
ASPECTOS IMUNOLÓGICOS NA CARDIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA

EDECIO CUNHA-NETO^{1,2,3}, PRISCILA C. TEIXEIRA^{1,2,3}, LUCIANA G. NOGUEIRA^{1,2,3}, JORGE KALIL^{1,2,3}

Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo. 2009;19(1):16-24
RSCESP (72594)-1754

A patogenia da cardiomiopatia chagásica crônica ainda é pouco conhecida, e diversos mecanismos patogênicos foram propostos, como a disautonomia cardíaca, os distúrbios da circulação microvascular, e o dano tecidual imunológico-inflamatório. As observações de que a miocardite é mais frequente e intensa nos estágios mais avançados da doença e de que o prognóstico da cardiopatia chagásica crônica é pior que o de outras cardiomiopatias dilatadas de etiologia não-inflamatória sugerem que o infiltrado inflamatório desempenha papel importante no dano miocárdico. Na última década, tem sido evidenciada a participação de citocinas inflamatórias e de quimiocinas na gênese do infiltrado inflamatório e dano tecidual, assim como de polimorfismos genéticos de genes envolvidos na resposta inflamatória. Cardiopatas chagásicos apresentam produção periférica aumentada de interferon-gama e de fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), comparativamente a pacientes da forma indeterminada, e linfócitos T Th1, produtores de interferon-gama e TNF-alfa, são frequentes no infiltrado inflamatório da cardiopatia chagásica crônica. Neste trabalho, revisaremos os mecanismos imunológicos e moleculares de dano miocárdico na cardiopatia chagásica crônica humana, com ênfase nos resultados obtidos pelo nosso grupo de pesquisa.

Descritores: Cardiomiopatia chagásica crônica. Miocardite. Citocina. Polimorfismo genético. Metabolismo energético.

IMMUNOLOGICAL FEATURES IN CHAGAS CARDIOMYOPATHY

The pathogenesis of chronic Chagas cardiomyopathy is still obscure, and several pathogenetic mechanisms have been postulated, such as cardiac disautonomic syndrome, microvasculature disorders, and immune-inflammatory tissue damage. The finding that myocarditis is more frequent in the advanced stages of the disease, and that the prognosis of chronic Chagas cardiomyopathy is worse than that of other dilated cardiomyopathies of non-inflammatory etiology suggest that the inflammatory infiltrate plays a major role in myocardial damage. In the last decade, increasing evidence has shown that inflammatory cytokines and chemokines play a role in the generation of the inflammatory infiltrate and tissue damage, and genetic polymorphisms of genes involved in the immune-inflammatory response have been associated to disease progression. Chronic Chagas cardiomyopathy patients present an increased peripheral production of the inflammatory Th1 cytokines interferon-gamma and tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) than patients in the asymptomatic/indeterminate form, and Th1-type T cells, producers of interferon-gamma and TNF-alpha, are frequent in the chronic Chagas cardiomyopathy myocardial inflammatory infiltrate. We will review the molecular and immunological mechanisms of myocardial damage in human chronic Chagas cardiomyopathy, with emphasis in results obtained by our research group.

Key words: Cardiomyopathy, Chagas. Myocarditis. Cytokines. Polymorphism, genetic. Energy metabolism.

¹ Laboratório de Imunologia – Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor/HC-FMUSP) – São Paulo, SP.

² Disciplina de Imunologia Clínica e Alergia – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – São Paulo, SP.

³ INCT de Investigação em Imunologia – São Paulo, SP.

Endereço para correspondência:

Edecio Cunha-Neto – Av. Dr. Enéas Carvalho de Aguiar, 44 – Bloco 2 – 9º andar – São Paulo, SP – CEP 05403-001

CONCEITOS GERAIS

A mais importante consequência clínica da doença de Chagas crônica é a cardiopatia chagásica crônica, uma cardiomiopatia inflamatória para a qual evoluem até 30% dos indivíduos infectados. Uma porção significativa desenvolve cardiopatia dilatada, com desfecho fatal. A insuficiência cardíaca de etiologia chagásica tem pior prognóstico (com sobrevida até 50% mais curta) quando comparada à de outras etiologias não-inflamatórias, como a doença isquêmica e a cardiomiopatia dilatada idiopática¹⁻³. Graças a programas de Saúde Pública, a transmissão vetorial está sendo controlada em diversos países da América Latina, como é o caso do Brasil. Entretanto, mesmo que se bloqueie completamente a transmissão vetorial, persistirá o problema de centenas de milhares de pacientes acometidos de cardiopatia chagásica crônica em nosso País, além de outros tantos atualmente na forma indeterminada que virão a desenvolver sintomas cardíacos. Embora as drogas tripanocidas usadas correntemente sejam eficazes para o tratamento da infecção aguda ou da infecção recente de crianças da zona endêmica, sua eficácia para evitar a progressão das lesões cardíacas da cardiopatia chagásica crônica ainda não foi provada⁴, e o tratamento da cardiopatia chagásica crônica é apenas de manutenção. Em pacientes com insuficiência cardíaca refratária, o único tratamento disponível é o transplante cardíaco. A ausência de alternativas de tratamento para a cardiopatia chagásica crônica é consequência do conhecimento limitado que se tem da patogênese das lesões crônicas.

