

PATOGÊNESE DA DOENÇA DE CHAGAS NA ERA ATUAL: MICRORGANISMOS E MICROPARTÍCULAS

THE PRESENT-DAY PATHOGENESIS OF CHAGAS DISEASE: MICROORGANISMS AND MICROPARTICLES

RESUMO

Maria de Lourdes Higuchi¹
Marcia Martins Reis¹
Joyce Tiyeke Kawakami¹

1. Instituto do Coração do Hospital
das Clínicas da Faculdade de
Medicina da USP

Correspondência:
Instituto do Coração - HC FMUSP
Laboratório de Patologia Cardíaca
Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar,
44 - 1º SubSolo - Bloco II - sala 46.
anplourdes@incor.usp.br

A presente revisão descreve os principais achados anatomopatológicos que caracterizam a cardiopatia chagásica crônica, discute a teoria autoimune e parassimpaticopriva que dominaram a explicação patogênica nas últimas décadas e propõe novos caminhos a partir de achados mais recentes. Esses achados se relacionam com a presença de outros microrganismos que talvez tenham sejam levados até o miocárdio por estarem em simbiose com o *T. cruzi*, como micoplasmas, clamídias e arqueias. As arqueias têm como característica aumentar a inflamação por apresentarem antígenos aos linfócitos T CD8+. A inflamação exacerbada pode levar à vasodilatação da microcirculação e à falha na distribuição de sangue no miocárdio, ocasionando áreas de isquemia em regiões distais de dupla irrigação. Isto explicaria as regiões de afinamento e dilatação aneurismática ventricular, bem como a fibrose e infiltração gordurosa do sistema de condução (feixe de His, nó sinoatrial e atrioventricular). Esses microrganismos no interior da fibra cardíaca podem induzir uma resposta imunológica com fibrose ao redor dos cardiomiócitos, os quais se tornam extremamente hipertroficados por não entrarem em apoptose. A simbiose entre esses microrganismos pode levar à produção de micropartículas infecciosas que circulam e fazem parte da patogenia da descompensação cardíaca. Assim, a ação terapêutica na doença de Chagas deveria incluir a eliminação simultânea desses diferentes microrganismos e não somente do *T. cruzi*.

Descritores: Doença de Chagas; Patogenia e micropartículas; Micropartículas derivadas de células.

ABSTRACT

*This review describes the main anatomopathological findings that characterize chronic Chagasic cardiomyopathy, discusses the autoimmune and parasympathetic dysautonomia theories that have dominated the pathogenic explanation in recent decades, and proposes new routes based on the most recent findings. These findings relate to the presence of other microorganisms, such as micoplasmas, chlamydias and archaea, that are perhaps carried to the myocardium as they are in symbiosis with *T. cruzi*. A characteristic of archaea is that they increase inflammation by presenting T CD8+ lymphocyte antigens. Exacerbated inflammation may lead to vasodilation of the microcirculation and failure of blood distribution in the myocardium, leading to areas of ischemia in distal regions of double irrigation. This would explain the regions of thinning and dilation of the ventricular aneurysm, as well as the fibrosis and fatty infiltration of the conduction system (His bundle, sinoatrial node and atrioventricular node). These microorganisms in the interior of the heart fiber may lead to an immunological response with fibrosis around the cardiomyocytes, which become extremely hypertrophic, as they do not enter apoptosis. The symbiosis between these microorganisms can lead to the production of infectious microparticles that circulate and form part of the pathogenesis of decompensated heart failure. The therapeutic conduct in Chagas disease should therefore include the simultaneous elimination of these different microorganisms, and not only of *T. cruzi*.*

Descriptors: Chagas Disease; Pathogenesis, Homeopathic; Cell-Derived Microparticles.

Nesta revisão, descrevemos os principais aspectos anatomo-patológicos das diferentes fases da doença de Chagas e as principais teorias patogênicas.

FASE AGUDA

A maioria dos pacientes sobrevive à infecção da fase aguda que habitualmente ocorre na infância. Alguns morrem em insuficiência cardíaca, com cardiomegalia, miocárdio flácido e congesto, trombose intracavitária e linfonodos subepicárdicos aumentados. Há miocardite por infiltrado mononuclear e edema sendo frequente ninhos de amastigotas do *T. cruzi*, não havendo correlação entre grau do parasitismo tecidual e intensidade da resposta inflamatória, sugerindo que não só o *T. cruzi* está presente. A inflamação por vezes acomete o sistema de condução cardíaco. Alterações eletrocardiográficas são semelhantes às de outras miocardites agudas, taquicardia sinusal, diminuição dos complexos QRS e alterações do segmento ST e da onda T, com maior incidência de bloqueio de ramo direito.

