CARDONI, R. L. Early IFN- γ production is related to the presence of interleukin (IL)-18 and the absence of IL-13 in experimental *Trypanosoma cruzi* infections. **Immunology Letters**. v. 79, p. 189-196, 2001.

ARANTES, R. M. E.; MARCHE, H. H. F.; BAHIA, M. T.; CUNHA, F. Q.; ROSSI, M. A.; SILVA, J. S. Interferon- γ induced nitric oxide causes intrinsic intestinal denervation in *Trypanosoma cruzi*-infected mice. **American Journal Pathology**. v. 164, n. 4, p. 1361-1369, 2004.

BARBARIN, V.; ARRAS, M.; MISSON, P.; DELOS, M.; MCGARRY, B.; PHAN, S. H.; LISON, D.; HUAUX, F. Characterization of the effect of interleukin-10 on silica-induced lung fibrosis in mice. **Am J Respir Cell Mol Biol**. v. 31, n. 1, p. 78-85, 2004.

BARBARIN, V.; XING, Z.; DELOS, M.; LISON, D.; HUAUX, F. Pulmonary overexpression of IL-10 augments lung fibrosis and Th2 responses induced by silica particles. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**. 2004 Dec 17.

- BERGERON, M.; OLIVIER, M. *Trypanosoma cruzi*-Mediated IFN- γ -Inducible Nitric Oxide Output in Macrophages Is Regulated by *iNOS* Mrna Stability. **The Journal of Immunology**. v. 177, p. 6271-6280, 2006.
- BILATE, A. M. B.; CUNHA NETO, E. Chagas Disease Cardiomyopathy: Current Concepts of an Old Disease. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 50, n. 2, p. 67-74, 2008.
- BIXBY, L. M.; TARLETON, R. L. Stable CD8⁺ T cell memory during persistent *Trypanosoma cruzi* infection. **The Journal of Immunology**. v. 181, n 4, p. 2644-2650, 2008.
- BORGES, C. R. B.; RODRIGUES JR.; V.; REIS, M. A.; CASTELLANO, L. R.; CHICA, J. E. L.; PEREIRA, S. A. L.; SANTOS, E. S.; RODRIGUES, D. B. R. Papel do óxido nítrico no desenvolvimento de lesões cardíacas na fase aguda da infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 42, n. 2, p. 170-174, 2009.
- BORGES, M.M.; KLOETZEL, J.K.; ANDRADE Jr, H.F.; TADOKORO, C.E.; PINGE FILHO, P.; ABRAHAMSOHN, I. Prostaglandin and nitric oxide regulate TNF- α production during *Trypanosoma cruzi* infection. **Immunology**. v. 63, p. 1-8, 1998.
- BRENER, Z. Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. **Revista do Instituto de Medicina de São Paulo**. v. 4, p. 389-396, 1962.
- BRENER, Z. Why vaccines do not work in Chagas' disease. **Parasitol Today**. n. 2, p. 196-197, 1986.
- BRENER, Z.; GAZZINELLI, R. T. Immunological control of *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas' disease. **International Archives Allergy Immunology**. v. 114, n. 2, p. 103-110, 1997.
- BRODSKYN, C.I.; BARRAL NETTO, M. Citotoxicity in patients with different clinical forms of Chagas' disease. **Clin Exp Immunol**. v. 64, p.128, 1996.
- BRODSKYN, C.I.; SILVA, A. M.N.; TAKEHARA, H.A.; MOTA, I. IgG subclasses responsible for immune clearance in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. **Immunol Cell Biol**. v. 67, p. 343, 1989.
- BURLEIGH, B.; ANDREWS, N.W. Signalling and host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. **Curr Opin Microbiol**. n. 1, p. 461-465, 1998.
- CELENTANO, A.M.; GORELIK, G.; SOLANA, M.E.; STERIN BORDA, L.; BORDA, E.; GONZÁLEZ CAPPÀ, S.M. PGE2 involvement in experimental infection with *Trypanosoma cruzi* subpopulations. **Prostaglandins**. v. 49, p. 141-153, 1995.
- CHAGAS, C. Nova entidade mórbida. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. n. 43, p. 423-428, Nov. 1910.
- CHAGAS, C. Nova tripanozomíase humana. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 1, n. 2, p. 3-71, Ago. 1909.
- CHANDRA, M.; TANOWITZ, H. B.; PETKOVA, S.; HUANG, H.; WEISS, L. M.; WITTNER, M.; FACTOR, S. M.; SHTUTIN, V.; JELICKS, L. A. ; CHAN, J.; SHIRANI, J. Significance of inducible nitric oxide synthase in acute myocarditis caused by *Trypanosoma cruzi* (Tulahuen strain). **Internacional Journal Parasitology**. v. 32, p. 897-905, Feb. 2002.
- CHIMELLI, L; SCARAVILLI, F. Trypanosomiasis. **Brain Pathol**. n. 7, p. 599-611, 1997.
- CLARK, I. A.; ROCKETT, K. A. Nitric oxide and parasitic disease. **Adv Parasitol**. v. 37, p. 1-56, 1996.
- CORRÊA OLIVEIRA, R.; GOMES, J.A.S.; LEMOS, E.M.; CARDOSO, G.M.; REIS, D.D.; ADAD, S.J.; CREMA, E.; MARTINS FILHO, O.A.; COSTA, M.O.R.; GAZZINELLI, G.; BAHIA OLIVEIRA, L.M.G. The role of the immune response on the development of severe clinical forms of human Chagas' disease. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 94, supl I, p. 253-255, 1999.
- COSTA, V. M. A.; TORRES, K. C. L.; MENDONÇA, R. Z.; GRESSER, I.; GOLLOB, K. J.; ABRAHAMSOHN, I. A. Type I IFNs Stimulate Nitric Oxide Production and Resistance to *Trypanosoma cruzi* Infection. **The Journal of Immunology**. v. 177, p. 3193-3200, 2006.
- CUERVO, H.; PINEDA, M. A.; AOKI, M. P.; GEA, S.; FRESNO, M.; GIRONÈS, N. Inducible Nitric Oxide Synthase and Arginase Expression in Heart Tissue during Acute *Trypanosoma cruzi* Infection in Mice: Arginase I Is Expressed in Infiltrating CD68⁺ Macrophages. **The Journal of Infectious Diseases**. v. 197, p. 1772-1782, 2008.
- CUMMINGS, K. L.; TARLETON, R. L. Inducible nitric oxide is not essential for control of *Trypanosoma cruzi* infection in mice. **Infection Immunity**. v. 72, n. 7, p. 4081-4089, 2004.
- CUNHA NETO, E.; NOGUEIRA, L. C.; TEIXEIRA, P. C.; RAMASAWMY, R.; DRIGO, S. A.; GOLDBERG, A. C.; FONSECA, S. G.; BILATE, A. M.; KALIL, J. Immunological and non-immunological effects of cytokines and chemokines in the pathogenesis of chronic Chagas disease cardiomyopathy. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 104, suppl I, p. 252-258, 2009.
- CUNNINGHAM, D.S.; KUHN, R.E. *Trypanosoma cruzi*-induced suppression of the primary immune response in murine cell cultures to T cell-dependent and independent antigens. **J Parasitol**. v. 66, p. 16-27, 1980.