A patogênese da cardiopatia chagásica crônica ainda é assunto de intenso debate, pois não são conhecidos os fatores de suscetibilidade que levam 30% dos indivíduos a desenvolver cardiopatia chagásica crônica após a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), enquanto os restantes 70% permanecem nas formas indeterminada ou digestiva, sem dano cardíaco clinicamente significativo. Existem pelo menos três mecanismos patogênicos principais para explicar o desenvolvimento da cardiopatia chagásica crônica: disautonomia cardíaca, distúrbios da circulação microvascular, e dano tecidual imunológico-inflamatório. Em decorrência do número e da significância dos relatos relacionados ao infiltrado inflamatório, daremos ênfase aos estudos da resposta imune-inflamatória de pacientes chagásicos, em especial aos estudos do miocárdio afetado. Uma revisão recente dos demais mecanismos pode ser encontrada em Marin-Neto et al.⁵.

PATOGÊNESE: INFILTRADO INFLAMATÓRIO LINFOMONONUCLEAR

A característica histopatológica mais evidente em lesões cardíacas de pacientes com cardiopatia chagásica crônica é a presença de miocardite difusa, com processo de intensa remodelação miocárdica, fibrose, com hipertrofia, e danos a cardiomiócitos^{6,7}. O infiltrado inflamatório na cardiopatia chagásica crônica é composto por macrófagos (50%), células B (10%) e células T (40%)⁸, com predominância de 2:1 de células T CD8+ sobre células T CD4+^{9,10}. Várias evidências sugerem fortemente que o infiltrado tem papel patogênico fundamental: 1) na cardiopatia chagásica crônica, o infiltrado é associado à destruição local de cardiomiócitos e fibrose; 2) a cardiopatia chagásica crônica apresenta pior prognóstico e menor taxa de sobrevida que cardiomiopatias de etiologias não-inflamatórias^{2,3}; 3) a frequência de miocardite em biópsias endomiocárdicas é baixa em indivíduos da forma indeterminada, intermediária em pacientes com alterações eletrocardiográficas apenas, e muito alta (93%) em portadores de cardiopatia chagásica crônica com dilatação⁷; e 4) em hamsters cronicamente infectados pelo *T. cruzi*, há correlação positiva entre a celularidade do infiltrado e a dilatação ventricular (dados não publicados), levando à hipótese de que o componente inflamatório de pacientes com cardiopatia chagásica crônica desempenha papel importante na evolução clínica. Os linfócitos infiltrantes do tecido cardíaco na cardiopatia chagásica crônica podem ser células T CD8+, reconhecendo antígenos do *T. cruzi* como a cruzipaina e o FL-160¹¹. Embora seja difícil encontrar ninhos de *T. cruzi* no miocárdio de pacientes com doença de Chagas crônica imunocompetentes, a presença de DNA e antígenos do *T. cruzi* já foi demonstrada^{9,12,13} e foi encontrada associação entre persistência de DNA parasitário e miocardite intensa¹³. Por outro lado, linfócitos T do tipo CD4+ autoimunes, capazes de reconhecer proteínas do miocárdio (como a miosina cardíaca, a proteína mais abundante do coração) em reação cruzada com a proteína B13 do *T. cruzi*, já foram recuperados no miocárdio de pacientes com cardiopatia chagásica crônica¹⁴⁻¹⁶. Qualquer que seja o estímulo antigênico, ele é perene e mantém o infiltrado inflamatório. Além do dano tecidual observado, estudos que analisaram a expressão de moléculas típicas de tecido inflamado indicaram que citocinas inflamatórias devem ser produzidas por tais linfócitos, ao se ativarem em resposta aos antígenos. Histiócitos e células endoteliais do tecido cardíaco de cardiopatia chagásica crônica apresentam expressão aumentada de moléculas HLA de classe I e de classe II, ICAM-1 e selectina-E, enquanto os cardiomiócitos expressam níveis elevados de HLA de classe

I, provavelmente em resposta à produção local de citocinas inflamatórias^{7,17,18}.

CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA FASE AGUDA DA INFECÇÃO PELO *T. cruzi*

A fase aguda da infecção é geralmente assintomática, e em apenas 10% a 30% dos infectados é acompanhada de sintomas semelhantes a uma infecção viral ou de miocardite fulminante. A alta carga parasitária da fase aguda induz poderosa resposta imune celular e humoral contra o *T. cruzi*, levando ao controle – mas não à eliminação completa – do parasita, que persiste no hospedeiro em baixas quantidades. Muitos dos estudos de resposta imune à infecção aguda por *T. cruzi* têm sido realizados em modelos experimentais, como camundongos, pela escassez de casos novos de infecção aguda em humanos nos anos recentes. A resposta imune inata, disparada por moléculas do próprio patógeno, ligantes de receptores da resposta inata como os “toll-like receptors”, que desencadeiam a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6, IL-12, IL-18 e TNF-alfa, assim como células NK e células T do tipo Th1, produtoras de interferon-gama (revisado por Cunha-Neto et al.¹⁹), além de quimiocinas, pequenas citocinas com atividade quimiotática para certos leucócitos, entre elas IP-10, RANTES, MIP-1 alfa, MIP-1 beta e MCP-1/CCL2 (revisado por Teixeira et al.²⁰). Citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e interferon-gama são essenciais para o controle da infecção aguda. Camundongos geneticamente deficientes em várias dessas moléculas são altamente suscetíveis à infecção aguda por *T. cruzi*^{21,22}. Por outro lado, o bloqueio farmacológico do CCR5 com Met-RANTES reduz acentuadamente a intensidade do infiltrado inflamatório cardíaco, sugerindo que a migração de linfócitos na fase aguda é dependente de quimiocinas ligantes desse receptor²³. Observações em grupos pequenos de crianças agudamente infectadas demonstraram tendência de aumento de IL-6 e TNF-alfa circulantes²⁴ e de expressão de interferon-gama por células mononucleares²⁵, corroborando, ao menos parcialmente, os achados em camundongos agudamente infectados.