FASE CRÔNICA

A fase crônica é dividida em forma indeterminada, cardíaca, digestiva, nervosa ou reativação. Vamos abordar as formas indeterminada, cardíaca e a reativação.

a. Forma indeterminada (FI) - Os pacientes levam vida normal e são isentos do risco de morte súbita. Biópsias endomiocárdicas e autópsias de indivíduos chagásicos nesta forma que faleceram por outras causas revelam ausência de lesões miocárdicas ou miocardite crônica discreta e focal, e lesões do sistema nervoso autônomo intracardíaco.^{1,2}

b. Forma crônica cardíaca - O comprometimento do coração pode levar a alterações do ritmo, fenômenos tromboembólicos, insuficiência cardíaca (IC) congestiva ou morte súbita. As alterações eletrocardiográficas referem-se a retardo na condução atrioventricular, anormalidades na repolarização ventricular e extrasístoles. A alteração clássica é bloqueio do ramo direito, às vezes associado a bloqueio divisional anterosuperior esquerdo. Na forma cardíaca crônica sintomática, pode haver predomínio de arritmias ou de IC. As arritmias, principalmente extrasístoles ventriculares, aumentam com a redução da fração de ejeção, sendo esta considerada o principal marcador prognóstico de mortalidade.

O paciente pode falecer subitamente (morte súbita esperada) que se associa geralmente a arritmia ventricular. As bradiarritmias sintomáticas têm comprovadamente tratamento eficaz com implante de marcapasso. Arritmia ventricular complexa (como taquicardia ventricular não sustentada) ou disfunção ventricular acentuada tem indicação de tratamento com medicamentos antiarrítmicos. Uma das complicações arrítmicas mais graves, frequentemente associada à morte súbita, é a taquicardia ventricular sustentada, que é a reentrada do estímulo elétrico em uma região circunscrita dos ventrículos, onde se encontra fibrose intensa entremeada de fibras miocárdicas viáveis, o que leva a condução do estímulo elétrico mais lento,³ onde a ablação cirúrgica ou por cateter desse foco, interrompendo o circuito reentrante tem sido indicada.^{4,5} Nos indivíduos que falecem de modo súbito, o coração é pouco ou moderadamente aumentado de volume quando sem grave insuficiência cardíaca, por discreta a moderada hipertrofia e discreta dilatação dos ventrículos.

Quando falecem por insuficiência cardíaca mostram coração bastante aumentado de volume, com muita hipertrofia, globoso, com epicardite crônica em forma de placas, faixas ou pequenos nódulos ao longo das coronárias. Há dilatação de átrios e ventrículos, sendo frequente trombose intracavitária, com sede mais frequente no átrio direito e, em seguida, ponta do ventrículo esquerdo. Os trombos podem se desprender e formar êmbolos, ou sofrer organização, ficando o endocárdio espessado, esbranquiçado.

c. Reativação da doença crônica - Aspectos histológicos semelhantes aos da fase aguda podem ocorrer na evolução pós-transplante cardíaco em pacientes chagásicos ou em estados de imunossupressão como AIDS.⁶ Nesses casos, é comum o aparecimento de nódulos na pele que lembram o chagoma de inoculação: infiltrado de mononucleares no tecido subcutâneo contendo numerosas formas amastigotas do *T. cruzi*. O diagnóstico de reagudização pode ser feito também pelo achado de tripomastigotas no exame direto do sangue ou da medula óssea, ou de parasitos em biópsia endomiocárdica de acompanhamento usual pós-transplante. Estes achados indicam que o parasita permanece residente no paciente sob controle do sistema imune, mesmo após a retirada o coração doente. Essa complicação de reagudização pós-transplante ficou mais rara porque os pacientes chagásicos têm recebido doses menores de tratamento imunossupressor.⁷

A ISQUEMIA, A FIBROSE E AS LESÕES DE AFILAMENTO DO MIOCÁRDIO

A lesão da ponta do ventrículo esquerdo na doença de Chagas é representada por afilamento, podendo acometer também o ventrículo direito, com desaparecimento total ou parcial do miocárdio, e substituição por fibrose. Também conhecida como lesão vorticilar pode se apresentar com protrusão (aneurisma) apical.⁸ Muito comuns são as lesões do sistema nervoso autônomo intracardíaco, constituído por fibras nervosas e gânglios distribuídos no tecido gorduroso do epicárdio da parede dos átrios e do septo interatrial, que também é atingido pela inflamação, originando ganglionite, periganglionite e neurite crônicas. A lesão inicia-se já na fase aguda e contribui para a destruição neuronal que se continua na fase crônica da infecção. Para alguns estudiosos, a despopulação neuronal seria a principal responsável pela cardiopatia chagásica crônica (antigamente denominada cardiopatia parassimpaticopriva);⁹ e seria um fator indutor de aneurisma da ponta e outras alterações fibróticas chagásicas.^{10,11} Outra teoria proposta é que as alterações no sistema de condução decorrentes da infecção pelo *T. cruzi* na fase aguda destruiriam um ramo que levaria a informação elétrica de contração para a ponta do ventrículo esquerdo, o que causaria dilatação dessa região por falta de ativação elétrica.¹² Além da ponta, outras áreas de afilamento do miocárdio podem ocorrer, sendo uma das mais frequentes a região posterolateral do ventrículo esquerdo, próximo à valva mitral. Essa lesão é caracterizada por fibrose contendo fibras cardíacas remanescentes, à semelhança do infarto do miocárdio, sugerindo que essas lesões estão relacionadas com isquemia prévia.

