Revista da SOCESP
Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo

NOVAS ABORDAGENS TERAPÊUTICAS NA DOENÇA DE CHAGAS: TERAPIA CELULAR, ANTICORPOS, AFÉRESE

NEW THERAPEUTIC APPROACHES IN CHAGAS DISEASE: STEM CELL, ANTIBODIES, APHERESIS

Edimar Alcides Bocchi[1]
Thiago Marques Mendes[1]
Victor Sarli Issa[1]

1. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Instituto do Coração (InCor) ,São Paulo,SP, Brasil.

Correspondência:
Rua Dr. Melo Alves 690, 4º andar, São Paulo, SP. CEP: 01417-010.
dcledimar@incor.usp.br

RESUMO

A doença de Chagas é considerada, atualmente, pela Organização Mundial da Saúde uma das doenças tropicais negligenciadas, com estimativa de mais de 8 milhões de pessoas infectadas em todo o mundo. Recentemente tem havido crescente interesse na doença de Chagas, importante etiologia de miocardiopatia na América Latina, devido, em grande parte, ao aumento da incidência dessa doença em países desenvolvidos. A despeito do amplo emprego de drogas antiparasitárias na forma aguda da doença de Chagas, o tratamento etiológico da miocardiopatia chagásica crônica permanece incerto, sendo o benefício para o prognóstico dos pacientes ainda indeterminado. No presente artigo realizamos revisão sistemática a respeito do emprego de terapia celular, anticorpos, vacinas e plasmaferese em pacientes com doença de Chagas. Os dados levantados indicam que, a despeito de a terapia baseada em células-tronco mostrar potencial benéfico em modelos experimentais, em seres humanos, a evidência até o momento disponível não nos autoriza a utilizar tal modalidade na rotina assistencial. Vacinas baseadas em antígenos genéticos têm potencial a ser explorado, mas sem aplicabilidade momentânea em seres humanos. Novos estudos são necessários para elucidar o uso real dessas modalidades alternativas no contexto da miocardiopatia chagásica.

Descritores: Doença de Chagas; Vacinas; Terapia celular.

ABSTRACT

The World Health Organization, with an estimate of over 8 million people infected worldwide, currently considers the Chagas disease as one of the neglected tropical diseases. Recently there has been increasing interest in Chagas disease, an important etiology of cardiomyopathy in Latin America, due in large part to the increased incidence in developed countries. Despite the widespread use of antiparasitic drugs in the acute infected form of Chagas disease, etiological treatment of chronic Chagas cardiomyopathy remains uncertain, and the benefit for the prognosis of patients still undetermined. In the present article, we present a systematic review on the use of cell therapy, antibodies, vaccines and plasmapheresis in patients with Chagas disease. The data collected indicate that, despite the stem cell-based therapy showing beneficial potential in experimental models, in humans, the evidence so far available does not allows us to use this modality as a routine treatment. Vaccines based on genetic antigens have potential to be explored, but without immediate applicability in humans. Further studies are needed to elucidate the actual use of these alternative methods in the context of Chagas cardiomyopathy.

Descriptors: *Chagas disease; Vaccine; Cell therapy.*

INTRODUÇÃO

Recentemente tem havido um crescente interesse na doença de Chagas, importante etiologia de miocardiopatia na América Latina, devido ao aumento da incidência da doença em países desenvolvidos.[1] Seu impacto econômico e social é conhecido em parte da América do Sul, sobretudo em áreas endêmicas como Brasil, Argentina, Bolívia, Paraguai e Uruguai. No entanto, em áreas não endêmicas, como Estados Unidos e Europa, nas últimas décadas, há registro de um número crescente de novos casos da doença.[2,3] Neste contexto, o tratamento da Tripanossomíase descrita por Carlos Chagas[4] tornou-se objeto de pesquisa e preocupação mundial, não somente no que tange ao diagnóstico das suas mais variadas formas de apresentação

clínica (cardiopatia, forma digestiva ou associações) mas também ao tratamento.