CITOCINAS E QUIMIOCINAS NA FASE CRÔNICA DA INFECÇÃO PELO *T. cruzi*

Sabe-se hoje que citocinas inflamatórias são continuamente produzidas ao longo da fase crônica da doença de Chagas. Níveis aumentados de produção de TNF-alfa e interferon-gama já foram observados mesmo entre pacientes da forma indeterminada da doença de Chagas^{18,26}, muito provavelmente em resposta à persistência do parasita já menci-

onada anteriormente. Pacientes portadores de cardiopatia chagásica crônica apresentam níveis plasmáticos significativamente aumentados de TNF-alfa e MCP-1/CCL2 em relação aos pacientes da forma indeterminada da doença de Chagas^{27,28}. Adicionalmente, portadores de cardiopatia chagásica crônica apresentam aumento do número de células produtoras de citocinas do tipo interferon-gama em comparação com pacientes da forma indeterminada^{18,29}. Corroborando a importância do interferon-gama e das citocinas inflamatórias na patogênese da cardiopatia chagásica crônica, foi observado que as células mononucleares do infiltrado inflamatório cardíaco produzem interferon-gama (principalmente), TNF-alfa, IL-6 e IL-15, com pouca ou nenhuma produção de IL-4 e IL-10^{7,10,18,30}. Decidimos aprofundar com estudos de expressão gênica o quadro de mediadores inflamatórios do miocárdio na cardiopatia chagásica crônica, muitos dos quais induzíveis por interferon-gama e TNF-alfa por mecanismo de cascata. Observamos níveis significativamente elevados de expressão das quimiocinas CCL3/MIP-1alfa, CCL4/MIP-1beta, CCL5/RANTES e seu receptor CCR5, CXCL9/Mig e CXCL10/IP-10, e seu receptor CXCR3, CCL19, CCL21 e seu receptor CCR7, além da quimiocina CCL2/MCP1 e das citocinas IL-15 e IL-18 no miocárdio de portadores de cardiopatia chagásica crônica, em comparação a portadores de cardiopatias de etiologias não-inflamatórias e doadores normais (dados não publicados).^{30,31} Mais ainda, foi observada, pela primeira vez, correlação positiva entre a expressão das quimiocinas e a intensidade da miocardite, sugerindo fortemente que essas quimiocinas efetivamente dirigem o processo de migração para o miocárdio e são essenciais para o acúmulo de células inflamatórias na cardiopatia chagásica crônica. Corroborando esses achados, nosso grupo observou a presença de células mononucleares CXCR3+ e CCR5+ com fenótipo Th1, e detectamos também a expressão de seus ligantes CXCL9/Mig e CCL5/RANTES no tecido cardíaco de pacientes com cardiopatia chagásica crônica. Esses resultados são consistentes com a hipótese de que células Th1 CCR5+ CXCR3+ inflamatórias pré-ativadas na periferia, cuja existência no sangue periférico de pacientes com cardiopatia chagásica crônica já foi demonstrada³², migram para o tecido miocárdico de pacientes com cardiopatia chagásica crônica por serem portadoras do receptor CCR7, que interagiriam com moléculas CCL19/ELC expressas em vênulas do endotélio alto do miocárdio, onde passam a interagir com os ligantes solúveis dos receptores CCR5 e CXCR3 (dados não publicados). Ao penetrar no miocárdio, esses linfócitos T CXCR3+ e CCR5+ com fenótipo Th1 podem estabelecer uma alça de retroalimentação positiva com a IL-18 produzida localmente, produzindo ain-

da mais interferon-gama e quimiocinas dele dependentes, como CCL5/RANTES, CXCL9/Mig e CXCL10/IP-10, aumentando assim o sinal para migração de mais linfócitos T CXCR3+ e CCR5+ para o miocárdio. Por outro lado, observamos expressão diminuída ou ausente de genes expressos por células T regulatórias (TGF-beta, Foxp3) ou do tipo Th2 (IL-4 e IL-13), sugerindo que a intensa resposta Th1 vigente no miocárdio ocorre na ausência de mecanismos reguladores.

EFEITOS NÃO-INFLAMATÓRIOS DE CITOCINAS SOBRE O MIOCÁRDIO

Nosso grupo e outros encontraram importantes efeitos não-inflamatórios de citocinas na hipertrofia de cardiomiócitos e fibrose, em adição aos efeitos inflamatórios de citocinas e quimiocinas. Observamos ampla sinalização por interferon-gama no miocárdio de pacientes com cardiopatia chagásica crônica, inclusive de genes não expressos por células do infiltrado inflamatório, e demonstramos que o interferon-gama é capaz de induzir diretamente a expressão de fator natriurético atrial em cardiomiócitos, gene embrionário que faz parte da resposta hipertrófica³¹. A IL-18, com expressão aumentada exclusivamente no miocárdio de cardiopatia chagásica crônica, é capaz de induzir hipertrofia de cardiomiócitos³³ e síntese de fibronectina³⁴, enquanto a CCL21, com expressão aumentada no miocárdio tanto de cardiopatia chagásica crônica como no de cardiomiopatias não-inflamatórias, pode induzir quimiotaxia de fibrócitos, síntese de colágeno e fibronectina³⁵. Camundongos transgênicos superexpressando interferon-gama, TNF-alfa ou CCL2/MCP-1 no miocárdio desenvolvem hipertrofia e dilatação cardíaca³⁶⁻³⁸.