Estudos prévios nossos sugerem que afilamentos da parede ventricular ocorrem por falta de suprimento sanguíneo

devido à baixa pressão de perfusão distal. Estudamos corações de autópsia de pacientes que morreram em grave IC, e que mostraram intensa dilatação da microcirculação, que pode ter sido induzida por citocinas ou substâncias vasodilatadoras.¹³ Tal vasodilatação não foi vista em pacientes com cardiomiopatia dilatada idiopática. Assim, a hipótese que levantamos é que a vasodilatação pode ocasionar uma falha na regulação arteriolar de distribuição equitativa de sangue, levando a diminuição da pressão de perfusão distal, isquemia e necrose principalmente nas regiões limítrofes de dupla irrigação (*watershed* ou *borderzone*).¹⁴ Poder-se-ia, assim, explicar também pequenos focos de fibrose e tecido de granulação sugestiva de sequelas isquêmicas presentes difusamente no miocárdio de pacientes chagásicos. A falha na perfusão distal pode levar a áreas mais extensas de isquemia com substituição do tecido miocárdico por fibrose ou tecido adiposo nas regiões limítrofes de dupla irrigação, o que poderia explicar as lesões de adelgaçamento no ápice e na região posterolateral do VE, irrigadas, respectivamente, pelas artérias interventriculares anteriores e posteriores, artérias circunflexas e artéria coronária direita. (demonstrados no esquema da Figura 1 e aspectos macro e microscópicos na Figura 2) Essa lesão pode ser identificada *in vivo* por ressonância magnética.¹⁵ Corroborando nossos achados, estudos radiológicos *post mortem* mostraram alterações vasculares no ápice de corações chagásicos com vasos distorcidos e escassos, associados com diminuída densidade arterial, sugerindo isquemia no aneurisma apical.¹⁶

Estas falhas de perfusão podem explicar relatos clínicos de pacientes chagásicos de dor torácica, porém cinecoronariografia normal, mas análise com thallium 201 mostrando defeitos de perfusão em segmentos durante teste de esforço. Os defeitos eram reversíveis em regiões com mobilidade da

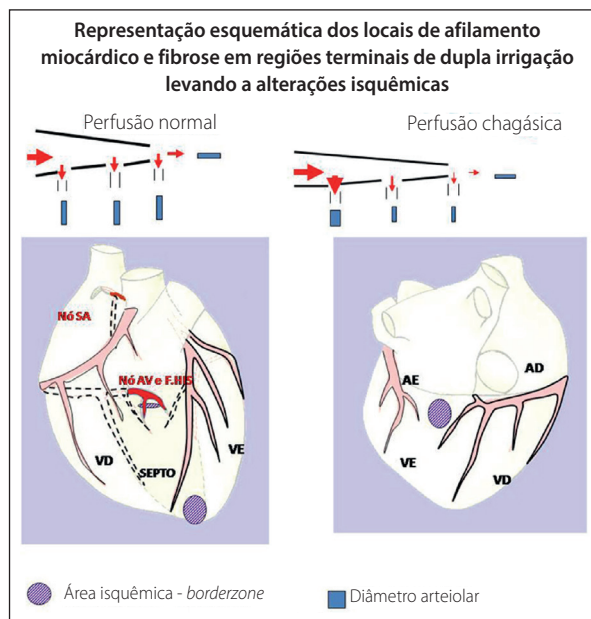


Figura 1. Regiões limítrofes de irrigação arterial: À esquerda vista anterior do coração Ponta VE (entre a coronária descendente anterior - DA e descendente posterior - DP). Nó AS e Feixe de His, (entre a circunflexa (Cx) e coronária direita (CD).

Nó AV - Nó Atrioventricular; SA - sinoatrial; VD - ventrículo direito; VE - ventrículo esquerdo; AD - átrio direito, AE - átrio esquerdo.