- D'ÁVILA, D. A.; GUEDES, P. M. M.; CASTRO, A. M.; GONTIJO, E. D.; CHIARI, E.; GALVÃO, L. M. C. Immunological imbalance between IFN- γ and IL-10 levels in the sera
DA SILVA, A. F. **An acute case of Chagas disease.** Hospital (Rio J). v. 44, n. 5, p. 675-681, 1953.
- DAVIDGE, S.T.; BAKER, P.N.; LAUGHLIN, M.K.; ROBERTS, J.M. Nitric oxide produced by endothelial cells increases production of eicosanoids through activation of prostaglandin H synthase. **Circ Res.** v. 77, n. 2, p. 274-283, 1995.
- DIAS, J. C. P.; SILVEIRA, A. C.; SCHOFIELD, C. J. The impact of Chagas disease control in Latin America – a review. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** v. 97, n. 5, p. 603-612, 2002.
- DIAS, J. C. P. A doença de Chagas e seu controle na América Latina. Uma análise de possibilidades. **Cadernos de Saúde Pública.** v.9, p.201-209, 1993.
- DIAS, J. C. P.; PRATA, A.; CORREIA, D. Problems and perspectives for Chagas disease control: in search of a realistic analysis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** v. 41, n. 2, p. 193-196, 2008.
- DIAS, J. C. P.; SILVEIRA, A. C. Situação atual da doença de Chagas no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.** v.29 (supl II), p.19-21, 1996.
- DOS SANTOS, P.V.A.; ROFFE, E.; SANTIAGO, H.C.; TORRES, R.A.; MARINO, A.P.M.P.; PAIVA, C.N.; SILVA, A.A.; GAZZINELLI, R.T.; LANNES VIEIRA, J. Prevalence of CD8+ $\alpha\beta$ T cells in *Trypanosoma cruzi* elicited myocarditis is associated with acquisition of CD62L^{low} LFA-1^{high} VLA-4^{high} activation phenotype and expression of IFN- γ inducible adhesion and chemoattractant molecules. **Microbes Infection.** n. 3, p. 971-984, 2001.
- DUTIE, M. S.; KAHN, S. J. During acute *Trypanosoma cruzi* infection highly susceptible mice deficient in natural killer cells are protected by a single α -galactosylceramide treatment. **Immunology.** v. 119, p. 355-361, 2006.
- DUTRA, W. O.; MENEZES, C. A. S.; VILLANI, F. N. A.; COSTA, G. C.; SILVEIRA, A. B. M.; REIS, D. D.; GOLLOB, K. J. Cellular and genetic mechanisms involved in the generation of protective and pathogenic immune responses in human Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** v. 104, suppl. I, p. 208-218, 2009.
- ENGMAN, D. M.; LEON, J. S. Pathogenesis of Chagas heart disease: role of autoimmunity. **Acta Trop.** v. 81, p. 123-132, 2002.
- FEARON, D.T.; LOCKSLEY, R.M. The instructive role of innate immunity in the acquired immune response. **Science.** v. 272, p. 50-54, 1996.
- FERNANDEZ GOMEZ, R.; ESTEBAN, S.; GOMEZ CORVERA, R.; ZOULIKA, K.; OUAISSI, A. *Trypanosoma cruzi*: Tc 52 released protein – induced increased expression of nitric oxide synthase and nitric oxide production by macrophages. **J Immunol.** v. 160, p. 3471, 1998.
- FERRAZ, M. L.; GAZZINELLI, R. T.; ALVES, R. O.; URBINA, J. A.; ROMANHA, A. J. The Anti-*Trypanosoma cruzi* Activity of Posaconazole in a Murine Model of Acute Chagas' Disease Is Less Dependent on Gamma Interferon than That of Benzimidazole. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy.** v. 51, n. 4, p. 1359-1364, 2007.
- FICHERA, L. E.; ALBAREDA, M. C.; LAUCELLA, S. A.; POSTAN, M. Intracellular growth of *Trypanosoma cruzi* in cardiac myocytes is inhibited by cytokine-induced nitric oxide release. **Infection Immunity.** v. 72, n. 1, p. 359-363, 2004.
- FIUZA, J. A.; FUJIWARA, R. T.; GOMES, J. A. S.; ROCHA, M. O. C.; CHAVES, A. T.; ARAÚJO, F. F.; FARES, R. C. G.; TEIXEIRA CARVALHO, A.; MARTINS FILHO, O. A.; CANÇADO, G. G. L.; CORREA OLIVEIRA, R. Profile of Central and Effector Memory T Cells in the Progression of Chronic Human Chagas Disease. **PLoS Negl Tropical Disease.** n. 3, v. 9, e512, 2009.
- FREIRE DE LIMA, C. G.; NASCIMENTO, D.O.; SOARES, M.B.P.; BOZZA, P.T.; CASTRO FARIA NETO, H.C.; DE MELLO, F.G.; DOS REIS, G.A.; LOPES, M.F. Uptake of apoptotic cells drives the growth of a pathogenic trypanosome in macrophages. **Nature.** v. 403, n. 13, p. 199-203, 2000.
- FREIRE DE LIMA, C.; XIAO, Y. Q.; GARDAL, S. J.; BRATTON, D. L.; SCHLEMANN, W. P.; HENSON, P. M. Apoptotic Cells, through Transforming Growth Factor- β , Coordinately Induce Anti-inflammatory and Suppress Pro-inflammatory Eicosanoid and NO Synthesis in Murine Macrophages. **The Journal of Biological Chemistry.** v. 281, n. 50, p. 3876-3884, 2006.
- GANZINELLI, S.; BORDA, E.; JOENSEN, L.; STERIN BORDA, L. Chagasic antibodies induce cardiac COX-2/iNOS mRNA expression with PGE₂/NO production. **International Journal of Cardiology.** v. 134, p. 212-223, 2009.
- GAO, W; PEREIRA, M. A. Interleukin-6 is required for parasite specific response and host resistance to

