

CAPÍTULO III

INMUNOLOGÍA E INMUNOPTATOLOGÍA

Inmunología e inmunopatología de la enfermedad de Chagas

Walter Mosca, Yelitza Campos, Luis Briceño, laboratorio de Fisiopatología Instituto de Biomedicina
Facultad de Medicina Universidad Central de Venezuela

Mi unica certeza es mi ignorancia

La enfermedad de Chagas es una zoonosis parasitaria endémica en la mayor parte de América latina cuyo agente etiológico es el *Trypanosoma cruzi*. Una característica de este parásito es su capacidad de infectar prácticamente cualquier mamífero. Esto hace imposible la erradicación de esta zoonosis y lo único razonable es plantearse su control evitando su transmisión al hombre. Por otra parte, el parásito debe haber desarrollado medios muy sofisticados para interactuar efectivamente con huéspedes muy diversos y para evadir la respuesta inmune de ellos, así como para interactuar con diferentes células ya que es capaz de replicarse en la mayoría de las células del organismo, aun cuando, dependiendo de la cepa tengan un tropismo preferencial para diferentes tejidos (Vago, Andrade et al. 2000) .

Desde el punto de vista inmunológico varios aspectos son resaltantes.

En el hospedero mamífero el *T. cruzi* tiene un complejo ciclo de vida. Después de ser transmitido al hospedero, los trypomastigotes metacíclicos penetran a células, presentes en el tejido, donde se transforman en amastigotes la forma replicativa en el hospedero vertebrado. Después de varios ciclos de división los amastigotes se convierten en tripomastigotes y la célula infectada se rompe liberando los parásitos en la matriz intercelular conjuntamente con el contenido de la vacuola parasitofora. Este evento origina una fuerte respuesta inflamatoria, y en los pacientes en fase crónica, la destrucción de la mayoría de los parásitos liberados al romperse la célula infectada. Sin embargo, un pequeño porcentaje de ellos sobrevive y penetran en otras células o pasan al torrente sanguíneo. Esto implica que algunos de los trypomastigotes evaden la acción de los elementos de sistema inmune.

La infección por *Tripanosoma cruzi*, en la mayor parte de los pacientes, no se acompaña de sintomatología evidente y la mayor parte de los infectados pasa a la fase crónica de la enfermedad. Pero, un porcentaje variable de ellos, 1 a 10 %, se asocia a un cuadro agudo que si no es tratado puede llevar a la muerte del paciente

La mayor parte de los pacientes que han sido infectados albergarán el parásito durante toda su vida sin presentar evidencias de patología debida a la presencia de aquel en su organismo. Sin embargo, un 20 a 30 por ciento, luego de un período de evolución variable, pero medido en años, desarrollará una patología que se puede manifestar como:

Dilatación de vías digestivas. Patología que no se observa en todos los países.

Una cardiomiopatía progresiva con alteraciones estructurales del miocardio

O una combinación de ellos en los países donde se observa la dilatación de vías digestivas.

Inmunología de la enfermedad de Chagas

Antes de tratar la respuesta inmune en relación al parásito y su posible participación en la patogenia de esta enfermedad, es importante dejar claras varias concepciones para así poder tener una mejor comprensión de los aspectos tratados.

Un punto, al que no se hace suficiente referencia, es que las enfermedades parasitarias implican una relación hospedero patógeno con características muy especiales que la diferencian de la que se establece con bacterias, virus u hongos patógenos. La más importante es la dependencia que tiene el parásito en relación a su hospedero para su permanencia como especie. A lo largo de su coevolución con su hospedero, ha desarrollado mecanismos para evadir las defensas de éste y permanecer el tiempo suficiente para pasar a otros hospederos y así, asegurar la persistencia de la especie. La necesidad de lograr lo anterior implica que ha aprendido a convivir con su hospedero causando el menor daño posible. Lo ideal para el parásito es lograr una relación lo mas cercana

posible al comensalismo. El mejor ejemplo de este equilibrio entre el parásito y su hospedero es el desarrollo de la inmunidad concomitante, la cual se caracteriza por dar resistencia a reinfecciones por el mismo parásito pero no es capaz de eliminar los que ya infectaron al hospedero. En conclusión esta relación es muy compleja y se pudiera describir como la negación del blanco o negro a que tienden las infecciones bacterianas o virales, y más bien como escala de grises que son más tenues en la medida que el parásito se ha adaptado mejor a su hospedero. Un segundo punto importante es el tener una visión de la complejidad de la respuesta inmune. Cuando enseñamos inmunología o evaluamos la respuesta inmune tendemos a hacer énfasis en el control y destrucción del agente patógeno, en resumen resaltamos lo positivo de la respuesta inmune. Sin embargo, la realidad, como lo describen los orientales, es dual. En la Filosofía China esta dualidad se describe en el concepto del Ying y Yang que describe las dos fuerzas fundamentales, opuestas pero complementarias, que se encuentran en todas las cosas. El aspecto positivo (Ying) de la respuesta inmune es su capacidad de mantener la integridad del organismo, controlar y eliminar agentes patógenos y diferenciar lo propio de lo extraño. Sin embargo, esto no está exento de su lado negativo (Yang) que es el daño tisular que se asocia a los mecanismos efectores de la respuesta inmune. El resultado final de esto dependerá de dónde se establezca el equilibrio. Para comprender esto permítanme hacer una descripción sinóptica de lo que sucede en una respuesta inmune que se ilustra en la Fig. 1.