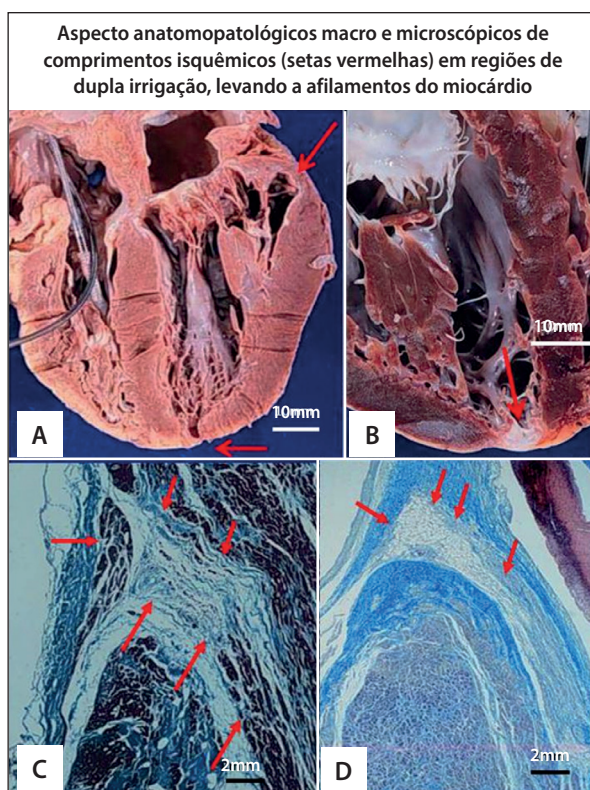


Figura 2. Área de afilamento miocárdio de substituição por fibrose e gordura (identificadas por setas vermelhas) devido à isquemia em regiões de dupla irrigação. Em A) afilamentos na parede látero-basal e ápice do VE em coração com implante de marcapasso. B) afilamento com fibrose na ponta do VE. C) aspecto histológico da região de bifurcação do feixe His com fibrose do ramo direito. D) bifurcação do feixe de His em grande parte substituído por tecido adiposo e fibrose.

parede normal ou discretamente diminuída e defeitos fixos em regiões fibróticas e os autores relacionaram com possível anormalidade parassimpática no controle da microcirculação coronariana.¹⁷ Posteriormente se confirmou presença de reperfusão anormal regional em diferentes grupos de pacientes chagásicos por marcadores radioativos e que se associou a anormalidades de contratilidade da parede miocárdica e progressão da disfunção ventricular.¹⁸ Estudos de infecção chagásica experimental também mostraram lesões hipóxicas por alteração da microcirculação.¹⁹

No sistema excitocondutor, feixe de His, também há dupla irrigação (artéria septal da descendente anterior e artéria na cruz cordis da coronária direita), e seria mais suscetível à isquemia pelas razões anteriormente descritas, explicando inflamação crônica inespecífica, fibrose e atrofia, às vezes com infiltração de tecido adiposo, principalmente no seu ramo intramiocárdico direito, explicando bloqueio AV e bloqueio do ramo direito. (Figura 1)

INFLAMAÇÃO, MICRORGANISMOS E A VASODILATAÇÃO

Estudos com biópsia endomiocárdica mostraram miocardite linfocitária em cerca de 60% dos pacientes com arritmia e 90% daqueles com insuficiência cardíaca grave.^{20,21} Pacientes falecidos subitamente ou com insuficiência cardíaca mostram

lesões histológicas qualitativamente semelhantes, porém mais intensas.¹ Há inflamação crônica fibrosante no miocárdio que varia de área para área e de indivíduo para indivíduo. O infiltrado inflamatório é constituído predominantemente por linfócitos e macrófagos, além de eosinófilos, plasmócitos, neutrófilos e mastócitos, acompanhado de intensa fibrose, que às vezes circunda fibras cardíacas isoladas. A intensidade do infiltrado inflamatório não guarda relação com a presença e a quantidade de parasitos, com linfócitos agredindo fibras cardíacas não parasitadas sugerindo autoimunidade.^{22,23} No entanto nossos trabalhos mais recentes têm sugerido que, outros fatores além do parasito estão associados, e que podem perpetuar a inflamação.

Antígenos e de DNA de *T. cruzi* presentes em pequena quantidade nos focos de inflamação miocárdica sugerem que o parasita ainda tem um papel na fase crônica.^{24,25} O encontro de ninhos de amastigotas de *T. cruzi* é raro, sendo que fibras cardíacas parasitadas mais íntegras não despertam reação imunológica, ou seja, há apresentação de antígenos pela fibra cardíaca ao sistema imunitário. Outro aspecto particular é que não há apoptose de miocélulas cardíacas,²⁶ diferentemente da cardiomiopatia dilatada idiopática que mostra relação com a IC.²⁷

A miocardite é predominantemente por linfócitos T CD8+, que aumenta na presença de antígenos do *T. cruzi* mas não se acompanha de aumento de linfócitos T CD4+, mas de citocinas inflamatórias.²⁸ Esse aumento de citocinas inflamatórias poderia explicar a intensa vasodilatação que discutimos acima e que levaria a falha na perfusão nos territórios distais, principalmente nas zonas limítrofes de dupla irrigação.