- Trypanosoma cruzi*. **International Journal of Parasitology**. v. 32, n. 2, p. 167-170, 2002.
- GAZZINELLI, R.T.; GALVÃO, L.M.C.; DIAS, J.C.P.; GAZZINELLI, G.; BRENER, Z. Anti-laminin and specific antibodies in acute Chagas disease. **Trans R Soc Trop Med Hig**. v. 82, p. 574-576, 1988.
- GAZZINELLI, R.T.; OSWALD, I.P.; HIENY, S.; JAMES, S.L.; SHER, A. The microbicidal activity of IFN- γ treated macrophages against *Trypanosoma cruzi* involves an L-arginine-dependent, nitrogen oxide-mediated mechanism inhibitable by IL-10 and transforming growth factor- β . **Eur J Immunol**. n. 22, p. 2501-2506, 1992.
- GOLDEN, J.M.; TARLETON, R.L. *Trypanosoma cruzi*: cytokine effects on macrophage trypanocidal activity. **Exp Parasitol**. v. 72, n. 4, p. 391-402, 1991.
- GOLLOB, K. J.; DUTRA, W. O. *Trypanosoma cruzi* Infection Induces Differential Modulation of Costimulatory Molecules and Cytokines by Monocytes and
- GOMES, J.A.S.; BAHIA OLIVEIRA, L.M.G.; ROCHA, M.O.C.; MARTINS FILHO, O.A.; GAZZINELLI, G.; CORREA OLIVEIRA, R. Evidence that development of severe cardiomyopathy in human Chagas' disease is due to a Th1-specific immune response. **Infection Immunity**. p. 1185-1193, mar. 2003.
- GOÑI, O.; ALCAIDE, P.; FRESNO, M. Immunosuppression during acute *Trypanosoma cruzi* infection: involvement of Ly6G (Gr1+)CD11b+ immature myeloid suppressor cells. **International Immunology**. v. 14, n. 10, p. 1125-1134, 2002.
- GRANGER, D.L.; LEHNINGER, A.L. Sites of inhibition of mitochondrial electron transport in macrophage-injured neoplastic cells. **J Cell Biol**. v. 95, n. 2, p. 527-535, 1982.
- GREEN, T. R.; SCHAEFER, R. E. Intrinsic dichlorophenolindopherol reductase activity associated with the superoxide-generating oxidoreductase of human granulocytes. **Biochemistry**. v. 20, n. 26, p. 7483-7487, 1981.
- GRIMAUD, J. A.; ANDRADE, S. G. *Trypanosoma cruzi*: relationship between the intracellular parasitic forms and cardiac myocytes. **Cell Mol Biol**. v. 30, p. 59-65, 1984.
- GUEDES, P. M. M.; VELOSO, V. M.; AFONSO, L. C. C.; CALIARI, M. V.; CARNEIRO, C. M.; DINIZ, L. F.; MARQUES DA SILVA, E. A.; CALDAS, I. S.; MATTA, M. A. D. V.; SOUZA, S. M.; LANA, M.; CHIARI, E.; GALVÃO, L. M. C.; BAHIA, M. T. Development of chronic cardiomyopathy in canine Chagas disease correlates with high IFN- γ , TNF- α , and low IL-10 production during the acute infection phase. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 130, p. 43-52, 2009.
- GUILLERMO, L.V.C.; SILVA, E. M.; RIBEIRO-GOMES, F. L.; DE MEIS, J.; PEREIRA W.; YAGITA, H.; DOS REIS, G.A.; LOPES, M.F. The Fas death pathway controls coordinated expansions of type 1 CD8 and type 2 CD4 T cells in *Trypanosoma cruzi* infection. **Journal of Leukocyte Biology**. v.81, p. 942-951, 2007.
- HABIB, M.; RIVAS, M. N.; CHAMEKH, M.; WIECHOWSKI, S.; SUN, W.; BIANCO, A.; TROUCHE, N.; CHALOIN, O.; DUMORTIER, H.; GOLDMAN, M.; GUICHARD, G.; FOURNEL, S.; VRAY, B. **The Journal of Immunology**. v. 178, p. 6700-6704, 2007.
- HAJJAR, R.J. *et al.* Extrapericardial cardiac tamponade after blunt chest trauma. **Am Heart J**. v. 130, p. 620-621, 1995.
- HARRIS, S. G.; PADILLA, J.; KOUMAS, L.; RAY, D.; PHIPPS, R. P. Prostaglandins as modulators of immunity. **Trends Immunology**. v. 23, n. 3, p. 144-150, 2002.
- HIGUCHI, M. L.; BENVENTURI, L. A.; REIS, M. M.; METZGER, M. Pathophysiology of the heart in Chagas' disease: current status and new developments. **Cardiovascular Research**. v. 60, p. 96-107, 2003.
- HIGUCHI, M.L. Human chronic chagasic cardiopathy: participation of parasite antigens, subsets of lymphocytes, cytokines and microvascular abnormalities. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 94, suppl I, p. 263-267, 1999.
- HIROKAWA, K. *et al.* Inhibition of nitric oxide synthesis in vascular smooth muscle by retinoids. **Br J Pharmacol**. V. 113, n. 4, p. 1448-1454, 1994.
- HOFT, D. F.; SCHNAPP, A.R.; EICKHOFF, C.S.; RODMAN, S.T. Involvement of CD4+ Th1 cells in systemic immunity protective against primary and secondary challenges with *Trypanosoma cruzi*. **Infection Immunity**. p. 197-204, 2000.
- HÖLSCHER, C.; KÖHLER, G.; MÜLLER, U.; MOSSMANN, H.; SCHAUB, G. A.; BROMBACHER, F. Defective nitric oxide effector functions lead to extreme susceptibility of *Trypanosoma cruzi*-infected mice deficient in gamma interferon receptor or inducible nitric oxide synthase. **Infection Immunity**. v. 66, n. 3, p. 1208-1215, Mar. 1998.
- HUNTER, C. A.; SLIFFER, T.; ARAUJO, F. Interleukin-12 mediated resistance to *Trypanosoma cruzi* is dependent on tumor necrosis factor alpha and gamma interferon. **Infection Immunity**. v. 64, n. 7, p. 2381-2386, Jul. 1996.