A doença de Chagas é atualmente considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma das doenças tropicais negligenciadas, com estimativa de mais de oito milhões de pessoas infectadas em todo o mundo.[5] Estima-se que após o contato com o *Trypanosoma*, haja chance de até 30% de desenvolvimento de miocardiopatia crônica com repercussão clínica variada.[6] Na evolução desta doença infecciosa, podem ocorrer bloqueios atrioventriculares, insuficiência cardíaca, arritmias ventriculares, episódios tromboembólicos, e comprometimento da qualidade de vida de forma significativa.[7,8]

A despeito do amplo emprego de drogas antiparasitárias na forma aguda da doença de Chagas, o tratamento etiológico da miocardiopatia chagásica crônica permanece incerto, sendo o benefício para o prognóstico dos pacientes ainda indeterminado.[8,9] Nestas condições, o transplante cardíaco representa, muitas vezes, alternativa terapêutica para o tratamento das formas avançadas da doença cardíaca, sendo vasta a experiência com esta forma de tratamento em nosso meio.[10,11] Entretanto devem ser reconhecidas limitações intrínsecas do transplante cardíaco para o tratamento da cardiopatia da doença de Chagas, que incluem o limitado acesso dos pacientes a esta modalidade terapêutica, tempo prolongado em espera pelo transplante e chance de reativação da doença de Chagas no contexto de imunossupressão. Neste sentido, postergar a evolução da miocardiopatia chagásica ou até mesmo evitá-la pode representar um ganho em termos evolutivos.

Na última década surgiram novas pesquisas com foco no emprego de drogas antiparasitárias, porém, até o presente momento nenhuma foi capaz de demonstrar, em ensaio clínicos em humanos, benefício em termos de progressão da miocardiopatia,[12] fato que indica que a gênese da miocardiopatia da doença de Chagas se deve à concorrência de múltiplos fatores, incluindo mecanismos patológicos, imunológicos e autoimunes. Neste artigo descreveremos os principais avanços e perspectivas no que diz respeito à terapêutica celular e humoral da Tripanossomíase Americana.

METODOLOGIA

Para elaboração do presente artigo realizamos revisão sistemática da literatura médica publicada nas bases de dados MEDLINE - PUBMED, Scielo e LILACS, nos meses de julho e agosto 2016, com utilização dos termos "cell therapy and chagas cardiomyopathy", "new therapies and chagas cardiomyopathy", "immunotherapy and chagas cardiomyopathy" , "vaccines and chagas disease", " Immunoglobulin Adsorption and chagas disease", "autoantibodies and chagas myocardiopathy". Selecionamos artigos em língua inglesa e portuguesa e analisamos aqueles disponíveis nas bases de dados. Outros artigos adicionais que se mostraram relevantes e dados de organizações renomadas mundialmente foram aceitos. Os resultados obtidos foram compilados e apresentados de forma agrupada para cada uma das modalidades terapêuticas.

Terapia Celular

A doença de Chagas possui duas fases distintas em termos de apresentação clínica e substrato fisiopatológico. A fase aguda da doença é marcada pela parasitemia intensa mas pode ter seu curso clínico indetectável, oligossintomático.[13] No entanto, é na fase crônica da doença que habitualmente se detecta a miocardiopatia sob apresentação clínica de insuficiência cardíaca e/ou arritmia.[14] A patogênese da doença permanece no centro do debate científico, dada sua importância em apontar novos alvos terapêuticos. Recentemente, terapias que visam a negativação de parasitemia não têm obtido sucesso no que diz respeito à evolução clínica dos pacientes portadores de miocardiopatia chagásica.[15]

Desta forma, têm surgido novos trabalhos em animais e humanos que visam atuar na questão da autoimunidade envolvida no desenvolvimento da miocardiopatia e ao nível celular, com possível diminuição de atividade inflamatória miocárdica, fibrose e visionariamente, na regeneração tecidual e melhoria da função ventricular.