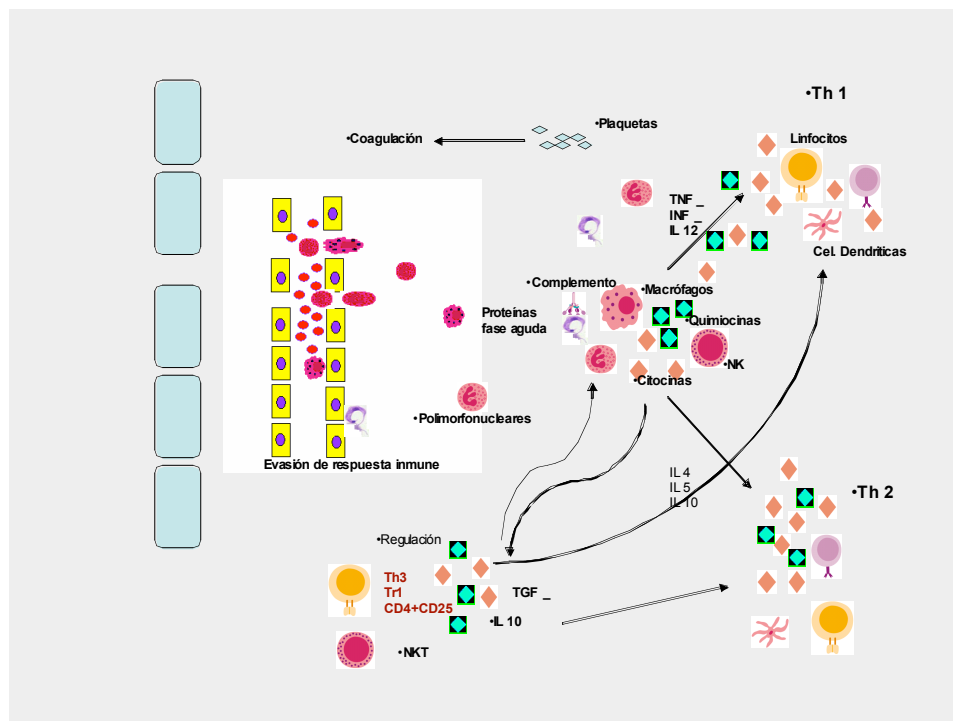


Fig. 1
Secuencia de eventos en la respuesta inmune a la infección con *Trypanosoma cruzi*

Ante una señal de peligro el componente innato del sistema inmune inicia una respuesta no específica que origina una respuesta inflamatoria con la liberación de mediadores como las prostaglandina, bradikina, quimiocinas, citocinas etc. y la migración de células polimorfonucleares y mononucleares. Si este nivel de respuesta es suficiente para eliminar el patógeno, usualmente se resuelve la respuesta inflamatoria y el tejido regresa a su condición original. Si esta primera línea de defensa no logra controlar el agente patógeno o si el estímulo pasa de cierto umbral, conjuntamente con la respuesta inmune innata no específica, comienzan a ser activados elementos de la respuesta inmune adaptativa cuyo resultado final es la generación de una respuesta inmune

adaptativa efectora y memoria inmunológica. Cuando hablamos de respuesta inmune el término específico se refiere al reconocimiento del agente patógeno, pero la respuesta inmune efectora es mediada por factores celulares y solubles no específicos. Por lo tanto, conjuntamente con la eliminación del patógeno hay un cierto grado de daño colateral del tejido donde tiene lugar la respuesta inflamatoria asociada a la respuesta inmune. Para limitar este daño a la capacidad fisiológica de recuperación del tejido, paralelamente con la respuesta inmune efectora se desarrolla una respuesta inmune reguladora. Cuando el equilibrio entre la respuesta inmune efectora y la respuesta reguladora se rompe las consecuencias son: o una incapacidad para eliminar el patógeno cuando la respuesta reguladora es excesiva o la presencia de daño tisular cuando está disminuida.

La incapacidad de controlar y/o destruir el parásito puede afectar significativamente al hospedero. Sin embargo, si la respuesta inmune al huésped es demasiado intensa (**hipersensibilidad**) o es dirigida contra antígenos del hospedero (originando **auto inmunidad**) ésta se convierte de un factor de resistencia y protección en una causa de enfermedad. Es lo que se define como **inmunopatología**

Respuesta inmune en la Enfermedad de Chagas.