Citocinas inflamatórias também podem alterar o metabolismo energético cardíaco. Estudos demonstram que muitas doenças cardíacas, as quais cursam com disfunção mecânica, estão associadas a diminuição de energia, especialmente quando os sistemas de transporte de ácidos graxos para a mitocôndria estão afetados ou pela alteração de outras enzimas envolvidas no metabolismo energético^{39,40}. Foi observado que o tratamento de cardiomiócitos com interferon-gama inibiu o metabolismo oxidativo e reduziu os níveis de ATP produzido⁴¹. Adicionalmente, tratamento com interferon-gama reduz a expressão gênica e os níveis proteicos da creatina quinase em células musculares humanas em cultura, enzima responsável pela exportação do ATP mitocondrial e sua utilização pelas miofibrilas⁴². Visto que o miocárdio de pacientes com cardiopatia chagásica crônica apresenta quantidade significativamente maior de citocinas inflamatórias e sinalização por interferon-gama em relação ao miocárdio de

pacientes com cardiomiopatias de etiologia não-inflamatória, analisamos a expressão proteica de algumas enzimas envolvidas no metabolismo energético. Observamos que o miocárdio de pacientes com cardiopatia chagásica crônica apresenta expressão reduzida das proteínas creatina quinase muscular (CK-M) e creatina quinase mitocondrial em comparação com o miocárdio de pacientes com cardiomiopatias de etiologia não-inflamatória (dados não publicados). A enzima aconitase mitocondrial, que participa do ciclo do ácido cítrico, também apresentou níveis de expressão proteica reduzidos em amostras de pacientes com cardiopatia chagásica crônica em comparação a amostras de pacientes com cardiomiopatias de etiologia não-inflamatória. Adicionalmente, observamos que amostras de pacientes com cardiopatia chagásica crônica tinham expressão reduzida das proteínas ATP sintase cadeia alfa e ATP sintase cadeia beta, participantes do complexo da ATP sintase responsável pela produção de ATP a partir do gradiente de prótons gerado pela fosforilação oxidativa, em comparação a amostras de pacientes com cardiomiopatias de etiologia não-inflamatória.

Nosso grupo também observou expressão gênica aumentada de um número significativo de genes da fosforilação oxidativa e de catabolismo de lipídeos em amostras de miocárdio de pacientes com cardiopatia chagásica crônica em comparação com miocárdio normal ou de cardiopatia dilatada idiopática³¹. O aumento da expressão de genes envolvidos na fosforilação oxidativa observado na cardiopatia chagásica crônica poderia ser um mecanismo compensatório à depleção de ATP, como observado em camundongos geneticamente deficientes na enzima creatina quinase^{43,44}. Na literatura, estudos de *microarray* de cDNA no coração de camundongos infectados por *T. cruzi* demonstraram metabolismo energético diminuído e fosforilação oxidativa alterada⁴⁵. Adicionalmente, um estudo demonstrou que camundongos infectados com *T. cruzi* apresentaram complexos da cadeia respiratória com capacidade reduzida de síntese de ATP⁴⁶. Assim, a infecção pelo *T. cruzi* e o interferon-gama podem inibir o metabolismo energético, comprometendo a produção de ATP do miocárdio, o que pode ter importantes consequências na contratilidade e na condução elétrica.

Dessa forma, podemos inferir a hipótese de que, tão ou mais importante que o dano inflamatório direto (destruição imunológica de cardiomiócitos), os efeitos não-imunológicos de diversos mediadores produzidos localmente no infiltrado, entre os quais interferon-gama, TNF-alfa, MCP-1, IL-18 e CCL21, podem desempenhar importante papel no mecanismo patogênico da cardiopatia chagásica crônica ao induzir modulação da expressão gênica e proteica de cardiomiócitos e fibrócitos em vias fun-

damentais para a expressão do fenótipo da cardiopatia chagásica crônica como a hipertrofia, a fibrose e o metabolismo energético.

GENÉTICA E EVOLUÇÃO DIFERENCIAL À CARDIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA

Embora seja amplamente aceito que o infiltrado inflamatório tem papel no desenvolvimento do dano miocárdico, o mecanismo exato que leva somente o grupo de pacientes com cardiopatia chagásica crônica a desenvolver inflamação miocárdica permanece pouco conhecido. Casos de agregação familiar na cardiopatia chagásica crônica já foram descritos e confirmam a participação de um componente genético de suscetibilidade à doença⁴⁷, podendo ser considerada explicação plausível para o fato de que apenas um terço dos indivíduos infectados desenvolvem cardiopatia chagásica crônica. Foi também demonstrado que mais da metade das variações nos padrões de soropositividade à infecção pelo *T. cruzi* em zona endêmica pode ser atribuível a fatores genéticos⁴⁸. Diferenças individuais na suscetibilidade genética à cardiopatia chagásica crônica poderiam ser decor-

rentes de polimorfismos genéticos funcionalmente relevantes, que levariam a variações na intensidade de resposta imune inata, adaptativa, e de citocinas inflamatórias e quimiocinas envolvidas na patogênese. Esse fato poderia, em parte, ditar a intensidade da miocardite, influenciando a progressão para a cardiopatia chagásica crônica entre pacientes infectados pelo *T. cruzi*.