Em 2004, foi descrito o primeiro caso de transplante de células de medula óssea aspiradas das cristas ilíacas e injetadas, após separação das células mononucleares, nas artérias coronárias de paciente portador de miocardiopatia da doença de Chagas. A avaliação prospectiva indicou ganho em termos de função ventricular medida pela ecocardiografia e aumento da capacidade cardiovascular medida pelo teste de caminhada de seis minutos.[16]

Previamente, a terapia regeneradora celular já havia sido testada de forma experimental em modelos animais (ratos), com emprego de células mononucleares de medula óssea, injetadas na circulação sistêmica. Os resultados indicaram que animais infectados pelo *T. Cruzi* apresentavam maior intensidade da miocardite; entretanto ao final de seis meses do tratamento, apresentaram maior redução de infiltrado inflamatório e fibrose miocárdica,[17] e até mesmo reversão parcial da dilatação do ventrículo direito,[18] sugerindo potencial terapêutico na miocardiopatia chagásica. O TMO foi testado em modelo canino com a forma crônica da miocardiopatia da doença de Chagas; neste contexto, também houve melhora de parâmetros ecocardiográficos ao final de seis meses.[19] Terapias semelhantes, com injeção de células de medula óssea no endocárdio, já eram testadas em estudos de fase II em humanos em contexto de miocardiopatia isquêmica na mesma época.[20,21]

Posteriormente a segurança e potencial terapêutico da aplicação de células mononucleares de medula óssea autóloga, infundidas por meio do cateterismo, foram testados em maior número de casos de pacientes com infecção crônica pelo *Trypanossoma cruzi*,[22,23] à semelhança do que vinha sendo tentado em casos isolados.[24] Neste protocolo de tratamento, a medula óssea era aspirada no dia do procedimento, processada e injetada com solução salina nas artérias coronárias do próprio paciente. A casuística constituiu-se de 28 indivíduos com média de idade de 52,2 anos e portadores de insuficiência cardíaca e disfunção ventricular, sorologia positiva para chagas, ausência de coronariopatia significativa. Neste trabalho, os pacientes foram considerados sob terapia médica otimizada (55% utilizavam beta-bloqueador) e após intervenção, foram seguidos por seis meses. Os autores não encontraram óbitos atribuíveis diretamente à terapia celular; ademais, houve elevação da fração de ejeção (5% em média) e queda da classe funcional média de III para II. Um achado adicional salientado pelos autores, foi

a ausência de modificação estatisticamente significativa de níveis plasmáticas de interleucinas 1 e 6, bem como do fator de necrose tumoral alfa.

Um estudo clínico multicêntrico, randomizado, placebo-controlado,[25] visou aplicabilidade clínica da injeção de células mononucleares de aspirado de medula óssea por meio do cateterismo. Foram randomizados 234 pacientes chagásicos, com insuficiência cardíaca, fração de ejeção inferior a 35%, e classe funcional de NYHA II – IV para terapia celular ou placebo. Ambos os grupos estavam sob terapia medicamentosa otimizada para a insuficiência cardíaca antes da randomização. Foram analisados 183 pacientes no total, seguidos por um ano. O desfecho primário foi o aumento na fração de ejeção em 6 e 12 meses e os desfechos secundários, melhora na qualidade de vida e funcional (questionário de Minesota e teste de caminhada de 6 minutos). Os autores encontraram incremento em ambos os grupos na fração de ejeção (26,1% para 31,1 no grupo placebo; 26,1% para 30,2 no grupo intervenção) sem diferença estatística na comparação dos grupos. Apesar da segurança da técnica, não houve comprovação do benefício em termos de ganho de função ventricular neste estudo. Fatores como o microambiente favorável a proliferação celular, bem como a via de administração das células mononucelares podem ter influenciado o resultado.