Una vez que el parásito pasa la barrera de la epidermis, penetra a las células o es fagocitado por macrófagos titulares. En ellos se transforma en amastigotes y pasa por varios ciclos de replicación después de los cuales se transforma en trypomastigotes, rompe la célula y pasa nuevamente al espacio intersticial, en este momento, tanto el parásito como el contenido de la vacuola parasitofora activan elementos de la respuesta innata, sea por patrones moleculares asociados a patología (PMAP) que estimulan a receptores que reconocen estos patrones, o por otros receptores que interactúan con ellos. De esta manera se activan vías de reconocimiento innato dependientes de MyD88 y TRIF en macrófagos y células dendríticas (Tarleton 2007). Otros ligandos y receptores no bien definidos parecen participar en la activación de la inmunidad innata (Monteiro, Schmitz et al. 2006). Diferentes moléculas del parásito han sido reportadas como potentes estimuladores de la respuesta innata y consecuentemente de la activación de macrófagos y células dendríticas (Quanquin, Galaviz et al. 1999; Almeida, Camargo et al. 2000; Giordanengo, Guinazu et al. 2002; Ropert and Gazzinelli 2004). Otras, inducen una activación policlonal de las células inmunes que retrasa el desarrollo de la respuesta inmune adaptativa (Minoprio, Eisen et al. 1986) y el parásito se disemina en todo el organismo, originando un cuadro clínico que varía desde inaparente (el paciente no tiene sintomatología evidente) en la mayor parte de los casos, a un cuadro agudo con sintomatología importante con parasitemia patente y una importante respuesta inflamatoria.

La fase aguda de la enfermedad de Chagas, desde el punto de vista inmunológico, ha sido estudiada principalmente en animales experimentales, aspectos resaltantes de ella son:

la activación policlonal asociada a la alta parasitemia y una depresión de la respuesta inmune mediada por células (Minoprio, Eisen et al. 1986), y la producción de citocinas que son necesarias para el control de la infección. En el período inicial de la infección el parásito estimula la producción de TNF α e IL 12, las cuales, a su vez, aumentarán la producción de INF γ (Aliberti, Souto et al. 2001) que aumentarán la capacidad de los macrófagos para destruir el parásito especialmente por inducir la producción intermediarios reactivos del nitrógeno (Silva, Machado et al. 2003).

Paulatinamente el microambiente de citocinas conjuntamente con la activación de las células presentadoras de antígenos activan linfocitos T y B y comienza a conformarse la respuesta inmune adaptativa (Torricco, Heremans et al. 1991; Silva, Morrissey et al. 1992; Silva, Vespa et al. 1995; Aliberti, Cardoso et al. 1996; Cardillo, Voltarelli et al. 1996; Silva, Aliberti et al. 1998) que tendrá un rol central en el control de la fase aguda que, gradualmente, se convierte en una fase crónica en la cual el equilibrio de la respuesta inmune se ha desplazado a favor del hospedero aún cuando el parásito se mantiene en él.

La respuesta inmune específica que se evidencia en primera instancia en la producción de anticuerpos, primero Ig M y luego Ig G, asociada al control de la parasitemia (Fig 2). Los estudios experimentales realizados indican que los anticuerpos parecieran ser el factor preponderante en el control de la parasitemia y la respuesta inmune mediada por células, probablemente, como lo

sugiere el experimento con ratones C57BL/6 con knockout del gen de IL 10, participa más en la inducción de patología que en la eliminación del parásito (Hunter, Ellis-Neyes et al. 1997). Otros componentes del sistema inmune deben mantener la respuesta inmune regulada para minimizar el daño inmunológico colateral, como lo indica el trabajo de Duthie y colaboradores (Duthie, Kahn et al. 2005), donde se demuestra que las células NK tienen una subpoblación NK CD1d que regula negativamente la respuesta inflamatoria en la fase aguda y otra, que la regula positivamente.

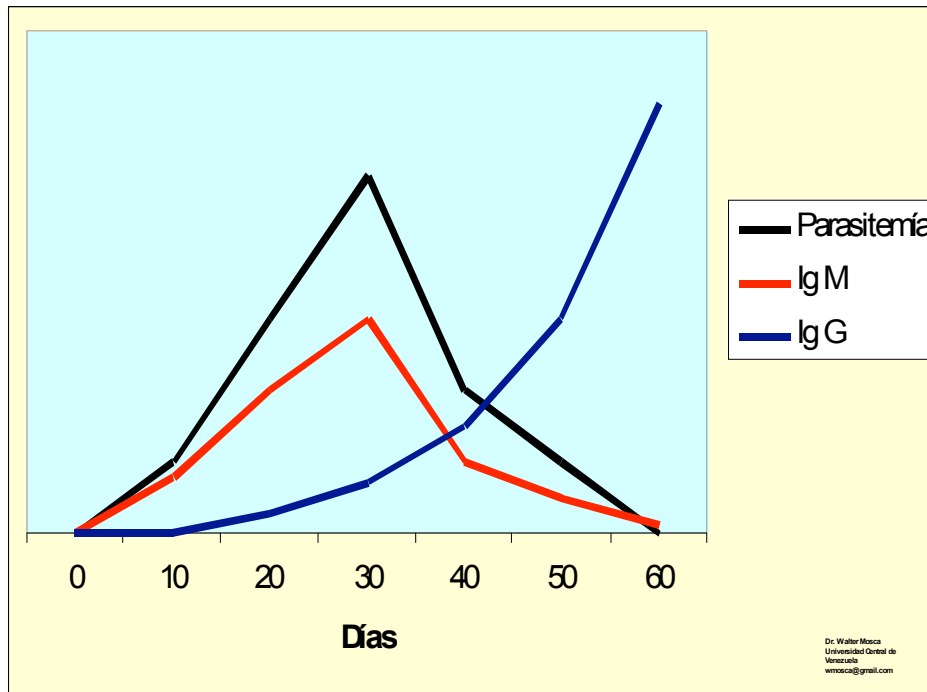


Fig. 2

En esta grafica se ilustra la relación entre el nivel de parasitemia y la concentración de inmunoglobulinas específicas en los animales experimentales.