Variações ou polimorfismos em um único nucleotídeo na sequência do DNA (*Single Nucleotide Polymorphism* – SNP) podem regular a maneira como indivíduos desenvolvem doenças e respondem a patógenos, drogas, vacinas e outros agentes. Recentemente, nosso grupo demonstrou associação entre os polimorfismos nos genes CCL2/MCP-1 (quimiocina inflamatória), BAT1 (inibidor da expressão de genes in-

flamatórios), linfotóxina-alfa e análogo do fator inibitório do NFkB (NFkBIL-1) e a cardiopatia chagásica crônica, comparativamente à forma indeterminada⁴⁹⁻⁵¹. Entre os portadores de cardiopatia chagásica crônica grave, observamos que o genótipo de alta produção de TNF-alfa está ligado a sobrevida significativamente mais curta⁵². Entretanto, o tratamen-

Tabela 1 - Polimorfismos genéticos do hospedeiro estudados na doença de Chagas

| Gene | Polimorfismo | Associação/ suscetibilidade | Ref. |
|-------------------------------|---|-------------------------------------|-------|
| HLA | Diversos classes I e II | Contraditória | 54-60 |
| Cadeia pesada de miosina beta | (CATT) _n | Negativa | 57 |
| CCR5 | +53029 | CCC | 61 |
| NRAMP1 | 5'(GT) _n , -236 C→T, D543N, deleção 3'UTR | Negativa | 62 |
| NOS2 | (CCTTT) _n | Negativa | 63 |
| TNF-alfa | -308, -238, TNF-alfa | Negativa | 64,65 |
| TNF-alfa | -308 | CCC | 66 |
| TNF-alfa | -308, TNF-alfa | Evolução para óbito/ transplante | 52 |
| LTA (linfotóxina-alfa) | +80, +252 | CCC | 67 |
| BAT-1 | -22, 348 | CCC | 51 |
| NFkBIL-1 | -62, -262 | CCC | 49 |
| IL1B | +5810 | CCC | 67 |
| IL-4 | | Negativa | 65 |
| IL-12B | +1188 | CCC | 68 |

CCC = cardiopatia chagásica crônica.

to de hamsters cronicamente infectados por *T. cruzi* com o bloqueador de TNF-alfa usado clinicamente etanercept piorou, ao invés de melhorar como esperado, a função ventricular dos animais tratados⁵³, sugerindo que o balanço fino das citocinas inflamatórias é complexo e que novas intervenções terapêuticas baseadas em bloqueio de citocinas terão que ser embasadas em um conhecimento da patogenia maior que o atual.

Como se pode observar, a busca de associação com genes candidatos para progressão à cardiopatia chagásica crônica teve foco em genes associados às respostas imune e inflamatória (Tabela 1). A associação de polimorfismos em genes como IL1B, TNF, LTA, IL12B e CCR5 com evolução

para cardiopatia chagásica crônica está de acordo com o esperado, tendo em vista o importante papel da migração dependente de quimiocinas e das citocinas inflamatórias na patogênese da cardiopatia chagásica crônica. Como qualquer doença multigênica, o efeito de cada gene individual é pequeno (1% a 10% da suscetibilidade) e acredita-se que a combinação de vários genes de suscetibilidade com fatores ambientais (por exemplo, infecção por *T. cruzi*) poderia determinar a suscetibilidade de um indivíduo infectado a evoluir para a cardiopatia chagásica crônica ou permanecer na forma indeterminada indefinidamente. Polimorfismos em ou-

tros genes, talvez genes cardiovasculares relacionados com a resposta do tecido miocárdico à inflamação ou à insuficiência cardíaca, poderiam ser determinantes para a evolução para formas mais graves ou óbito. Somente estudos com grande número de pacientes por grupo, abordando grande número de polimorfismos em genes diferentes, permitirão que se possa ter um quadro mais completo do mapa genético de suscetibilidade à cardiopatia chagásica crônica. A identificação dos fatores genéticos preditores para a progressão clínica pode permitir a definição de modalidades de tratamento apropriadas.