Quanto à via de administração das células multinucleadas provenientes da medula óssea, estudo,[26] demonstrou baixa captação de células marcadas com tecnécio em imagens de cintilografia com tálio em seis pacientes com miocardiopatia chagásica, com padrão de distribuição celular proporcional à vascularização regional, ou seja, áreas bem irrigadas, sem fibrose, receberam mais células. Com estes resultados, a via de administração parenteral foi questionada. Há autores que, sugerem que a terapia celular pode ser benéfica por alterar a transcrição gênica, portanto através de efeito imunomodulador e não como efeito reparador tecidual como postulado inicialmente.[27]

Diante da ausência de comprovação de benefício clínico da terapia celular a partir de aspirado de medula óssea, foi interrogado se as células utilizadas eram as ideais, bem como questionou-se os modelos animais, visto que a maioria dos modelos de Chagas em ratos desenvolve disfunção de ventrículo direito, evolução distinta dos humanos na maioria dos casos.[28]

Em modelos experimentais da doença de Chagas demonstrou-se que a infusão de células humanas mesenquimais do tecido adiposo, em ratos, pode levar a diminuição de fibrose e inflamação miocárdica, sem impacto em termos de função ventricular.[29] Nesta corrente, tem-se proposto que injeção de células cardíacas mesenquimais[6] em região intramiocárdica, em modelos de doença de Chagas em ratos; estes experimentos se mostraram viáveis para diferenciação em outros tecidos mas não foram capazes de formar células miocárdicas funcionais. Na avaliação da resposta à terapia, houve demonstração de efeito apenas imunomodulador, com aumento de níveis de TGF beta e queda de níveis de TNF-alfa, dentre outras citocinas, sem ação direta sobre a fibrose miocárdica.[30] Estes achados foram corroborados por outros autores que encontraram de forma experimental a atuação imunomodulatória.[31]

Desta forma, há algumas questões não elucidadas na literatura até o momento, sendo o real benefício da terapia celular ainda não comprovado em humanos. Novos estudos experimentais devem esclarecer melhor esta questão e direcionar investigações clínicas adicionais.

Anticorpos / Vacinas

A erradicação do parasita ainda não é efetiva, dado as evidências atuais de drogas contra o *T. cruzi* disponíveis. Até 30% dos pacientes infectados desenvolvem cardiopatia chagásica.[32] Neste horizonte, o surgimento vacinas poderia ter um papel relevante em termos epidemiológicos e até mesmo, no auxílio terapêutico.[33] Embora haja estudos desde inicio do século passado em termos de aprimoramento de antígenos imunizantes, recentemente tem havido maior destaque na literatura com o advento de vacinas produzidas a partir do DNA do parasita.[34] Como uma das barreiras principais para o desenvolvimento desta terapia no nosso meio até o momento destaca-se a ausência de incentivo recorrente nesta linha de pesquisa.

No que diz respeito à ocorrência da forma aguda da doença de Chagas autores[35] utilizaram vacinas de DNA de plasmídeos de *T. cruzi*, que codificam proteínas descritas como imunogênicas - TSA-1 e Tc24.[36] Após injeção letal de *T. cruzi*, o principal achado foi o controle da parasitemia a despeito da injeção letal, menor inflamação e sobrevivência dos ratos na fase aguda que receberam duas injeções de DNA que codifica os antígenos TSA-1 e Tc24. A partir de então, novos trabalhos têm-se aprofundado nesta linha de pesquisa.