- JACOBS, F.; CHAUSSABEL, D.; TRUYENS, C.; LECLERQ, V.; CARLIER, Y.; GOLDMAN, M.; VRAY, B. IL-10 up-regulates nitric oxide (NO) synthesis by lipopolisaccharide (LPS)-activated macrophages: improved control of *Trypanosoma cruzi* infection. **Clin Exp Immunol.** v. 113, p. 59-64, 1998.
- JUNQUEIRA, L.C.C.U.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R.R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochem J.** v. 11, p. 447-455, 1979.
- KIERSZENBAUM, F. Trypanosomal immunosuppressive factor. A secretion product(s) of *Trypanosoma cruzi* that inhibits proliferation and IL-2 receptor expression by activated human peripheral blood mononuclear cells. **J Immunol.** v. 144, p. 4000-4004, 1990.
- KIERSZENBAUM, F. Where do we stand on the autoimmunity hypothesis of Chagas disease? **Trends Parasitology.** v. 21, n. 11, p. 513-516, 2005.
- KIERSZENBAUM, F.; PIENKOWSKI, M.M. Thymus-dependent control of host defense mechanisms against *Trypanosoma cruzi* infection. **Infect Immunol.** v. 24, n. 1, p. 117-120, 1979.
- KOTNER, J; TARLETON, R. Endogenous CD4₊CD25₊ Regulatory T Cells Have a Limited Role in the Control of *Trypanosoma cruzi* Infection in Mice. **Infection and Immunity,** v. 75, n. 2. p. 861–869, 2007.
- KROLL-PALHARES, K.; SILVÉRIO, J. C. ; SILVAL, A. A.; MICHAILOWSKY, V.; MARINO, A. P. ; SILVA, N. M.; CARVALHO, C. M. E. ; PINTO, L. M. O.; GAZINELLI, R. T.; LANNES-VIEIRA, J. TNF/TNFR1 signaling up-regulates CCR5 expression by CD8⁺ T lymphocytes and promotes heart tissue damage during
- LEE, S.H.; SOYOOLA, E.; CHANMUGAM, P.; HART, S.; SUN, W.; ZHONG, H.; LIOU, S.; SIMMONS, D.; HWANG, D. Selective expression of mitogens inducible cyclo-oxygenase in macrophages stimulated with lipopolysaccharide. **J Biol Chem.** v. 267, 25934, 1992.
- LEON, J. S.; ENGMAN, D. M. The significance of autoimmunity in the pathogenesis of Chagas heart disease. **Front Bioscience.** v. 8, p. e315-322, 2003.
- LEON, J.S.; ENGMAN, D.M. Autoimmunity in Chagas' heart disease. **Int J Parasitol.** v. 31, p. 555-561, 2001.
- LEPOIVRE, M.; CHENAIS, B.; YAPO, A.; LEMAIRE, G.; THELANDER, L.; TENU, J.P. Alterations of ribonucleotide reductase activity following induction of the nitrite-generating pathway in adenocarcinoma cells. **J Biol Chem.** v. 265, n. 24, p. 14143-14149, 1990.
- LIEKE, T.; STEEG, C.; GRAEFE, S. E. B.; FLEISCHER, B.; JACOBS, T. Interaction of natural killer cells with *Trypanosoma cruzi*-infected fibroblasts. **Clinical and Experimental Immunology.** v. 145, p. 357-364, 2006.
- LÖFFLER, I.; GRÜN, M.; D BÖHMER, F.; RUBIO, I. Role of cAMP in the promotion of colorectal cancer cell growth by prostaglandin E2. **BMC Cancer.** v. 380. n. 8. p. 1-18, 2008.
- LOPEZ, L.; ARAI, K.; GIMÉNEZ, E.; JIMÉNEZ, M.; PASCUZO, C.; RODRIGUEZ BONFANTE, C.; BONFANTE CABARCAS, R. C-reactive protein and interleukin-6 serum levels increase as Chagas disease progresses towards cardiac failure. **Ver Esp Cardiol.** v. 59, n. 1, p. 50-56, 2006.
- LUQUETTI, A. O.; RASSI, A. Tratamento específico da doença de Chagas. Métodos laboratoriais específicos. **Rev Soc Bras Med Trop.** n. 29, supl II, p. 63-65, 1996.
- LYCKE, N.; SEVERINSON, E.; STROBER, W. Cholera toxin acts synergistically with IL-4 to promote IgG1 switch differentiation. **J Immunol.** v. 145, n. 10, p. 3316-3324, 1990.
- MACHADO, F. S.; SOUTO, J. T.; ROSSI, M. A.; ESPER, L.; TANOWITZ, H. B.; ALIBERTI, J.; SILVA, J. S. Nitric oxide synthase-2 modulates chemokine production by *Trypanosoma cruzi*-infected cardiac myocytes. **Microbes and Infection.** v. 10, p. 1558-1566, 2008.
- MARIANO, F.S.; GUTIERREA, F. R. S.; PAVANELLI, W. R.; MILANEZI, C. M.; CAVASSANI, K. A.; MOREIRA, A. P.; FERREIRA, B. R.; CUNHA, F. Q.; CARDOSO, C. R.; SILVA, J. S. The involvement of CD4₊CD25₊ T cells in the acute phase
- MARINHO, C.R.F.; LIMA, M.R.D.; GRISOTTO, M.G.; ALVAREZ, J.M. Influence of acute phase parasite load on pathology, parasitism, and activation of the immune system at the late chronic phase of Chagas' disease. **Infection Immunity.** p. 308-318, 1999.
- MAROTTA, P.; SANTEBIN, L.; DI ROSA, M. Modulation of the induction of nitric oxide synthase by eicosanoids in the murine macrophage cell line J774. **Br J Pharmacol.** v. 107, p. 640, 1992.
- MARTIN, D. L.; WEATHERLY, D. B.; LAUCELLA, S. A.; CABINIAN, M. A.; CRIM, M. T.; SULLIVAN, S.; HEIGES, M.; CRAVEN, S. H.; ROSENBERG, C. S.; COLLINS, M. H.; SETTE, A.; POSTAN, M.; TARLETON, R. L. CD8⁺ T-Cell Responses to *Trypanosoma cruzi* Are Highly Focused on Strain-

Variant trans-Sialidase Epitopes. **PLoS Pathology**. v. 2, n. 8, p. 731-740, 2006.

MARTINS, G. A. ; VIEIRA, L. Q.; CUNHA, F. Q.; SILVA, J. S. Gamma interferon modulates CD95 (Fas) and CD95 ligand (Fas-L) expression and nitric oxide-induced apoptosis during the acute phase of *Trypanosoma cruzi* infection: a possible role in immune response control. **Infection Immunity**. v. 67, n. 8, p. 3864-3871, Aug. 1999.

MARTINS, L.P.; Da ROSA, J.A.; CASTANHO, R.E.; SAUNTI, G.L.; MEDEIROS, H. Jr. Susceptibility of *Rhodnius neglectus*, *Rhodnius robustus* and *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) to infection by two strains of *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastidae, Trypanosomatidae) using artificial xenodiagnosis. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 33, n. 6, p. 559-563, 2000.

MEDINA, F. A.; COHEN, A. W.; ALMEIDA, C. J.; NAGAJYOTHI, F.; BRAUNSTEIN, V. L.; TEIXEIRA, M. M.; TANOWITZ, H. B.; LISANTI, M. P. Immune Dysfunction in Caveolin-1 Null Mice following Infection with *Trypanosoma cruzi* (Tulahuen Strain). **Microbes Infect**. n. 9, v. 3, p. 325-333, 2007.

MELO, R. C. N. Acute Heart Inflammation: ultrastructural and functional aspects of macrophages elicited by *Trypanosoma cruzi* infection. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**. "Postprint";10.1111/j.1582-4934.2008.00388.x, 2008.