REFERÊNCIAS

- Mady C, Cardoso RH, Barretto AC, da Luz PL, Bellotti G, Pileggi F. Survival and predictors of survival in patients with congestive heart failure due to Chagas' cardiomyopathy. *Circulation*. 1994 Dec;90(6):3098-102.
- Bocchi EA. [Update on indications and results of the surgical treatment of heart failure]. *Arq Bras Cardiol*. 1994 Dec;63(6):523-30.
- Bestetti RB, Muccillo G. Clinical course of Chagas' heart disease: a comparison with dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol*. 1997 Jul 25;60(2):187-93.
- Teixeira AR, Cunha Neto E, Rizzo LV, Silva R. Trypanocidal nitroarene treatment of experimental *Trypanosoma cruzi* infection does not prevent progression of chronic-phase heart lesions in rabbits. *J Infect Dis*. 1990 Dec;162(6):1420.
- Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simões MV. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. *Circulation*. 2007 Mar 6;115(9):1109-23.
- Pereira-Barretto AC, Mady C, Arteaga-Fernandez E, et al. Right ventricular endomyocardial biopsy in chronic Chagas' disease. *Am Heart J*. 1986 Feb;111(2):307-12.
- Higuchi ML, De Moraes CF, Pereira-Barretto AC, et al. The role of active myocarditis in the development of heart failure in chronic Chagas' disease: a study based on endomyocardial biopsies. *Clin Cardiol*. 1987 Nov;10(11):665-70.
- Milei J, Storino R, Fernandez Alonso G, Beigelman R, Vanzulli S, Ferrans VJ. Endomyocardial biopsies in chronic chagasic cardiomyopathy. Immunohistochemical and ultrastructural findings. *Cardiology*. 1992;80(5-6):424-37.
- Higuchi Mde L, Gutierrez PS, Aiello VD, et al. Immunohistochemical characterization of infiltrating cells in human chronic chagasic myocarditis: comparison with myocardial rejection process. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1993;423(3):157-60.
- Reis DD, Jones EM, Tostes S Jr, et al. Characterization of inflammatory infiltrates in chronic chagasic myocardial lesions: presence of tumor necrosis factor-alpha+ cells and dominance of granzyme A+, CD8+ lymphocytes. *Am J Trop Med Hyg*. 1993 May;48(5):637-44.
- Fonseca SG, Moins-Teisserenc H, Clave E, et al. Identification of multiple HLA-A*0201-restricted cruzipain and FL-160 CD8+ epitopes recognized by T cells from chronically *Trypanosoma cruzi*-infected patients. *Microbes Infect*. 2005 Apr;7(4):688-97.
- Jones EM, Colley DG, Tostes S, Lopes ER, Vnencak-Jones CL, McCurley TL. Amplification of a *Trypanosoma cruzi* DNA sequence from inflammatory lesions in human chagasic cardiomyopathy. *Am J Trop Med Hyg*. 1993 Mar;48(3):348-57.
- Benvenuti LA, Roggerio A, Freitas HF, Mansur AJ, Fiorelli A, Higuchi ML. Chronic American trypanosomiasis: parasite persistence in endomyocardial biopsies is associated with high-grade myocarditis. *Ann Trop Med Parasitol*. 2008 Sep;102(6):481-7.
- Abel LC, Iwai LK, Viviani W, et al. T cell epitope characterization in tandemly repetitive *Trypanosoma cruzi* B13 protein. *Microbes Infect*. 2005 Aug-Sep;7(11-12):1184-95.
- Cunha-Neto E, Coelho V, Guilherme L, Fiorelli A, Stolf N, Kalil J. Autoimmunity in Chagas' disease. Identification of cardiac myosin-B13 *Trypanosoma cruzi* protein crossreactive T cell clones in heart lesions of a chronic Chagas' cardiomyopathy patient. *J Clin Invest*. 1996;98:1709-12.
- Abel LC, Kalil J, Cunha Neto E. Molecular mimicry between cardiac myosin and *Trypanosoma cruzi* antigen B13: identification of a B13-driven human T cell clone that recognizes cardiac myosin. *Braz J Med Biol Res*.