Na Tabela 1, destacam-se os principais trabalhos e antígenos moleculares testados em modelos animais, de forma simplificada. Em suma, há inúmeros novos trabalhos experimentais que apontam para um horizonte de prevenção e, talvez, auxílio imunomodulatório, o que pode contribuir para não progressão da cardiopatia chagásica. Testes em humanos ainda são necessários.[45]

No que diz respeito a outras terapias relacionadas ao fator humoral envolvido da doença de Chagas, há estudos experimentais com antagonista de TNF-alfa em modelos animais. O princípio desta terapia encontra-se no fato deste mediador inflamatório estar intimamente relacionado à resposta humoral e gênese de IGG.[46] O padrão de resposta imunológica encontrada em humanos com cardiopatia crônica chagásica contempla aumento persistente de TNF-alfa, na vigência de baixa parasitemia.[47] Portanto, talvez bloquear este mediador seja interessante na evolução da miocardite crônica. Autores conduziram um estudo experimental em ratos com miocardite crônica chagásica, no qual a infusão de infliximabe foi associada a menor inflamação miocárdica sem, no entanto, haver reativação da tripanossomíase como efeito colateral da terapia. A real segurança e aplicabilidade clínica em humanos permanecem incertas.[48]

Plasmaférese

Uma potencial terapia adicional à terapia medicamentosa atual, para pacientes com miocardiopatia dilatada, é a imunoabsorção de imunoglobulinas, também conhecida como plasmaférese.[49] Modalidade terapêutica que vem sendo alvo de amplo estudo em doenças sistêmicas outras,

Tabela 1. Principais trabalhos e antígenos moleculares testados em modelos animais.

Autor principal	Antígeno	Modelo animal	Resultado	Referência
B. Salgado-Jimenez e M. Arce-Fonseca	Gene TcSSP4 codifica proteína de superfície amastigota e gene TcSP (codifica Transialidade)	Murino	Incremento IFN-gama, presumida resposta TH1. Diminuição parasitemia	37-38
O.Rodriguez-Morales	TCSSP4 e TcSP	Canino	Melhora eletrocardiográfica e diminuição dano miocardico microscópico	39-40
S. Gupta and N. J. Garg	TcVac3	Ratos	Imunomodulação, melhora fenótipo pró-inflamatório, parasita indetectável e ausência de fibrose	41
I. A. Quijano-Hern´andez	TSA-1 e Tc24	Canino	Redução parasitemia, inflamação cardíaca, arritmias.	42
S. Gupta	TcVac2	Ratos	Controle de parasitemia e miocardite, resposta imunomodulatória	43
S. I. Cazorla	Cruzipain cisteína protease em plasmídeo de Salmonella atenuada	Ratos	Resposta imune celular e humoral	44

mas que no contexto de insuficiência cardíaca ganhou destaque após estudos experimentais nos quais os modelos animais desenvolvem algum grau de miocardiopatia dilatada após exposição ao anticorpo correspondente ao receptor b1-adrenérgico.[50] O papel da autoimunidade na gênese da miocardiopatia chagásica pode guardar semelhança com outras etiologias.[51] Até o presente momento, entretanto, não há ensaios clínicos que demonstrem real benefício da imunoabsorção de imunoglobulinas no contexto exclusivo da miocardiopatia chagásica.

Limitações

Por se tratar de uma revisão sistemática, com termos de busca precisos, alguns trabalhos podem não ter sido citados. Artigos em outras línguas (apenas Inglês e Português) não foram elencados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A despeito da terapia baseada em células tronco se mostrar potencialmente benéfica em modelos experimentais, em seres humanos, a evidência até o momento disponível não nos autoriza a utilizar tal modalidade na rotina assistencial. Vacinas baseadas em antígenos genéticos apresentam potencial futuro a ser explorado, mas sem aplicabilidade momentânea em seres humanos. Novos estudos são necessários para elucidar o real uso destas modalidades alternativas no contexto da miocardiopatia chagásica.