A presença de outros microrganismos poderia explicar essa exacerbação da inflamação, e a falta de resposta a tratamento específico contra o *T. cruzi*.^{29,30} Revisão de biópsias endomiocárdicas das décadas de 1980 e 1990 mostrou agentes infecciosos primitivos como micoplasmas, clamídias e arqueias,³¹ e que podem ter sido carreados pelo próprio *T. cruzi*. Micoplasmas e clamídias parecem favorecer a sobrevivência de outros agentes infecciosos no hospedeiro.^{32,33} Isto pode explicar a falta de apoptose de cardiomiócitos descrita acima na cardiopatia chagásica. O encontro de arqueias tem ainda um significado patogênico mais forte: são os mais antigos microrganismos já descritos na natureza, considerados não patogênicos, mas que aumentam inflamação. Elas captam proteínas gerando resposta imune aumentada de linfócitos T CD8+, sem ativação de resposta T CD4+,³⁴ aspecto este característico da miocardite chagásica.³⁵ A presença desses outros microrganismos pode explicar a fibrose acentuada ao redor das fibras cardíacas, isoladamente ou em grupos.³⁶

PAPEL DE MICROPARTÍCULAS NA DOENÇA DE CHAGAS: NOVOS AVANÇOS E DESAFIOS

Pequenas vesículas revestidas por membranas têm sido implicadas na comunicação entre células humanas, como por exemplo, as produzidas por células cardíacas, incluindo corpos apoptóticos, microvesículas (também chamadas micropartículas) e exossomos.³⁷ As diferentes vesículas são diferenciadas entre si pela sua origem subcelular, tamanho e conteúdo.

Micropartículas (MPs), em geral têm entre 100 e 1000 nm,

são geradas de células por brotamento da membrana celular externa, quando a célula é exposta a estímulos pró-trombóticos e pró-inflamatórios, diferenciação celular e senescência.³⁸ MPs contêm moléculas bioativas que incluem uma variedade de estruturas adesivas, citocinas, receptores de células, microRNA, etc.³⁷

Exossomos são vesículas extracelulares com tamanho variando entre 30 e 100nm, flutuando em uma densidade entre 1,13-1,19 g/ml quando se usa ultracentrifugação em gradiente linear de sacarose.³⁹ Os exossomos eram vistos como vesículas de descarte de material da célula, porém hoje têm sido vistos como tendo um papel na comunicação intercelular envolvendo tanto a fisiologia normal da célula⁴⁰ quanto condições patológicas.⁴¹ Tem se descoberto que exossomos contêm dupla fita de DNA, RNA mensageiro, microRNA, etc. e que são funcionantes nas células receptoras.⁴²

Assim, a troca de conteúdos de exossomos pode representar uma maneira efetiva e eficiente de comunicação intercelular. Além disso, sabe-se hoje que proteínas e RNA presentes no interior de exossomos são altamente regulados por vários estímulos de processos patológicos e condições que induzem doença.⁴³ Desta forma, muitas doenças podem ser diagnosticadas pelo conteúdo dos exossomos presentes no indivíduo e podem ser futuros biomarcadores diagnósticos e prognósticos.

Exossomos em condições de doença podem induzir efeitos deletérios sobre o remodelamento cardíaco, estando aumentado na IC.⁴⁴ Porém, exossomos estão associados à cardioproteção,⁴⁵ podendo ter um potencial papel terapêutico no tratamento das doenças cardiovasculares.^{46,47}

MPs ou microvesículas podem também ser produzidas e liberadas por microrganismos.³⁰ Conforme descrito acima encontramos microrganismos em pacientes chagásicos, principalmente micoplasmas, clamídias e arqueias. O estudo sugeriu que a forma com IC está relacionada à maior ativação do complemento, fibrose e miocardite linfocítica, pela presença de arqueias patogênicas, maior interação entre microrganismos, e maior virulência. Na FI, micoplasmas e clamídias não estão em simbiose, e em conjunto com arqueias elétrons densas não patogênicas levariam a menor ativação do complemento, menor degradação de miosina, sem reação "autoimune".