- 1997 Nov;30(11):1305-8.
17. Reis DD, Jones EM, Tostes S, et al. Expression of major histocompatibility complex antigens and adhesion molecules in hearts of patients with chronic Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg.* 1993 Aug;49(2):192-200.
 18. Abel LC, Rizzo LV, Ianni B, et al. Chronic Chagas' disease cardiomyopathy patients display an increased IFN-gamma response to *Trypanosoma cruzi* infection. *J Autoimmun.* 2001 Aug;17(1):99-107.
 19. Cunha-Neto E, Teixeira PC, Nogueira LG, et al. [New concepts on the pathogenesis of chronic Chagas cardiomyopathy: myocardial gene and protein expression profiles]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2006;39 Suppl 3:59-62.
 20. Teixeira MM, Gazzinelli RT, Silva JS. Chemokines, inflammation and *Trypanosoma cruzi* infection. *Trends Parasitol.* 2002 Jun;18(6):262-5.
 21. Michailowsky V, Silva NM, Rocha CD, Vieira LQ, Lannes-Vieira J, Gazzinelli RT. 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. *Am J Pathol.* 2001 Nov;159(5):1723-33.
 22. Campos MA, Closel M, Valente EP, et al. Impaired production of proinflammatory cytokines and host resistance to acute infection with *Trypanosoma cruzi* in mice lacking functional myeloid differentiation factor 88. *J Immunol.* 2004 Feb 1;172(3):1711-8.
 23. Marino AP, da Silva A, dos Santos P, et al. Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES) antagonist (Met-RANTES) controls the early phase of *Trypanosoma cruzi*-elicited myocarditis. *Circulation.* 2004 Sep 14;110(11):1443-9.
 24. Moretti E, Basso B, Cervetta L, Brigada A, Barbieri G. Patterns of cytokines and soluble cellular receptors in the sera of children with acute Chagas' disease. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002 Nov;9(6):1324-7.
 25. Samudio M, Montenegro-James S, de Cabral M, et al. Differential expression of systemic cytokine profiles in Chagas' disease is associated with endemicity of *Trypanosoma cruzi* infections. *Acta Trop.* 1998 May;69(2):89-97.
 26. Ribeiro M, Pereira-Chioccola VL, Renia L, Augusto Fragata Filho A, Schenkman S, Rodrigues MM. Chagasic patients develop a type 1 immune response to *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase. *Parasite Immunol.* 2000 Jan;22(1):49-53.
 27. Ferreira RC, Ianni BM, Abel LC, et al. Increased plasma levels of tumor necrosis factor-alpha in asymptomatic/ "indeterminate" and Chagas disease cardiomyopathy patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003 Apr;98(3):407-11.
 28. Talvani A, Rocha MO, Barcelos LS, Gomes YM, Ribeiro AL, Teixeira MM. Elevated concentrations of CCL2 and tumor necrosis factor-alpha in chagasic cardiomyopathy. *Clin Infect Dis.* 2004 Apr 1;38(7):943-50.
 29. Gomes JA, Bahia-Oliveira LM, Rocha MO, Martins-Filho OA, Gazzinelli G, Correa-Oliveira R. Evidence that development of severe cardiomyopathy in human Chagas' disease is due to a Th1-specific immune response. *Infect Immun.* 2003 Mar;71(3):1185-93.
 30. Fonseca SG, Reis MM, Coelho V, et al. Locally produced survival cytokines IL-15 and IL-7 may be associated to the predominance of CD8+ T cells at heart lesions of human chronic Chagas disease cardiomyopathy. *Scand J Immunol.* 2007 Aug-Sep;66(2-3):362-71.
 31. Cunha-Neto E, Dzau VJ, Allen PD, et al. Cardiac gene expression profiling provides evidence for cytokinopathy as a molecular mechanism in Chagas' disease cardiomyopathy. *Am J Pathol.* 2005 Aug;167(2):305-13.
 32. Gomes JA, Bahia-Oliveira LM, Rocha MO, et al. Type 1 chemokine receptor expression in Chagas' disease correlates with morbidity in cardiac patients. *Infect Immun.* 2005 Dec;73(12):7960-6.
 33. Chandrasekar B, Mummidi S, Claycomb WC, Mestril R, Nemer M. Interleukin-18 is a pro-hypertrophic cytokine that acts through a phosphatidylinositol 3-kinase-phosphoinositide-dependent kinase-1-Akt-GATA4 signaling pathway in cardiomyocytes. *J Biol Chem.* 2005 Feb 11;280(6):4553-67.
 34. Reddy VS, Harskamp RE, van Ginkel MW, et al. Interleukin-18 stimulates fibronectin expression in primary human cardiac fibroblasts via PI3K-Akt-dependent NF-kappaB activation. *J Cell Physiol.* 2008 Jun;215(3):697-707.
 35. Riol-Blanco L, Sanchez-Sanchez N, Torres A, et al. The chemokine receptor CCR7 activates in dendritic cells two signaling modules that independently regulate chemotaxis and migratory speed. *J Immunol.* 2005 Apr 1;174(7):4070-80.
 36. Kubota T, Bounoutas GS, Miyagishima M, et al. Soluble tumor necrosis factor receptor abrogates myocardial inflammation but not hypertrophy in cytokine-induced cardiomyopathy. *Circulation.* 2000 May 30;101(21):2518-25.
 37. Reifenberg K, Lehr HA, Torzewski M, et al. Interferon-gamma induces chronic active myocarditis and cardiomyopathy in transgenic mice. *Am J Pathol.* 2007