El hecho fundamental es la observación de la relación inversa entre los niveles de inmunoglobulina G y la parasitemia.

Fase crónica

En la fase indeterminada la respuesta inmune difiere de la observada durante la fase aguda, siendo su característica fundamental el control de la infección que se evidencia por la parasitemia subpatente y la dificultad en detectar el parásito en los tejidos.

Inmunidad humoral

Aun cuando en la fase aguda parecieran ser fundamental en el control de la infección, en la fase crónica su rol no es tan claro. Krettli y colaboradores (Krettli and Brener 1982) han descrito la presencia de anticuerpos con la capacidad de inducir lisis de los tripomastigotes por el complemento, y su presencia se ha asociado a la presencia del parásito ya que su título disminuye en los pacientes curados (Cordeiro, Martins-Filho et al. 2001). Sin embargo, lo anterior es paradójico ya que el parásito persiste en el hospedero a pesar de la presencia de este anticuerpo y de complemento. Por otra parte la transferencia pasiva de anticuerpos ha demostrado que induce protección en animales experimentales por lo cual deben tener por lo menos un rol coadyuvante durante esta fase.

Inmunidad celular en la Enfermedad de Chagas

Los linfocitos T pueden ser separados en dos grandes subpoblaciones
 Linfocitos CD 4+
 Cooperadores

Linfocitos CD 8+
 Citotóxicos

.Al igual que en el caso de la separación entre inmunidad adaptativa e innata, esto se hace fundamentalmente con fines didácticos para permitir la comprensión de un proceso complejo. Sin embargo, cada subpoblación puede ser dividida en ulteriores subgrupos y las interacciones entre ellos, sea directamente o por medio de mediadores producidos o inducidos por ellos son complejas, y determinan las características de la fase efectora de la respuesta inmune al parásito Fig. 3.

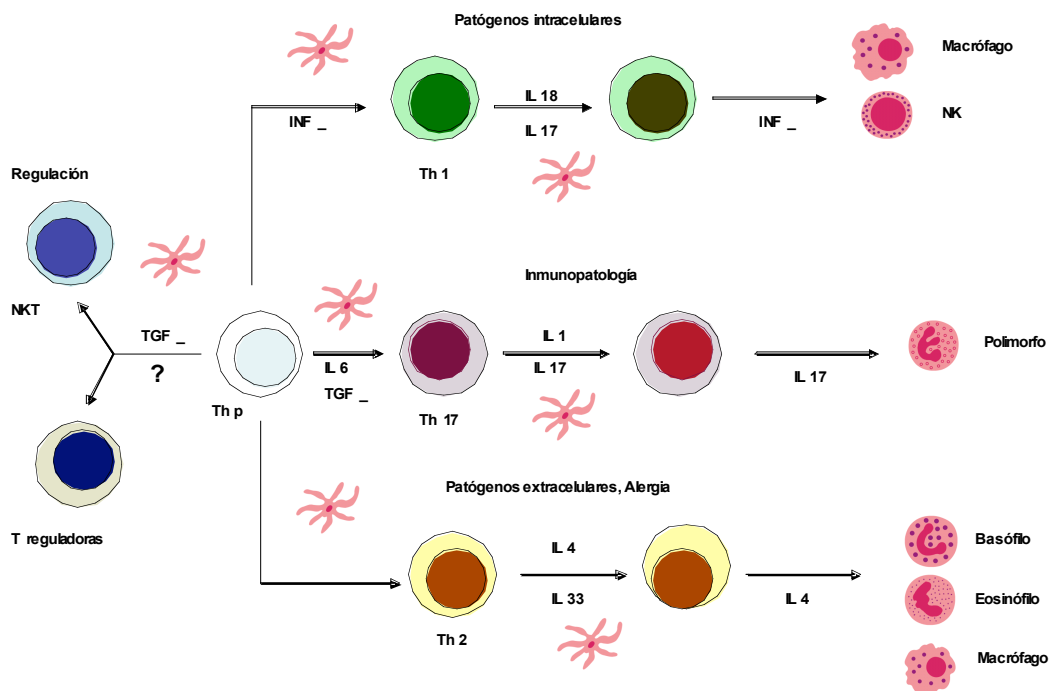


Fig. 3 Maduración de la respuesta inmune

Los estudios realizados tanto en animales experimentales (Araujo 1989; Tarleton, Sun et al. 1994; Tarleton, Grusby et al. 1996; Martin and Tarleton 2005) como en pacientes (Mosca, Plaja et al. 1979; Mosca, Plaja et al. 1985; Mosca, Castes et al. 1986; Reis, Jones et al. 1993; Higuchi, Ries et al. 1997; Laucella, Postan et al. 2004) evidencian que en la fase crónica de la enfermedad la respuesta inmune celular tiene un rol fundamental como se ha demostrado por la reactivación de la enfermedad en pacientes inmunosuprimidos (Jardim and Takayanagui 1994; Rocha, de Meneses et al. 1994; Corti and Yampolsky 2006).