MELO, R. C.; BRENER, Z. Tissue tropism of different *Trypanosoma cruzi* strains. **J Parasitol**. v. 64, n. 3, p. 475-482, 1978.

MELO, R.C.N.; ÁVILA, H.D.; FABRINO, D.L.; ALMEIDA, P.E.; BOZZA, P.T. Macrophage lipid body induction by Chagas disease in vivo: putative intracellular domains for eicosanoid formation during infection. **Tissue Cell**. v. 35, p. 59-67, 2003.

MELO, R.C.N.; MACHADO, C.R.S. *Trypanosoma cruzi*: peripheral blood monocytes and heart macrophages in the resistance to acute experimental infection in rats. **Experimental Parasitology**. v. 97, p. 15-23, 2001.

MICHAILOWSKY, V.; SILVA, N. M.; ROCHA, C. D.; VIEIRA, L. Q.; LANNES VIEIRA, J.; GAZZINELLI, R. T. Pivotal role of interleukin-12 and interferon-gamma axis in controlling tissue parasitism and inflammation in the heart and central nervous system during *Trypanosoma cruzi* infection. **American Journal of Pathology**. v. 159, n. 5, p. 1723-1733, 2001.

MICHELIN, M. A.; SILVA, J. S.; CUNHA, F. Q. C. Inducible cyclooxygenase released prostaglandin mediates immunosuppression in acute phase of

experimental *Trypanosoma cruzi* infection. **Experimental Parasitology**. v. 111, p. 71-79, 2005.

MILLAR, A.E.; KAHN, S.J. *Trypanosoma cruzi*: the effect of nitric oxide synthesis inhibition on the CD4 T cell response to the trans-sialidase superfamily. **Exp Parasitol**. v.94, p. 84-91, 2000.

MINOPRIO, P.; EL CHEICK, M.C.; MURPHY, E.; HONTEBEYRIE JOSKOWICZ, M.; COFFMAN, R. COUTINHO, A.; O'GARRA, A. Xid-associated resistance to experimental Chagas' disease is IFN- γ dependent. **J Immunol**. v. 151, p. 4200-4208, 1993.

MINOPRIO, P.; ITOHARA, S.; HEUSSER, C.; TONEGAWA, S.; COUTINHO, A. Immunobiology of murine *Trypanosoma cruzi* infection: the predominance of parasite-nonspecific responses and the activation of TcR1 T cells. **Immunol Rev**. n. 112, p. 183-207, 1989.

MONCADA, S.; PALMER, R.M.J.; HIGGS, E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacol Rev**. n. 43, p. 109, 1991.

MOSSMANN, T. R.; CHERWINSKI, H.; BOND, M. W.; GIEDLIN, M. A.; COFFMAN, R. L. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. **J Immunol**. v. 136, n. 7, p. 2348-57, 1986.

NABORS, G.S.; TARLETON, R.L. Differential control of IFN- γ and IL-2 production during *Trypanosoma cruzi* infection. **J Immunol**. v. 146, p. 3591, 1991

NICKELL, S. P.; KEANE, M.; SO, M. Further characterization of protective *Trypanosoma cruzi*-specific CD4+ T-cell clones: T helper type 1-like phenotype and reactivity with shed trypomastigote antigens. **Infect Immun**. v. 61, n. 8, p. 3250-8, 1993. of patients with the cardiac form of Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 104, suppl I, p. 100-105, 2009.

OLIVEIRA, G. M.; DINIZ, R. L.; BATISTA, W.; BATISTA, M. M.; CORREA, C. B.; ARAÚJO JORGE, T. C.; HENRIQUES PONS, A. Fas Ligand-Dependent Inflammatory Regulation in Acute Myocarditis Induced by *Trypanosoma cruzi* Infection. **The American Journal of Pathology**. v. 171, n. 1, p. 79-86, 2007.

OSBORN, O.; GRAM, H.; ZORRILLA, E. P.; CONTI, B.; BARTFAI, T. Insights into the roles of the inflammatory mediators IL-1, IL-18 and PGE₂ in obesity and insulin resistance. **Swiss Med Wkly**. v. 138, p. 665-673, 2008.

OUAISSI, A.; da SILVA, A.C.; GUEVARA, A.G.; BORGES, M.; GUILVARD, E. *Trypanosoma cruzi* – induced host immune system dysfunction: a rationale for parasite immunosuppressive factor(s) encoding gene

targeting. **Journal Biomedicine Biotechnology**. n. 1, p. 11-17, 2001.

PEREIRA, S. A. L.; SEVERINO, V. O.; KOHL, N. L. M.; RODRIGUES, D. B. R.; ALVES, P. M.; CLEMENTE NAPIMOGA, J. T.; REIS, M. A.; TEIXEIRA, V. P. A.; NAPIMOGA, M. H. Expression of cytokines and chemokines and microvasculature alterations of the tongue from patients with chronic Chagas' disease. **Parasitology Research**. DOI 10.1007/s00436-009-1513-y, 2009.

PHIPPS, R.P.; ROPER, R.L.; STEIN, R.H. Regulation of B-cell tolerance and triggering by macrophages and lymphoid dendritic cells. **Immunol Rev**. v. 117, n. 135-158, 1990.

PHIPPS, R.P.; STEIN, H.S.; ROPER, R.L. A new view of prostaglandin E regulation of the immune response. **Immunol Today**. v. 12, n. 10, p. 349-352, 1991.

PINGE FILHO, P.; TADOKORO, C.E.; ABRAHAMSOHN, I. Prostaglandins mediate suppression of lymphocyte proliferation and cytokine synthesis in acute *Trypanosoma cruzi* infection. **Cellular Immunology**. v. 193, p. 90-98, 1999.

PLATA, F.; Enhancement of tumor growth correlates with suppression of the tumor specific cytolytic T lymphocyte response in mice chronically infected by *Trypanosoma cruzi*. **J Immunol**. v. 134, p. 1312-1319, 1985.

PRATA, A. Chagas' disease. **Infectious Disease Clinics North America**. v. 8, n. 1, p. 61-76, 1994.

PRATA, A. Classificação da infecção chagásica no homem. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**. v. 23, n. 2, p. 109-113, 1990.

PRATA, A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. **The Lancet Infectious Diseases**. v. 1, p. 92-100, 2001.

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L.H. Métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). Versión en castellano editada y traducida por HEFFES, C.S.; MULLICK, F.G., 1992.

Prostaglandin E2-EP1 and EP2 receptor signaling promotes apical junctional
RADOMSKI, M.W.; PALMER, R.M.J.; MONCADA, S. Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. **Proc Natl Acad Sci USA**. v. 87, p. 10043, 1990.

REED, S.G. Adoptive transfer of resistance to acute *Trypanosoma cruzi* infection with T-lymphocyte-enriched spleen cells. **Infect Immunol**. v. 28, n.2, p. 404-410, 1980.