- Aug;171(2):463-72.
38. Kolattukudy PE, Quach T, Bergese S, et al. Myocarditis induced by targeted expression of the MCP-1 gene in murine cardiac muscle. *Am J Pathol.* 1998 Jan;152(1):101-11.
 39. Johnston DL, Lewandowski ED. Fatty acid metabolism and contractile function in the reperfused myocardium. Multinuclear NMR studies of isolated rabbit hearts. *Circ Res.* 1991 Mar;68(3):714-25.
 40. Carvajal K, Moreno-Sanchez R. Heart metabolic disturbances in cardiovascular diseases. *Arch Med Res.* 2003 Mar-Apr;34(2):89-99.
 41. Wang D, McMillin JB, Bick R, Buja LM. Response of the neonatal rat cardiomyocyte in culture to energy depletion: effects of cytokines, nitric oxide, and heat shock proteins. *Lab Invest.* 1996 Dec;75(6):809-18.
 42. Kalovidouris AE, Plotkin Z, Graesser D. Interferon-gamma inhibits proliferation, differentiation, and creatine kinase activity of cultured human muscle cells. II. A possible role in myositis. *J Rheumatol.* 1993 Oct;20(10):1718-23.
 43. Heddi A, Stepien G, Benke PJ, Wallace DC. Coordinate induction of energy gene expression in tissues of mitochondrial disease patients. *J Biol Chem.* 1999 Aug 13;274(33):22968-76.
 44. de Groof AJ, Smeets B, Groot Koerkamp MJ, et al. Changes in mRNA expression profile underlie phenotypic adaptations in creatine kinase-deficient muscles. *FEBS Lett.* 2001 Sep 28;506(1):73-8.
 45. Garg N, Popov VL, Papaconstantinou J. Profiling gene transcription reveals a deficiency of mitochondrial oxidative phosphorylation in *Trypanosoma cruzi*-infected murine hearts: implications in chagasic myocarditis development. *Biochim Biophys Acta.* 2003 Jul 14;1638(2):106-20.
 46. Vyatkina G, Bhatia V, Gerstner A, Papaconstantinou J, Garg N. Impaired mitochondrial respiratory chain and bioenergetics during chagasic cardiomyopathy development. *Biochim Biophys Acta.* 2004 Jun 28;1689(2):162-73.
 47. Zicker F, Smith PG, Netto JC, Oliveira RM, Zicker EM. Physical activity, opportunity for reinfection, and sibling history of heart disease as risk factors for Chagas' cardiopathy. *Am J Trop Med Hyg.* 1990 Nov;43(5):498-505.
 48. Williams-Blangero S, Vandeberg JL, Blangero J, Teixeira AR. Genetic epidemiology of seropositivity for *Trypanosoma cruzi* infection in rural Goias, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 1997 Nov;57(5):538-43.
 49. Ramasawmy R, Fae KC, Cunha-Neto E, et al. Variants in the promoter region of IKBL/NFKBIL1 gene may mark susceptibility to the development of chronic Chagas' cardiomyopathy among *Trypanosoma cruzi*-infected individuals. *Mol Immunol.* 2008 Jan;45(1):283-8.
 50. Ramasawmy R, Cunha-Neto E, Fae KC, et al. The monocyte chemoattractant protein-1 gene polymorphism is associated with cardiomyopathy in human chagas disease. *Clin Infect Dis.* 2006 Aug 1;43(3):305-11.
 51. Ramasawmy R, Cunha-Neto E, Fae KC, et al. BAT1, a putative anti-inflammatory gene, is associated with chronic Chagas cardiomyopathy. *J Infect Dis.* 2006 May 15;193(10):1394-9.
 52. Drigo SA, Cunha-Neto E, Ianni B, et al. TNF gene polymorphisms are associated with reduced survival in severe Chagas' disease cardiomyopathy patients. *Microbes Infect.* 2006 Mar;8(3):598-603.
 53. Bilate AM, Salemi VM, Ramires FJ, et al. TNF blockade aggravates experimental chronic Chagas disease cardiomyopathy. *Microbes Infect.* 2007 Jul;9(9):1104-13.
 54. Colorado IA, Acquatella H, Cataliotti F, Fernandez MT, Layrisse Z. HLA class II DRB1, DQB1, DPB1 polymorphism and cardiomyopathy due to *Trypanosoma cruzi* chronic infection. *Hum Immunol.* 2000 Mar;61(3):320-5.
 55. Cruz-Robles D, Reyes PA, Monteon-Padilla VM, Ortiz-Muniz AR, Vargas-Alarcon G. MHC class I and class II genes in Mexican patients with Chagas disease. *Hum Immunol.* 2004 Jan;65(1):60-5.
 56. Deghaide NH, Dantas RO, Donadi EA. HLA class I and II profiles of patients presenting with Chagas' disease. *Dig Dis Sci.* 1998 Feb;43(2):246-52.
 57. Fae KC, Drigo SA, Cunha-Neto E, et al. HLA and beta-myosin heavy chain do not influence susceptibility to Chagas disease cardiomyopathy. *Microbes Infect.* 2000 Jun;2(7):745-51.
 58. Fernandez-Mestre MT, Layrisse Z, Montagnani S, et al. Influence of the HLA class II polymorphism in chronic Chagas' disease. *Parasite Immunol.* 1998 Apr;20(4):197-203.
 59. Layrisse Z, Fernandez MT, Montagnani S, et al. HLA-C(*)03 is a risk factor for cardiomyopathy in Chagas disease. *Hum Immunol.* 2000 Sep;61(9):925-9.
 60. Nieto A, Beraun Y, Collado MD, et al. HLA haplotypes are associated with differential susceptibility to *Trypanosoma cruzi* infection. *Tissue Antigens.* 2000 Mar;55(3):195-8.
 61. Calzada JE, Nieto A, Beraun Y, Martin J. Chemokine receptor CCR5 polymorphisms and Chagas' disease

- cardiomyopathy. *Tissue Antigens*. 2001 Sep;58(3):154-8.
62. Calzada JE, Nieto A, Lopez-Nevot MA, Martin J. Lack of association between NRAMP1 gene polymorphisms and *Trypanosoma cruzi* infection. *Tissue Antigens*. 2001 Apr;57(4):353-7.
63. Calzada JE, Lopez-Nevot MA, Beraun Y, Martin J. No evidence for association of the inducible nitric oxide synthase promoter polymorphism with *Trypanosoma cruzi* infection. *Tissue Antigens*. 2002 Apr;59(4):316-9.
64. Beraun Y, Nieto A, Collado MD, Gonzalez A, Martin J. Polymorphisms at tumor necrosis factor (TNF) loci are not associated with Chagas' disease. *Tissue Antigens*. 1998 Jul;52(1):81-3.
65. Drigo SA, Cunha-Neto E, Ianni B, et al. Lack of association of tumor necrosis factor-alpha polymorphisms with Chagas disease in Brazilian patients. *Immunol Lett*. 2007 Jan 15;108(1):109-11.
66. Rodriguez-Perez JM, Cruz-Robles D, Hernandez-Pacheco G, et al. Tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism in Mexican patients with Chagas' disease. *Immunol Lett*. 2005 Apr 15;98(1):97-102.
67. Ramasawmy R, Fae KC, Cunha-Neto E, et al. Polymorphisms in the gene for lymphotoxin-alpha predispose to chronic Chagas cardiomyopathy. *J Infect Dis*. 2007 Dec 15;196(12):1836-43.
68. Zafra G, Morillo C, Martin J, Gonzalez A, Gonzalez CI. Polymorphism in the 3' UTR of the IL12B gene is associated with Chagas' disease cardiomyopathy. *Microbes Infect*. 2007 Jul;9(9):1049-52.
-