La respuesta inmune mediada por células tiene un proceso de maduración. Después de la interacción con las células presentadoras de antígenos (CPA), los elementos del parásito son procesados y los epitopes antigénicos son presentados en el contexto del complejo mayor de histocompatibilidad I o II a los linfocitos T. Los linfocitos T que reconocen los epitopes presentados por la CPA son estimulados y en presencia del microambiente adecuado de quimiocinas y citocinas se convierten en linfocitos Th 0 que pueden evolucionar a linfocitos Th 1 (CD4+) Tc 1 (CD8+) o a Th 2 (CD4+) Tc 2 (CD8+) (Fig. 3) o como lo sugieren reportes recientes, cuando la respuesta

tiende a inducir patología hay una expansión de Th 17 asociadas a inmunopatología (Weaver, Harrington et al. 2006).

Las distintas subpoblaciones de linfocitos T efectores se diferencian por el perfil de citocinas que se observa en la respuesta efectora.

Tipo 1: respuesta efectora mediada por citocinas pro inflamatorias tales como Interferón gamma, TNF α y β , IL 3, IL 12, GM-CSF. Estimulan la fagocitosis y destrucción de patógenos. Particularmente efectiva contra patógenos intracelulares y tumores.

Tipo 2: respuesta efectora mediada por las citocinas IL 4, IL 5, IL 6, IL 13, IL 10, TNF β , GM-CSF. Estimulan la producción anticuerpos contra agentes patógenos extracelulares, activa eosinófilos y de importancia en génesis de alergias

Es importante resaltar que estas tienden a inhibirse mutuamente, por lo cual para lograr una respuesta efectora se requiere que se establezca un equilibrio entre ambas. Si éste es el adecuado, el paciente es capaz de resistir el agente patógeno.

En el caso de la enfermedad de Chagas la presencia de un patrón mixto sugiere un equilibrio inestable entre ambas respuestas y pareciera que la presencia de patología se asocia a un predominio de la respuesta tipo Th1 (Tarleton, Grusby et al. 2000).

Sin embargo a pesar de que uno puede evidenciar tanto la presencia de anticuerpos como la presencia de linfocitos T que responden a antígenos del parásito, éste persiste en el hospedero por toda su vida. Lo anterior plantea que el *Trypanosoma cruzi* ha desarrollado mecanismos para evadir la respuesta inmune y por lo menos una parte de los trypanosomas liberados, cuando se rompe una célula infectada, son capaces de sobrevivir estos mecanismos efectores y mantener la infección en el hospedero.

Elementos del parásito inhiben la activación de linfocitos (Tarleton, Schafer et al. 1983; Kierszenbaum, Cuna et al. 1990; Kierszenbaum, Fresno et al. 2002)

Antígenos del parásito inducen una regulación negativa de la proliferación de células mononucleares (Mosca, Plaja et al. 1985; Mosca, Briceno et al. 1991; Borges, Da Silva et al. 2003; Mosca, Navarro et al. 2006)

Presencia de mucinas recubriendo la membrana celular pudiera ser un mecanismo de evasión (Campo, Buscaglia et al. 2006).

Alteración de la maduración de células dendríticas que limita su capacidad de estimular adecuadamente los linfocitos (Van Overtvelt, Vanderheyde et al. 1999) (Brodskyn, Patricio et al. 2002; Planelles, Thomas et al. 2003)

Alteración en el microambiente generado durante la respuesta inmune inducida por el parásito (Tarleton 1988; Tarleton, de Andrade et al. 1988; Souza, Rocha et al. 2007)

Conjuntamente con la respuesta inmune efectora, que controla la infección, se desarrolla una respuesta reguladora que en el caso de la enfermedad de Chagas se intuye que debe estar presente y hay evidencias indirectas de ella (Tarleton, Schafer et al. 1983; Mosca, Plaja et al. 1985; Castes, Panagiotopoulos et al. 1986; Tarleton 1988; Mosca, Briceno et al. 1991; Briceno and Mosca 1996; de Barros-Mazon, Guariento et al. 2004; Mosca, Navarro et al. 2006). Hasta hace unos años la presencia de linfocitos y otras células con función reguladora era cuestionada dado que, aún cuando había evidencias indirectas de ella, no se había podido identificar un grupo celular relacionado con ella. Recientemente se han descrito diversas subpoblaciones celulares que participan en la regulación de la respuesta inmune (van Oosterhout and Bloksma 2005; Girardi 2006; Toda and Piccirillo 2006). La posible función de algunas de ellas ha sido evaluada en pacientes con enfermedad de Chagas (Vitelli-Avelar, Sathler-Avelar et al. 2005; Vitelli-Avelar, Sathler-Avelar et al. 2006; Kotner and Tarleton 2007). En ratones el rol de estas células no pareciera ser relevante en el curso de la infección, especialmente en fase crónica (Kotner and

Tarleton 2007). En Humanos se reportó que la frecuencia de linfocitos reguladores CD4+CD25^{high} fue mayor en pacientes en la fase indeterminada que en los pacientes con cardiomiopatía, conjuntamente con esto se demostró que otra subpoblación, y linfocitos T asesinos naturales (NKT) reguladores, tienen también una mayor frecuencia en los pacientes sin evidencia de patología cardíaca (Vitelli-Avelar, Sathler-Avelar et al. 2005). En trabajos posteriores, estudiando pacientes con infección relativamente reciente se confirmó el hallazgo anterior asociándolo a posibles mecanismos de daño cardíaco (Vitelli-Avelar, Sathler-Avelar et al. 2006; Araujo, Gomes et al. 2007).