Estudos posteriores do nosso laboratório mostraram que soros de pacientes chagásicos FI mostram aumento significativo de exossomos que seriam protetores da IC, possivelmente removendo proteínas anormais do soro, como por exemplo, metaloprotease de arqueia.^{48,49} Por outro lado, na forma crônica IC esses exossomos protetores estão em número diminuído, mas há exossomos derivados de arqueia.^{50,51} Ou seja, a presença de arqueias patogênicas estaria relacionada ao desenvolvimento de complicações cardíacas, seja por aumentarem a inflamação, vasodilatação da microcirculação, e também diminuindo a formação de exossomos protetores.^{52,53}

Em conclusão, novos achados sugerem que a evolução crônica da doença de Chagas pode estar relacionada à presença de outros microrganismos (micoplasmas, clamídias e arqueias), talvez trazidos ao miocárdio em simbiose com o *T. cruzi*. As arqueias aumentariam a inflamação por apresentação de antígenos aos linfócitos T CD8+, podendo levar a uma vasodilatação da microcirculação. Isto levaria a falha na

distribuição de sangue homogênea no miocárdio, áreas de isquemia em regiões distais de dupla irrigação com regiões de afilamento e dilatação aneurismática ventricular, fibrose e infiltração gordurosa do feixe de His, no sinoatrial e atrioventricular. Microrganismos intra fibra cardíaca podem induzir fibrose ao redor dos cardiomiócitos, os quais se tornam extremamente hipertróficos por não entrarem em apoptose. A simbiose entre esses microrganismos pode levar à produção de micropartículas infecciosas que circulam e fazem parte da patogenia

da descompensação cardíaca. Assim, a ação terapêutica na doença de Chagas tem de incluir uma eliminação simultânea desses diferentes microrganismos e não somente o *T. cruzi*.

REFERÊNCIAS

- Lopes ER, Chapadeiro E, Almeida H, Rocha A. Contribuição ao estudo da anatomia atológica dos corações de chagásicos falecidos subitamente. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1975;(9):269-82.
- Mady C, Pereira-Barretto AC, Ianni BM, Lopes EA, Pileggi F. Right ventricular endomyocardial biopsy in undetermined form of Chagas' disease. *Angiology*. 1984;35(12):755-9.
- Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simoes MV. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. *Circulation*. 2007; 115(9):1109-23.
- Friedman PA, Packer DL, Hammill SC. Catheter ablation of mitral isthmus ventricular tachycardia using electroanatomically guided linear lesions. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2000;11(4):466-71.
- Scanavacca M, Sosa E, d'Ávila A, De Lourdes Higuchi M. Radio-frequency ablation of sustained ventricular tachycardia related to the mitral isthmus in Chagas' disease. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2002;25(3):368-71.
- Rosemberg S, Chaves CJ, Higuchi ML, Lopes MB, Castro LH, Machado LR. Fatal meningoencephalitis caused by reactivation of *Trypanosoma cruzi* infection in a patient with AIDS. *Neurology*. 1992;42(3 Pt 1):640-2.
- Bacal F, Silva CP, Pires PV, Mangini S, Fiorelli AI, Stolf NG, et al. Transplantation for Chagas' disease: an overview of immunosuppression and reactivation in the last two decades. *Clin Transplant*. 2010;24(2):E29-34.
- Andrade ZA, Andrade SG. A patologia da doença de Chagas (Forma crônica cardíaca). *Bol Fund Gonçalo Moniz*. 1955;(6):1-53.
- Köberle F. Pathogenesis of Chagas' disease. *Ciba Found Symp*. 1974;(20):137-52.
- Köberle F. Chagas' disease and Chagas' syndromes: the pathology of American trypanosomiasis. *Adv Parasitol*. 1968;6:63-116.
- Oliveira JS, Mello De Oliveira JA, Frederique U Jr, Lima Filho EC. Apical aneurysm of Chagas' heart disease. *Br Heart J*. 1981;46(4):432-7.
- Andrade ZA, Andrade SG, Oliveira GB, Alonso DR. Histopathology of the conducting tissue of the heart in Chagas' myocarditis. *Am Heart J*. 1978;95(3):316-24.
- Higuchi ML, Fukasawa S, De Brito T, Parzianello LC, Bellotti G, Ramires JA. Different microcirculatory and interstitial matrix patterns in idiopathic dilated cardiomyopathy and Chagas' disease: a three dimensional confocal microscopy study. *Heart*. 1999; 82(3):279-85.