CONFLITOS DE INTERESSE

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

REFERÊNCIAS

1. Schofield CJ, Dias JC. A cost-benefit analysis of Chagas disease control. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1991;86(3):285–95.
2. Schmunis GAEpidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2007;102(suppl 1):75–85.
3. Basile L, JansaJM, Carlier Y, Salamanca DD,Angheben A, Bartoloni A, et al. Chagas disease in European countries: the challenge of a surveillance system. Euro Surveill 2011;16(37):pii 19968.
4. Chagas C. Nova tripanozomiaze humana: estudos sobre a morfolojia e ociclo evolutivo do Schizotrypanum cruzi n. gen., n. sp., ajente etiolojico de nova entidade morbida do homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1909;1(2):159-219.
5. http://www.who.int/chagas/epidemiology/acesso em agosto 2016
6. Pinto Dias JC. Natural history of Chagas' disease. Arq Bras Cardiol. 1995;65(4):359-66.
7. Maguire JH, Hoff R, Sherlock I,Guimarães Ac, Sleigh AC, Ramos NB et al. Cardiac morbidity and mortality due to Chagas' disease: prospective electrocardiographic study of a Brazilian community. Circulation. 1987;75(6):1140- 5.
8. Bocchi EA. Exercise training in Chagas' cardiomyopathy: trials are welcome for this neglected heart disease. Eur J Heart Fail. 2010;12(8):782-4.
9. 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.
10. Bocchi EA, Bellotti G, Mocelin AO, Uip D, Bacal F, Higuchi ML, et al. Heart transplantation for chronic Chagas' heart disease. Ann Thorac Surg. 1996;61(6):1727-33.
11. 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.
12. Molina I, Gómez I Prat J, Salvador F, Treviño B,Sulleiro E, Serre N, et al - Randomized trial of posaconazole and benznidazole for chronic Chagas' disease N Engl J Med. 2014;370(20):1899-908.
13. Laranja FS, Dias E, Nobrega G, Miranda A. Chagas' disease; a clinical, epidemiologic, and pathologic study. Circulation. 1956; 14(6):1035–60.
14. Tanowitz HB, Machado FS, Jelicks LA, Shirani J, de Carvalho AC, Spray DC et al. Perspectives on Trypanosoma cruzi-induced heart disease (Chagas disease), Prog Cardiovas Dis.2009; 51(6):524–39.
15. Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, and Simões MV. "Pathogenesis of chronic Chagas heart disease," Circulation, vol. 115, no. 9, pp. 1109–1123, 2007 // Ribeiro dos Santos et al "Cell Therapy in Chagas Cardiomyopathy (Chagas Arm of the Multicenter Randomized Trial of Cell Therapy in Cardiopathies Study) A Multicenter Randomized Trial" Circulation. 2012;125:2454-2461
16. Bocchi EA, Bacal F, Guimarães G, Mendroni A, Mocelin A, Filho AE, et al.. Granulocyte-colony stimulating factor or granulocyte-colony stimulating factor associated to stem cell intracoronary

infusion effects in non ischemic refractory heart failure. Int J Cardiol. 2010;138(1):94-7.