Lo expuesto anteriormente presenta información que indica que la respuesta inmune es afectada tanto por los mecanismos reguladores como por componentes del parásito. Consecuentemente en el resultado final deben tener importancia tanto las características del parásito como la inmunogenética del hospedero. Sin embargo, aun cuando hay indicios que indican la relevancia de ambos factores ésta es una discusión aún en evolución y no hay un consenso (Layrisse, Fernandez et al. 2000; Vago, Andrade et al. 2000; Messias-Reason, Urbanetz et al. 2003; Manoel-Caetano Fda and Silva 2007)

Inmunopatología.

En relación a la etiología de la patología cardíaca se han planteado múltiples hipótesis (Kierszenbaum 1999):

Lesión debida al daño inducido por el parásito por parasitismo de las células cardíacas.

Lesiones producidas por toxinas liberadas por el parásito

Trastornos autonómicos

Lesiones debidas a la inducción de autoinmunidad.

Hipersensibilidad retardada (DTH) a los antígenos del parásito.

Alteraciones de la microvasculatura.

Las características del infiltrado inflamatorio observado en la fase crónica de esta enfermedad, conjuntamente con la dificultad para demostrar la presencia del parásito en el corazón de los pacientes, son compatibles tanto con una etiología autoinmune o una respuesta inmune con características de hipersensibilidad retardada. La hipótesis con más aceptación, hasta hace pocos años, fue la que sostiene que el daño observado en el corazón es debido a la inducción de una respuesta autoinmune en el hospedero.

Con el fin de analizar este aspecto debemos primero definir en forma precisa qué es necesario para caracterizar una patología autoinmune. Lo primero es entender que la presencia de autoreactividad no es indicio de patología ya que ésta se observa, sea como autoanticuerpos o linfocitos T autoreactivos, en personas sanas y la frecuencia de este hallazgo aumenta con la edad. Para aceptar la presencia de una patología autoinmune se han establecido cuatro criterios "Witebsky's Criteria" (Witebsky, Rose et al. 1957)

Que esté regularmente asociada con la enfermedad

Que la inmunización de animales experimentales con antígeno del tejido induzca una respuesta inmune.

Que el animal desarrolle una enfermedad similar a la observada en el humano

Que la enfermedad pueda ser transferida a un animal no inmunizado, sea con los anticuerpos o los linfocitos T.

Es obvio que el primer punto: asociación entre la presencia de enfermedad y la de la autoreactividad, es el primero que debe cumplirse.

Autoinmunidad mediada por anticuerpos

En la literatura se han reportado un gran número de autoanticuerpos, tanto en modelos experimentales como en pacientes. Los autoanticuerpos reportados tienen reactividades con diversos tejidos:

Corazón. Desde los primeros autoanticuerpos reportados, los EVI (Cossio, Diez et al. 1974) que posteriormente demostraron ser anticuerpos no específicos, se han reportado diversos otros autoanticuerpos con elementos del miocardio (Abel, Kalil et al. 1997) (McCormick and Rowland 1989; Cunha-Neto, Duranti et al. 1995; Cunha-Neto, Coelho et al. 1996). Sin embargo, en ningún caso se ha demostrado asociación con la presencia de patología cardíaca. Los únicos que parecieran tener asociación con la presencia de alteraciones del ritmo cardíaco son los autoanticuerpos contra receptores β adrenérgico y/o muscarínicos (Borda, Sterin-Borda et al. 1991; Elies, Ferrari et al. 1996). Sin embargo se han reportado similares autoanticuerpos en cardiomiopatías sean idiopáticas o de otra etiología, y en un artículo reciente no se pudo demostrar asociación entre la presencia de estos autoanticuerpos y la cardiomiopatía Chagásica (Talvani, Rocha et al. 2006).

Sistema nervioso. Se han reportado diversos autoanticuerpos sin demostrarse una asociación con la patología (Van Voorhis and Eisen 1989; Gea, Ordonez et al. 1993).