- de Lourdes Higuchi M. Human chronic chagasic cardiopathy: participation of parasite antigens, subsets of lymphocytes, cytokines and microvascular abnormalities. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1999;94, Suppl.1: 263-7.
- Rochitte CE, Nacif MS, de Oliveira Júnior AC, Siqueira-Batista R, Marchiori E, Uellendahl M, et al. Cardiac magnetic resonance in Chagas' disease. *Artif Organs*. 2007;31(4):259-67.
- Rossi MA, Tanowitz HB, Malvestio LM, Celes MR, Campos EC, Belfari V, et al. Coronary microvascular disease in chronic Chagas cardiomyopathy including an overview on history, pathology, and other proposed pathogenic mechanisms. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4(8):e674.
- Marin-Neto JA, Marzullo P, Marcassa C, Gallo Júnior L, Maciel BC, Bellina CR, et al. Myocardial perfusion abnormalities in chronic Chagas' disease as detected by thallium-201 scintigraphy. *Am J Cardiol*. 1992;69(8):780-4.
- Simões MV, Pintya AO, Bromberg-Marin G, Sarabanda AV, Antloga CM, Pazin-Filho A, et al. Relation of regional sympathetic denervation and myocardial perfusion disturbance to wall motion impairment in Chagas' cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2000;86(9):975-81.
- Rossi MA, Carobrez SG. Experimental *Trypanosoma cruzi* cardiomyopathy in BALB/c mice: histochemical evidence of hypoxic changes in the myocardium. *Br J Exp Pathol*. 1985; 66(2):155-60.
- Pereira Barretto AC, Mady C, Arteaga-Fernandez E, Stolf N, Lopes EA, Higuchi ML, et al. Right ventricular endomyocardial biopsy in chronic Chagas' disease. *Am Heart J*. 1986;111(2):307-12.
- Higuchi ML, De Moraes CF, Pereira Barreto AC, Lopes EA, Stolf N, Bellotti G, 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;10(11): 665-70.
- Cunha-Neto E, Teixeira PC, Fonseca SG, Bilate AM, Kalil J. Myocardial gene and protein expression profiles after autoimmune injury in Chagas' disease cardiomyopathy. *Autoimmun Rev*. 2011; 10(3):163-5.
- Cunha-Neto E, Bilate AM, Hyland KV, Fonseca SG, Kalil J, Engman DM. Induction of cardiac autoimmunity in Chagas heart disease: a case for molecular mimicry. *Autoimmunity*. 2006;39(1):41-54.
- 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;48(3):348-57.
- Higuchi ML, De Brito T, Martins Reis M, Barbosa A, Bellotti G, Pereira Barreto AC, et al. Correlation between *Trypanosoma cruzi* parasitism and myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagasic myocarditis: Light microscopy and immunohistochemical findings. *Cardiovasc Pathol*. 1993;(2):101-6.
- Metzger M, Higuchi ML, Brito T. Lack of apoptosis of cardiomyocytes in chronic chagasic myocarditis. *Virchow's Arch*. 2001;439 (6):352-9(18th European Congress of Pathology).
- Metzger M, Higuchi ML, Moreira LF, Chaves MJ, Castelli JB, Silvestre JM, et al. Relevance of apoptosis and cell proliferation for survival of patients with dilated cardiomyopathy undergoing partial left ventriculectomy. *Eur J Clin Invest*. 2002;32(6):394-9.
- Reis MM, Higuchi ML, Benvenuti LA, Aiello VD, Gutierrez PS, Bellotti G, et al. 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. *Clin Immunol Immunopathol*. 1997;83(2):165-72.
- Rodrigues Coura J, de Castro SL. A critical review on Chagas disease chemotherapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002; 97(1):3-24.
- Morillo CA, Marin-Neto JA, Avezum A, Sosa-Estani S, Rassi A Jr, Rosas F, et al. Randomized Trial of Benznidazole for Chronic Chagas' Cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2015;373(14):1295-306.
- Higuchi Mde L, Kawakami J, Ikegami R, Clementino MB, Kawamoto FM, Reis MM, et al. Do Archaea and bacteria co-infection have a role in the pathogenesis of chronic chagasic cardiopathy? *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104 Suppl 1:199-207.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não possuir conflitos de interesse na realização deste trabalho.