17. Soares MB, Lima RS, Rocha LL ,Takyia CM, Pontes-de-Carvalho L, de Carvalho AC, et al. Transplanted bone marrow cells repair heart tissue and reduce myocarditis in chronic chagasic mice. Am J Pathol. 2004;164(2):441-7.
18. Goldenberg RC, Jelicks LA, Fortes FS, Weiss LM, Rocha LL, Zhao D, et al. Bone marrow cell therapy Aameliorates and reverses chagasic cardiomyopathy in a mouse model. J Infect Dis 2008; 197(4):544 –7.
19. Sousa MG, Paulino-Junior D, Pascon JP, Pereira-Neto GB, Carareto R, Champion T, et al. Cardiac function in dogs with chronic Chagas cardiomyopathy undergoing autologous stem cell transplantation into the coronary arteries. Can Vet J. 2011;52(8):869-74.
20. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. Nature. 2001;410(6829):701-15.
21. Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CT, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. Circulation. 2003;107(18):2294-302.
22. Vilas-Boas F, Feitosa GS, Soares MB, Mota A, Pinho-Filho JA, Almeida AJ, et al. Early results of bone marrow cell transplantation to the myocardium of patients with heart failure due to Chagas disease. Arq Bras Cardiol. 2006;87(2):159-66.
23. Vilas-Boas F, Feitosa GS, Soares MB, Pinho-Filho JA , Mota AC, Almeida AJ, et al. Bone marrow cell transplantation in Chagas' disease heart failure: report of the first human experience. Arq Bras Cardiol. 2011;96(4):325–31.
24. Jacob JL, Salis FV, Ruiz MA, Greco OT. Labeled stem cells transplantation to the myocardium of a patient with Chagas'disease. Arq Bras Cardiol. 2007;89(2):e10-1.
25. Ribeirodos Santos R, Rassi S, Feitosa G, Grecco OT, Rassi A Jr, da Cunha AB, et al. Cell therapy in Chagas cardiomyopathy (Chagas arm of the multicenter randomized trial of cell therapy in cardiopathies study): a multicenter randomized trial. Circulation. 2012;125(202454–61.
26. Barbosa da Fonseca LM, Xavier SS, Rosado de Castro PH, Lima RS, Gutflen B, Goldenberg RC, et al. Biodistribution of bone marrow mononuclear cells in chronic chagasic cardiomyopathy after intracoronary injection.Int J Cardiol. 2011;149(3):310–4.
27. Soares MB, Lima RS, Souza BS, Vasconcelos JF, Rocha LL, Dos Santos RR, et al. Reversion of gene expression alterations in hearts of mice with chronic chagasic cardiomyopathy after transplantation of bone marrow cells. Cell Cycle. 2011;10(9):1448-55.
28. Melo RC. Acute heart inflammation: ultrastructural and functional aspects of macrophages elicited by Trypanosoma cruzi infection. J Cell Mol Med. 2009;13(2):279-94.
29. Larocca TF, Souza BS, Silva CA, Kaneto CM, Alcantara AC, Azevedo CM, et al. . Terapia celular em cardiopatia chagásica crônica. Arq Bras Cardiol. 2013;100(5):460-8.
30. Silva DN, de Freitas Souza BS, Azevedo CM, Vasconcelos JF, Carvalho RH, Soares MB, et al.: Intramyocardial transplantation of cardiac mesenchymal stem cells reduces myocarditis in a model of chronic Chagas disease cardiomyopathy. Stem Cell Res Ther. 2014;5(4):81.
31. Jasmin, Jelicks LA, Tanowitz HB, Peters VM, Mendez-Otero R, Campos de Carvalho AC, et al. Molecular imaging, biodistribution and efficacy of mesenchymal bone marrow cell therapy in a mouse model of Chagas disease. Microbes Infect. 2014;16(11): 923-35.
32. Kirchhoff LV. American trypanosomiasis (Chagas' disease)— a tropical disease now in the United States. N Engl J Med.1993; 329(9);639–44.
33. Tarleton, RL, Curran JW. Is Chagas disease really the "new HIV/ AIDS of the Americas". PLoS Negl Trop Dis. 2012;6(10):e1861.
34. Dong B, Zarlenga DS, Ren X. An overview of live attenuated recombinant pseudorabies viruses for use as novel vaccines, J Immunol Res. 2014;824630.