La significancia de esta reactividad ha sido discutida por diversos autores (Kierszenbaum 1999; Soares, Pontes-De-Carvalho et al. 2001; Kierszenbaum 2003) (Girones and Fresno 2003; Higuchi Mde, Benvenuti et al. 2003). En términos generales podríamos decir que hay una corriente de opinión que aun sostiene que la autoinmunidad es el factor fundamental en la génesis de las lesiones observadas en el miocardio. Sin embargo esta línea de pensamiento encuentra dos dificultades principales para tener aceptación. Por una parte, en mi opinión lo más importante, es que los datos que cumplen con los criterios arriba expuestos han sido obtenidos en animales experimentales, sin que se haya demostrado una asociación entre el fenómeno evaluado en animales experimentales y la patología observada en humanos. Para ilustrar lo que queremos decir permítanme utilizar el ejemplo de la autoreactividad inducida contra miosina por mimetismo (similitud entre los determinantes antigénicos del parásito y los del hospedero). Los datos experimentales en ratones cumplen con los criterios enunciados anteriormente (criterios de Witbesky) y si esta fuera una patología de ratones, lo planteado tendría una relevancia importante. Sin embargo, esta es una patología humana y cuando se evalúa esto en pacientes no se puede demostrar una asociación entre la presencia de autoanticuerpos contra miosina y la miocardiopatía Chagásica por lo cual, los resultados parecen más un hallazgo de laboratorio que un hecho.

Otra corriente de opinión, basada en la observación en humanos en la que se demuestra la persistencia del parásito en el hospedero y la presencia de antígenos de él o de su ADN en las lesiones inflamatorias de los corazones de pacientes, sostiene que la patología, fundamentalmente es inducida por el parásito. Una tercera corriente de opinión establece un sincretismo entre las dos y sostiene que aun cuando el parásito está presente y participa en inducir el daño tisular, parte importante de él tiene que ver con el efecto de autoreactividad que se estimula en su presencia. Esta última hipótesis, un sincretismo entre ambas, es difícil de argumentar dado que cuando hay daño tisular se puede originar una respuesta contra los elementos del tejido tal como se ve en un porcentaje de pacientes que han sufrido infarto de miocardio, pero, de corta duración. Sin embargo, en este caso aun cuando puedan participar en el proceso inflamatorio y quizás potenciarlo sería mas un epifenómeno que una causa.

Una mención aparte merecen los autoanticuerpos contra receptores β adrenérgicos y muscarínicos. En relación a ellos la discusión esta abierta y pudieran tener importancia en la génesis de las alteraciones de ritmo que son uno de los aspectos resaltantes en la enfermedad de Chagas. Sin embargo, la situación no es clara ya que la presencia de estos anticuerpos en otras patologías y publicaciones contradictorias en relación a su asociación con la presencia cardiomiopatía Chagásica (Talvani, Rocha et al. 2006), hace necesario que se realicen estudios ulteriores en pacientes para aclarar definitivamente su posible participación en la patogenia de la enfermedad.

Autoinmunidad mediada por linfocitos T

La autoinmunidad también puede ser mediada por linfocitos T. Este tipo de autoreactividad ha sido evaluada por diferentes investigadores. En animales experimentales hay evidencias que sugieren que pudieran tener un rol y otras, que la contradicen.

Sin embargo, en humanos aun cuando se observó una mayor frecuencia de células mononucleares que respondieron a antígenos de corazón, esta reactividad tuvo una frecuencia similar en pacientes con o sin cardiomiopatía (Mosca and Plaja 1981). Esto pudiera sugerir que la presencia del parásito de alguna manera subvierte la regulación de la respuesta inmune, y los fenómenos de autoreactividad son más frecuentes aun cuando no participen en la patología. De nuevo, en forma similar a lo observado para el rol de autoanticuerpos, la mayor parte de los resultados que soportan la participación de una autoinmunidad mediada por linfocitos T en esta enfermedad, ha sido obtenida en animales experimentales pero, en el mejor de nuestro conocimiento, no hay ninguna publicación que haya demostrado una asociación entre la presencia de células autoreactivas y la presencia de cardiomiopatía.

Los resultados obtenidos en animales experimentales han sido controversiales y extensivamente discutidos por Kierszenbaum (Kierszenbaum 2003) Sin embargo, independientemente de lo discutible o no que pueda ser esa evidencia, en nuestra opinión lo mas cuestionable de ella es que no esta claro cuan relevante es en lo observado en pacientes, particularmente ante el hecho de que se ha demostrado la presencia de elementos del parásito en las lesiones de pacientes (Higuchi, Ries et al. 1997). Lo anterior hace pensar que si hay un componente de respuesta autoinmune es secundario al proceso inflamatorio que se origina cuando se rompe una célula infectada.

En conclusión, una porción importante de las personas que han estudiado estos aspectos considera que aun cuando puede ser parte del proceso inflamatorio que generará las lesiones del tejido cardíaco, la autoinmunidad no es la causa de ellas.

Los resultados reportados recientemente parecen favorecer la noción de que el parásito es requerido para que haya patología cardiaca (Kierszenbaum 2005). Las características del infiltrado inflamatorio, la persistencia del parásito conjuntamente con la demostración de un predominio de linfocitos Cd8+, la preeminencia del INF y en los infiltrados inflamatorios, soporta la noción de que las lesiones observadas en el miocardio son la consecuencia de una respuesta tipo DTH a los antígenos del parásito (Gomes, Bahia-Oliveira et al. 2003; Higuchi Mde, Benvenuti et al. 2003; Gomes, Bahia-Oliveira et al. 2005). Autores que sostienen que el daño es originado por una respuesta autoinmune argumentan que la dificultad en demostrar la presencia del parásito es una observación que dificulta el asociarlo con el daño observado. Sin embargo, esto es lo que caracteriza una respuesta de hipersensibilidad retardada como la que se observa en Lepra tuberculoide o Leishmaniasis mucocutanea.