32. Dessì D, Delogu G, Emonte E, Catania MR, Fiori PL, Rappelli P. Long-term survival and intracellular replication of *Mycoplasma hominis* in *Trichomonas vaginalis* cells: potential role of the protozoon in transmitting bacterial infection. *Infect Immun*. 2005;73(2):1180-6.
33. Fan T, Lu H, Hu H, Shi L, McClarty GA, Nance DM, et al. Inhibition of apoptosis in chlamydia-infected cells: blockade of mitochondrial cytochrome c release and caspase activation. *J Exp Med*. 1998;187(4):487-96.
34. Krishnan L, Sad S, Patel GB, Sprott GD. Archaeosomes induce long-term CD8+ cytotoxic T cell response to entrapped soluble protein by the exogenous cytosolic pathway, in the absence of CD4+ T cell help. *J Immunol*. 2000;165(9):5177-85.
35. Higuchi MD, Reis MM, Aiello VD, Benvenuti LA, Gutierrez PS, Bellotti G, et al. Association of an increase in CD8+ T cells with the presence of *Trypanosoma cruzi* antigens in chronic, human, chagasic myocarditis. *Am J Trop Med Hyg*. 1997;56(5):485-9.
36. Higuchi MdeL, Benvenuti LA, Martins Reis M, Metzger M. Pathophysiology of the heart in Chagas' disease: current status and new developments. *Cardiovasc Res*. 2003;60(601):96-107.
37. Sluijter JP, Verhage V, Deddens JC, van den Akker F, Doevendans PA. Microvesicles and exosomes for intracardiac communication. *Cardiovasc Res*. 2014;102(2):302-11.
38. Buzas EI, György B, Nagy G, Falus A, Gay S. Emerging role of extracellular vesicles in inflammatory diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2014;10(610):356-64.
39. Vlassov AV, Magdaleno S, Setterquist R, Conrad R. Exosomes: current knowledge of their composition, biological functions, and diagnostic and therapeutic potentials. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1820(7):940-8.
40. Pan BT, Teng K, Wu C, Adam M, Johnstone RM. Electron microscopic evidence for externalization of the transferrin receptor in vesicular form in sheep reticulocytes. *J Cell Biol*. 1985;101(3):942-8.
41. Record M, Carayon K, Poirot M, Silvente-Poirot S. Exosomes as new vesicular lipid transporters involved in cell-cell communication and various pathophysiological processes. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1841(1):108-20.
42. Thakur BK, Zhang H, Becker A, Matei I, Huang Y, Costa-Silva B, et al. Double-stranded DNA in exosomes: a novel biomarker in cancer detection. *Cell Res*. 2014;24(6):766-9.
43. Villarroya-Beltri C, Baixauli F, Gutiérrez-Vázquez C, Sánchez-Madrid F, Mittelbrunn M. Sorting it out: regulation of exosome loading. *Semin Cancer Biol*. 2014;28:3-13.
44. Turturici G, Tinnirello R, Sconzo G, Geraci F. Extracellular membrane vesicles as a mechanism of cell-to-cell communication: advantages and disadvantages. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2014;306(7):C621-33.
45. Pfeifer P, Werner N, Jansen F. Role and function of microRNAs in extracellular vesicles in cardiovascular biology. *BioMed Res Int*. 2015;2015:161393.
46. Zhang X, Wang X, Zhu H, Zhu C, Wang Y, Pu WT, et al. Synergistic effects of the GATA-4-mediated miR-144/451 cluster in protection against simulated ischemia/reperfusion-induced cardiomyocyte death. *J Mol Cell Cardiol*. 2010;49(5):841-50.
47. Giricz Z, Varga ZV, Baranyai T, Sipos P, Pálóczi K, Kittel Á, et al. Cardioprotection by remote ischemic preconditioning of the rat heart is mediated by extracellular vesicles. *J Mol Cell Cardiol*. 2014;68:75-8.
48. Higuchi ML, Ikegami RN, Kawakami JT, Reis MM, Santos MHH, V. Issa S., et al. Archaeal DNA and Heart Failure in Chagasic Patients. Archaeal DNA and heart failure in chagasic patients. In: *Heart Failure*, 2013, Lisboa. *Eur J Heart Fail*. 2013;(15):S38-S38.
49. Reis MM, Higuchi ML, Ikegami RN, Kawakami J, Ianni B, Pereira J J, et al. Electron lucent serum microparticles are related with heart failure in Chagas disease. In: *Heart Failure*, 2013, Lisboa. *Eur J Heart Fail*. 2013;(15):S48-S48.
50. Higuchi ML, Kawakami JT, Ikegami RN, Reis MR, Pereira JJ, Ianni B, et al. Archaeosomal microparticles ridding metalloproteases from the serum may explain protection against heart failure in chagasic patients with asymptomatic indeterminate form. In: *ESC Congress 2014, Barcelona, Spain, 30 August – 3 September 2014*. *Eur Heart J*. 2014;(35): Suppl 1;1010-S1010.
51. Higuchi ML, Kawakami J; Pereira JJ, Ikegami RN, Reis M M, Mangini S, et al. A insuficiência cardíaca em pacientes com Doença de Chagas está associada com micropartículas, DNA e colagenase de arqueia no soro. In: XXXV Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, 2014, São Paulo. *Rev Soc Cardiol do Estado de São Paulo*. 2014;(24): Supl B 129-129.
52. Higuchi ML, Kawakami J; Ikegami RN, Reis M M, Ianni B, Buck P, et al. Exosomes containing Archaeal DNA Are Increased in the Serum of Heart Failure Chagas' Disease Patients. In: *American Heart Association's 2015 Scientific Sessions*, 2015, Orlando, USA. *Circulation*, 2015;(132):A14635
53. Higuchi ML, Kawakami JT, Ikegami RN, Reis M M, Pereira JJ, Ianni B, et al. Exossomos elétron densos contendo DNA de arqueia estão aumentados no soro de pacientes chagásicos com insuficiência cardíaca. In: XXXVII Congresso da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo, 2016, São Paulo. *Suplemento da Rev Soc Cardiol do Estado de São Paulo*. 2016;(26):110.