35. Dumonteil E, Escobedo-Ortegon J, Reyes-Rodriguez N,Arjona-Torres A, Ramirez-Sierra MJ. Immunotherapy of Trypanosoma cruzi Infection with DNA vaccines in mice. Infect Immun. 2004:72(1);46-53.
36. Taibi A, Plumas-Marty B, Guevara-Espinoza A, ,Schöneck R, Pessoa H, Loyens M, et al. Trypanosoma cruzi: immunity- induced in mice and rats by trypomastigote excretory-secretory antigens and identification of a peptide sequence containing a T cell epitope with protective activity. J. Immunol. 1993;151(5):2676–89.
37. Salgado-Jiménez B, Arce-Fonseca M, Baylón-Pacheco L, Talamás-Rohana P, Rosales-Encina JL. Differential immune response in mice immunized with the A, R or C domain from TcSP protein of Trypanosoma cruzi or with the coding DNAs, Parasite Immunol. 2013;35(1);32–41.
38. Arce-Fonseca M, Ramos-Ligonio A, López-Monteón A, Salgado- Jiménez B, Talamás-Rohana P, Rosales-Encina JL. A DNA vaccine encoding for TcSSP4 induces protection against acute and chronic infection in experimental Chagas disease, Int Biol Sci. 2011;7(9):1230–8.
39. Rodríguez-Morales O, Pérez-Leyva MM, Ballinas- Verdugo MA, Carrillo-Sánchez SC, Rosales-Encina JL, Alejandre-Aguilar R, et al. Plasmid DNA immunization with Trypanosoma cruzi genes induces cardiac and clinical protection against Chagas disease in the canine model. Vet Res. 2012;43:79.
40. Rodríguez-Morales O, Carrillo-Sánchez SC, García- Mendoza H, Aranda-Fraustro A, Banillas-Verdugo MA. Alejandre-Aguilar R,Effect of the plasmid-DNA vaccination on macroscopic and microscopic damage caused by the experimental chronic Trypanosoma cruzi infection in the canine model. BioMed Res Int. 2013; 2013:826570.
41. Gupta S, Garg NJ. TcVac3 induced control of Trypanosoma cruzi infection and chronic myocarditis in mice. PLoS One. 2013;8(3): e59434.
42. Quijano-Hernández IA, Castro-Barcena A, Vázquez- Chagoyán JC, Bolio-González ME, Ortega-López J,. Dumonteil E. Preventive and therapeutic DNA vaccination partially protect dogs against an infectious challenge with Trypanosoma cruzi. Vaccine.2013; 31(18):2246–52.
43. Gupta S, Silva TS, Osizugbo JE, Tucker L, Spratt HM, Garg NJ. Serum-mediated activation of macrophages reflects TcVac2 vaccine efficacy against Chagas disease. Infect Immun. 2014; 82(4):1382-9.
44. Cazorla SI, Matos MN, Cerny N, Ramirez C, Alberti AS, Bivona AE et al. Oral multicomponent DNA vaccine delivered by attenuated salmonella elicited immunoprotection against American trypanosomiasis. J Infect Dis. 2015;211(5):698–707.
45. Cazorla SI, Frank M, Malchiodi EL. Vaccination approaches against Trypanosoma cruzi infection. Expert Rev Vaccines. 2009;8(7):921–35.
46. Castaños-Velez E, Maerlan S, Osorio LM, Aberg F, Biberfeld P,Orn A, et al. Trypanosoma cruzi infection in tumor necrosis factor receptor p55-deficient mice. Infect Immun. 1998;66(6):2960–8.
47. 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; 38(7):943–50.
48. Pérez AR, Fontanella GH, Nocito AL, Revelli S, . Bottasso OA, Short treatment with the tumour necrosis factor-alpha blocker infliximab diminishes chronic chagasic myocarditis in rats without evidence of Trypanosoma cruzi reactivation. Clin Exp Immunol. 2009;157(2):291–9.
49. Müller J, Wallukat G, Dandel M, Bieda H, Brandes K, Spiegelsberger S, et al. Immunoglobulin adsorption in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. Circulation. 2000;101(4):385-91.
50. Matsui S, Fu ML, Katsuda S, Hayase M, Yamaguchi N, Teraoka K, et al. Peptides derived from cardiovascular G-protein-coupled receptors induce morphological cardiomyopathic changes in immunized rabbits. J Mol Cell Cardiol. 1997;29(2):641–55.
51. Labovsky V, Smulski CR, Gómez K, Levy G Levin MJ. Anti-b1--adrenergic receptor autoantibodies in patients with chronic Chagas heart disease. Exp Immunol. 2007;148(3):440–49.