REED, S.G.; BROWNELL, C.E.; RUSSO, D.M.; SILVA, J.S.; GRABSTEIN, K.H.; MORRISEY, P.J. IL-10 mediates susceptibility to *Trypanosoma cruzi* infection. **J Immunol**. v. 153, p. 3135-3140, 1994.

REED, S.G.; ROTERS, S.B.; GOILD, E.A. Spleen cell-mediated suppression of IgG production to a non-parasite antigen during chronic *Trypanosoma cruzi* infection in mice. **J Immunol**. v. 131, n. 4, p. 1978-1982, 1983.

REIS, D. D.; JONES, E. M.; TOSTES, S.; LOPES, E. R.; GAZZINELLI, G.; COLLEY, D. G.; McCURLEY, T. L. Characterization of inflammatory infiltrates in chronic chagasic myocardial lesions: presence of tumor necrosis factor-alpha+ cells and dominance of granzyme A+, CD8+ lymphocytes. **American Journal Tropical Medicine Hygiene**. v. 48, n. 5, p. 637-644, 1993.

REIS, M. M.; HIGUCHI, M. L.; BENVENUTI, L. A. ; AIELLO, V. D.; GUTIERREZ, P. S.; BELLOTTI, G.; PILEGGI, F. An in situ quantitative immunohistochemical study of cytokines and IL-2R in Chronic Human Chagasic Myocarditis: correlation with the presence of myocardial *T.cruzi* antigens. **Clinical Immunology Immunopathology**. v. 83, n. 2, p. 165-172, May. 1997.

REYES, J. L.; TERRAZAS, L. I.; ESPINOZA, B.; CRUZ ROBLES, D.; SOTO, V.; RIVERA MONTOYA, I.; GÓMEZ GARCÍA, L.; SNIDER, H.; SATOSKAR, A. R.; RODRÍGUEZ SOSA, M. Macrophage Migration Inhibitory Factor Contributes to Host Defense against Acute *Trypanosoma cruzi* Infection. **Infection and Immunity**. n. 6, v. 74, p. 3170-3179, 2006.

ROGGERO, E.; PÉREZ, A. R.; TAMAE KAKAZU, M.; PIAZZON, I.; NEPOMNASCHY, I.; BESEDOVSKY, H. O.; BOTTASSO, O. A.; DEL REY, A. Endogenous glucocorticoids cause thymus atrophy but are protective during acute *Trypanosoma cruzi* infection. **Journal of Endocrinology**. v. 190, p. 495-503, 2006.

ROGGERO, E.; PEREZ, A.; TAMAE KAKAZU, M.; PIAZZON, I.; NEPOMNASCHY, I.; WIETZEBIN, J.; SERRA, E.; REVELLI, S.; BOTTASSO, O. Differential susceptibility to acute *Trypanosoma cruzi* infection in BALB/c and C57BL/6 mice is not associated with a distinct parasite load but cytokine abnormalities. **Clinical Experimental Immunology**. v. 128, p. 421-428, 2002.

ROMAN CAMPOS, D.; DUARTE, H. L. L.; SALES JR, P. A.; NATALI, A. J.; ROPERT, C.; GAZZINELLI, R. T.; CRUZ, J. S. Changes in cellular contractility and cytokines profile during *Trypanosoma cruzi* infection in mice. **Basic Research in Cardiology**. n. 3, v. 104, p. 238-246, 2009.

- ROPER, R.L. *et al.* Prostaglandin E2 promotes IL-4-induced IgE and IgG1 synthesis. **J Immunol.** v. 145, n. 8, p. 2644-2651, 1990.
- ROPER, R.L.; PHIPPS, R.P. Prostaglandin E2 regulation of the immune response. **Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res.** n. 22, p. 101-111, 1994.
- ROSSI, M. A.; GONÇALVES, S.; RIBEIRO DOS SANTOS, R. Experimental *Trypanossoma cruzi* cardiomyopathy in BALB/c mice: The potential role of intravascular platelet aggregation in its genesis. **Am J Pathol.** v. 114, p. 246-253, 1984.
- ROTTENBERG, M. E.; RODRIGUEZ, D. A.; ORN, A. Control of *Trypanossoma cruzi* infection in mice deprived of T-cell help. **Scand J Immunol.** v. 36, p. 261, 1992.
- ROTTENBERG, M.E.; RIARTE, A.; SPORRONG, I.; ALCHEH, J.; PETRAY, P.; RUIZ, A.M.; WIGZELL, H.; ORN, A. Outcome of infection with different strains of *Trypanossoma cruzi* in mice lacking CD4 and/or CD8. **Immunol Lett.** v. 45, p. 53-60, 1995.
- ROWLAND, E.C.; KUHN, R.E. Suppression of cellular responses in mice during *Trypanossoma cruzi* infections. **Infect Immun.** v. 20, p. 393-397, 1978.
- RUSSO, M.; STAROBINAS, N.; MINOPRIO, P.; COUTINHO, A. HONTEBEYRIE-JOSKOWICS, M. Parasitic load increases and myocardial inflammation decreases in *Trypanossoma cruzi*-infected mice after inactivation of helper T cells. **Ann Inst Pasteur Immunol.** v. 139, p. 225-236, 1988.
- SAEFTTEL, M.; FLEISCHER, B.; HOERAUF, A. Stage-dependent role of nitric oxide in control of *Trypanossoma cruzi* infection. **Infection Immunity.** p. 2252-2259, 2001.
- SALVATELLA, R. Achievements in controlling Chagas disease in Latin America. Conference in Geneva (WHO). July, 6, 2007.
- SALVEMINI, D. *et al.* Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. **Proc Natl Acad Scj USA.** v. 90, n. 15, p. 7240-7244, 1993.
- SALVEMINI, D. *et al.* Regulation of prostaglandin production by nitric oxide; an in vivo analysis. **Br J Pharmacol.** V. 114, n. 6, p. 1171-1178, 1995.
- SARDINHA, L. R.; ELIAS, R. M.; MOSCA, T.; BASTOS, K. R.B.; MARINHO, C. R. F.; LIMA, M. R. D.; ÁLVAREZ, J. M. Contribution of NK, NK T, γ T, and $\alpha\beta$ T Cells to the Gamma Interferon Response Required for Liver Protection against *Trypanosoma cruzi*. **Infection and Immunity.** v. 74, n. 4, p. 2031-2042, 2006.
- SATO, M.N.; YAMASHIRO KANASHIRO, E.H.; TANJI, M.M.; KANENO, R.; HIGUCHI, M.L.; DUARTE, A.J.S. CD8+ cells and natural cytotoxic activity among spleen, blood, and heart lymphocytes during the acute phase of *Trypanossoma cruzi* infection in rats. **Infect Immun.** v. 60, p. 1024-1030, 1992.
- SAVINO, W.; VILLA VERDE, D. M. S.; MENDES DA CRUZ, D. A.; SILVA MONTEIRO, E.; PEREZ, A. R.; AOKI, M. D. P.; BOTASSO, O.; GUIÑAZÚ, N.; SILVA BARBOSA, S. D.; GEA, S. Cytokines and cell adhesion receptors in the regulation of immunity to *Trypanosoma cruzi*. **Cytokine & Growth Factor Reviews.** v. 18, p. 107-124, 2007.
- SCHARFSTEIN, J.; MORROT, A. A role for extracellular amastigotes in the immunopathology of Chagas disease. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** v. 94, suppl. I, p. 51-63, Aug. 1999.
- SCHINI, W.L.; DURANTE, W.; ELIZONDO, E.; SCOTT BURDEN, T.; JUNQNERO, D.C.; SCHAFER, A.I.; VANHOUTTE, P.M. The induction of nitric oxide synthase activity is inhibited by TGF- β , PDGF and PDGF in vascular smooth muscle cells. **Eur J Pharmacol.** v. 216, p. 379, 1992.
- SHENG, G.G. *et al.* A selective cyclooxygenase 2 inhibitor suppresses the growth of H-ras-transformed rat intestinal epithelial cells. **Gastroenterology.** v. 113, n. 6, p. 1883-1891, 1997.
- SICHER, S.C.; VASQUEZ, M.A.; LU, C.Y. Inhibition of macrophage Ia expression by nitric oxide. **J Immunol.** v. 153, n. 3, p. 1293-1300, 1994.
- SILVA, J. C.; PIRMEZ, C.; MORGADO, M. G.; GALVÃO CASTRO, B. Immunopathological aspects of experimental *Trypanossoma cruzi* infection: correlation of immune complexes and other serological features with muscle lesions during the infection. **Parasite Immunol.** v. 7, p. 457, 466, 1985.
- SILVA, J. S.; VESPA, G. N. R.; CARDOSO, M. A. G.; ALIBERTI, J. C. S.; CUNHA, F. Q. Tumor necrosis factor alpha mediates resistance to *Trypanossoma cruzi* infection in mice by inducing nitric oxide production in infected gamma interferon-activated macrophages. **Infection Immunity,** v. 63, n. 12, p. 4862-4867, Sep. 1995.
- SILVA, J.S.; MORRISSEY, P.J.; GRABSTEIN, K.H.; MOLLER, K.M.; ANDERSON, D.; REED, S.G. Interleukin 10 and interferon γ regulation of experimental *Trypanossoma cruzi* infection. **Journal Experimental Medicine.** v. 175, p. 169-174, 1992.
- SMITH, W.L.; MARNETT, L.J. Prostaglandin endoperoxide synthase: structure and catalysis. **Biochim Biophys Acta.** v. 1083, p. 1, 1991.

SOARES, M. B. P.; SILVA MOTA, K. N.; LIMA, R. S.; BELLINTANI, M. C.; PONTES DE CARVALHO, L.; RIBEIRO DOS SANTOS, R. Modulation of chagasic cardiomyopathy by interleukin-4 - dissociation between inflammation and tissue parasitism. **American Journal Pathology**. v. 159, n. 2, p. 703-709, Aug. 2001.

SOARES, M.B.P.; DOS SANTOS, R.R. Immunopathology of cardiomyopathy in the experimental Chagas' disease. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 94, suppl I, p. 257-262, 1999.

SOUZA, P. E. A.; ROCHA, M. O. C.; MENEZES, C. A. S.; COELHO, J. S.; CHAVES, SOWA, G.; PRZEWLOCKI, R. cAMP analogues and cholera toxin stimulate the accumulation of nitrite in rat peritoneal macrophage cultures. **Eur J Pharmacol**. V. 266, n. 2, p. 125-129, 1994.

STERIN BORDA, L.; GORELIK, G.; GOREN, N.; CAPPAS, S.G.; CELENTANO, A. M.; BORDA, E. Lymphocyte muscarinic cholinergic activity and PGE2 involvement in experimental *Trypanosoma cruzi* infection. **Clin Immunol Immunopat**. V. 81, n. 2, p. 122-128, 1996.

TAKLE, G.B.; SNARY, D. **South American trypanosomiasis (Chagas' disease)**. In: KENNETH S. WARREN. Immunology of parasite infections. Blackwell scientific publications. p. 213, 1993.

TALVANI, A.; RIBEIRO, C. S.; ALIBERTI, J. C. S.; MICHAJLOWSKY, V.; SANTOS, P. V. A.; MURTA, S. M. F.; ROMANHA, A. J.; ALMEIDA, I. C.; FARBER, J.; LANNES-VIEIRA, J.; SILVA, J. S.; GAZZINELLI, R. T. Kinetics of cytokine gene expression in experimental chagasic cardiomyopathy: tissue parasitism and endogenous IFN- γ as important determinants of chemokine mRNA expression during infection with *Trypanosoma cruzi*. **Microbes Infection**. v. 2, p. 851-866, 2000.

TANAKA, M. N.; DIAZ, B. L.; DE SOUZA, W. ; MORGADO-DIAS, J. A. TANOWITZ, H. B.; BURNS, E. R.; SINHA, A. K. Enhanced platelet adherence and aggregation in Chagas' disease: a potential pathogenic mechanism for cardiomyopathy. **Am J Trop Med Hyg**. n. 43, p. 274-281, 1990.

TARLETON, R.L. Depletion of CD8+ cells increases susceptibility and reverses vaccine induced immunity in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. **J Immunol**. v. 144, p. 717-724, 1990.

TARLETON, R.L. The role of T cells in *Trypanosoma cruzi* infections. **Parasitol Today**. n. 11, p. 7, 1995.

TARLETON, R.L. Tumor necrosis factor (cachectin) production during experimental Chagas' disease. **Clin Exp Immunol**. v. 73, p. 186-190, 1988.

TARLETON, R.L.; KOHLER, B.H.; LATOUR, A.; POSTAN, M. Susceptibility of β 2-microglobulin-deficient mice to *Trypanosoma cruzi* infection. **Nature**. v. 356, p. 338-340, 1992.

TARLETON, R.L.; KUHN, R.E. J IMMUNOL. Restoration of in vitro immune responses of spleen cells from mice infected with *Trypanosoma cruzi* by supernatants containing interleukin - 2. **J Immunol**. v.133, p. 1570-1575, 1984.

TARLETON, R.L.; SCOTT, D.W. Initial induction of immunity, followed by suppression of responses to parasite antigens during *Trypanosoma cruzi* infection of mice. **Parasit Immunol**. v.9, n.5, p. 579-589, 1987.

Te VELDE, A.A. *et al.* Interleukin-4 (IL-4) inhibits secretion of IL-1 beta, tumor necrosis factor alpha, and IL-6 by human monocytes. **Blood**. v. 76, n. 7, p. 1392-1397, 1990.

the acute phase of experimental infection. **Experimental Parasitology**. v. 118, p. 514-521, 2008.

TORRECILHAS, A. C. T.; TONELLI, R. R.; PAVANELLI, W. R.; SILVA, J. S.; SCHUMACHER, R. I.; SOUZA, W.; SILVA, N. C.; ABRAHAMSOHN, I. A.; COLLI, W.; ALVES, M. J. M. *Trypanosoma cruzi*: parasite shed vesicles increase heart parasitism and generate an intense inflammatory response. **Microbes and Infection**. v. 11, p. 29-39, 2009.

TORRICO, F. HEREMANS, H.; RIVERA, T.; VAN MARCK, E.; BILIAU, A.; CARLIER, Y. Endogenous IFN-gamma is required for resistance to acute *Trypanosoma cruzi* infection in mice. **J Immunol**. v. 146, p. 3626-3632, 1991.

Trypanosoma cruzi infection: beneficial effects of TNF- α blockade. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 103. n. 4. P. 375-385, 2008.

TSAI, C. Y. *et al.* Cerebrospinal fluid interleukin-6, prostaglandin E2 and autoantibodies in patients with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus and central nervous system infections. **Scand J Rheumatol**. V. 23, n. 2, p. 57-63, 1994.

UNE, C.; ANDERSSON, J.; ÖRN, A. Role of IFN- α/β and IL-12 in the activation of natural killer cells and IFN- γ production during experimental infection with *Trypanosoma cruzi*. **Clin Exp Immunol**. v. 134, p. 195-201, 2003.

VAN VOORHIS, W. *et al.* Molecular mimicry by *Trypanosoma cruzi*: the FL-160 epitope that mimics mammalian nerve can be mapped to a 12-aminoacid

peptide. **Proc Natl Acad Sci USA**. v. 88, p. 5993-5997, 1991.

VANE, J.R.; BOTTING, R.M. Mediators from the endothelial cell. **Adv Pros Thromb Leuk Res**. n. 21, p. 627, 1990.

VANE, J.R.; BOTTING, R.M. **The prostaglandins**. In: Aspirin and other salicylates. Eds Vane, J.r.; Botting, R.M. Chapman & Hall, London. p. 17, 1992.

VELOSO, V. M.; GUEDES, P. M. M.; ANDRADE, I. M.; CALDAS, I. S.; MARTINS, H. R.; CARNEIRO, C. M.; MACHADO COELHO, G. L. L.; LANA, M.; GALVÃO, L. M. C.; BAHIA, M. T.; CHIARI, E. *Trypanosoma cruzi*: blood parasitism kinetics and their correlation with heart parasitism intensity during long-term infection of Beagle dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 103, n. 6, p. 528-534, 2008.

VODOVOTZ, Y.; BOGDAN, C. Control of nitric oxide synthase expression by transforming growth factor-beta: implications for homeostasis. **Prog Growth Factor Res**. v. 5, n.4, p. 341-351, 1994.

VOGT, J. SOTO, C. D. A.; MINCZL, M. P.; MIRKIN, G. A. Impaired *Trypanosoma cruzi*-specific IFN- γ secretion by T cells bearing the BV9 T-cell receptor is associated with local IL-10 production in non-lymphoid tissues of chronically infected mice **Microbes and Infection**. v 10. P. 781-790, 2008.

WAGHABI, M. C.; COUTINHO, C. M. L. M.; SOEIRO, M. N. C.; PEREIRA, M. C. S.; FEIGE, J.-J.; KERAMIDAS, M.; COSSON, A.; MINOPRIO, P.; VAN LEUVEN, F.; ARAÚJO-JORGE, T. C. Increased *Trypanosoma cruzi* Invasion and Heart Fibrosis Associated with High Transforming Growth Factor β Levels in Mice Deficient in α_2 -Macroglobulin. **Infect Immun**. v. 70, p. 9, p. 5115–5123, 2002.

WALKER, C.; KRISTENSEN, F.; BETTEN, F., de WECK, A. L. Lymphokine regulation of activated (G1) Prostaglandin E2 – induced inhibition of interleukin – 2 production. **J Immunol**. v. 130, p. 1770-1773, 1983.

WARD, L. S.; GUARIENTO, M. E.; FERNANDES, G. A.; MACIEL, R. M. Serum cytokines in chronic Chagas' disease. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 32, n. 3, p. 285-289, 1999.

WARDLAW, M. R.; KAY, A.B. Eosinophils: biology and role in disease. **Adv Immunol**. v. 60, p. 151-266, 1995.

WAYNFORTH, H.B.; FLECKNELL, P.A. **Experimental and surgical technique in the rat**. 2 ED. San Diego, CA – EEUU. Academia Press Inc, 1992.

WHO 2006. Strategic and technical meeting on intensified control of neglected tropical diseases - Report of an international workshop - Berlin, 18-20 April 2005. WHO/CDS/NTD/2006.1.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of Chagas' disease. Report of a WHO Expert Committee. **Who Technical Report Series**. 811, 95p, 1991.

WORTMAN, P., MIYAZAKI, Y., KALUPAHANA, N. S.; KIM, S.; HANSEN-PETRIK, M.; SAXTON, M.; CLAYCOMBE, K. J.; VOY, B. H.; WHELAN, J.; MOUSTAID-MOUSSA, N.n3 and n6 polyunsaturated fatty acids differentially modulate prostaglandin E secretion but not markers of lipogenesis in adipocytes. **Nutrition & Metabolism**. v. 5. n. 6. p. 1-27, 2009.

XIE, W.; ROBERTSON, D.L.; SIMMONS, D.L. Mitogen-inducible prostaglandin G/H synthase: a new target for nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Drugs Dev Res**. n. 25, p. 249, 1992.

YANO, T. *et al*. Interleukin-4 inhibits lipopolysaccharide-induced expression of prostaglandin H synthase-2 in human alveolar macrophages. **J Cell Physiol**. V. 165, n. 1, p. 77-82, 1995.

ZAUZA, P.L.; BORGES PEREIRA, J. Níveis séricos de IgG anti-*Trypanosoma cruzi* na evolução da cardiopatia chagásica crônica, no período de 10 anos. **Rev Soc Bras Med Trop**. v. 34, n. 5, p. 399-405, 2001.

ZUNIGA, E.; ACOSTA RODRIGUEZ, E.; MERINO, M. C.; MONTES, C. GRUPPO, A. Depletion of immature B cells during *Trypanosoma cruzi* infection: involvement of myeloid cells and the cyclooxygenase pathway. **European Journal of Immunology**. v. 35, n. 6, p. 1849-1858, 2005.