Nuestro grupo ha estudiado esta enfermedad por muchos años con el fin de comprender los factores que condicionan el desarrollo de la miocardiopatía observada en esta enfermedad. En nuestros estudios iniciales evaluamos la presencia de autoreactividad en pacientes (Mosca and Plaja 1981; Mosca and Cedillos 1988) y aun cuando demostramos la presencia de autoanticuerpos y respuesta proliferativa de células mononucleares a antígenos de corazón, no la pudimos asociar con la presencia de cardiomiopatía. Basados en nuestros resultados y una revisión crítica de lo reportado en la literatura en 1986 (Mosca 1986) cuestionamos la relevancia de una respuesta autoinmune como factor importante en la génesis del daño cardíaco observado. Posteriormente, con el fin de entender tanto la respuesta inmune en esta patología y su relación con la presencia de daño cardíaco, en un estudio longitudinal, con pacientes precisamente clasificados, correlacionamos la respuesta inmune humoral (título de anticuerpos), la presencia de parasitemia (xenodiagnóstico), con la respuesta inmune celular, medida como respuesta proliferativa a antígenos de *T. cruzi* (Mosca, Plaja et al. 1985). Este estudio puso en evidencia tres cosas fundamentales:

Al clasificar los pacientes estudiados en indeterminados y pacientes con cardiomiopatía y en cada grupo los estudios realizados se agruparon según el resultado del Xenodiagnóstico (Tabla 1), se ve claramente que en los indeterminados la parasitemia se asoció con una respuesta proliferativa significativamente menor. Sin embargo en los con cardiomiopatía no hubo diferencias entre los dos grupos. Esto sugiere que, de alguna manera, en los indeterminados la presencia del parásito en la

sangre, activa procesos que regulan negativamente la respuesta inmune. Esto no está presente o está disminuida en los pacientes con cardiomiopatía.

Tabla 1. Índice de Estimulación y Cuentas Netas por Minuto inducida en células mononucleares estimuladas con antígenos de *Trypanosoma cruzi*

Grupos	Xenodiagnóstico	Índice de Estimulación	Cuentas Netas Por Minuto
Indeterminado	Positivo	10.9 (1,4)	11042 (1076)
	Negativo	16.2 (1.5)*	17349 (2162)
Cardionipatía	Positivo	17.2 (3,2)	14216 (2780)
	Negativo	17,0 (2,3)	14404 (3236)

* $p < 0,05$ cuando se compara con indeterfminado con Xenodiagnóstico +

La respuesta inmune humoral, medida como título de las pruebas serológicas utilizadas, fue significativamente más alta en los pacientes con cardiomiopatía.

La frecuencia de xenodiagnóstico positivo fue mayor en los pacientes con cardiomiopatía. Estas observaciones sugieren que aun cuando la respuesta inmune pareciera ser mas intensa en los pacientes con cardiomiopatía, parte de ella no parecía originar mecanismos efectores contra el parásito. Lo que es mas, aun cuando el parásito origino una regulación negativa en los indeterminados, éstos tuvieron una menor frecuencia de xenodiagnósticos positivos. Lo anterior sugería la presencia de dos respuestas reguladoras: - Una inducida por el parásito para lograr sobrevivir en el hospedero que se evidencia en la mayor frecuencia de Xenodiagnóstico. - Otra, que corresponde o los mecanismos de regulación de la respuesta inmune efectora para minimizar daño al tejido, la disminución de la respuesta proliferativa observada en los pacientes crónicos sin evidencia de patología cardiaca.

Independientemente de la discusión para precisar el mecanismo que origina las lesiones es obvio que el sistema inmune tiene un rol fundamental en su génesis. Lo cual implica que la regulación de la respuesta inmune está subvertida en la enfermedad de Chagas con el fin de establecer un nuevo equilibrio entre el parásito y el hospedero.

El nuevo equilibrio se caracteriza por: una regulación de la respuesta inmune anti *T. cruzi* que permite la persistencia de un pequeño número de parásitos y una regulación de la inflamación inducida cuando se rompe la célula infectada. Esto mantiene el daño inducido por la respuesta inmune efectora dentro de los límites de la capacidad fisiológica de recuperación del tejido.

Basados en estas premisas, nuestros estudios y los de otros grupos presentamos una hipótesis "EQUILIBRIO DINÁMICO DE LA RELACIÓN HOSPEDERO PARÁSITO" en la enfermedad de Chagas (Mosca and Briceno 2000). Básicamente postulamos que la presencia o no de patología depende del equilibrio que se establece entre cuatro grandes variables (Tabla 2). La idea central es que el espectro de la enfermedad de Chagas es un continuo que se puede asimilar a una variable analógica (Fig. 4). La idea de equilibrio es para resaltar el hecho de que consideramos esto como un proceso dinámico cuyo resultado final depende de múltiples variables, y dinámico porque debe ser afectado por cambios en esas variables.

La hipótesis presentada implica ciertos corolarios que deberían corresponderse con los hallazgos experimentales cuando se estudian pacientes con enfermedad de Chagas:

Tabla 2. Variables que determinan el Equilibrio Dinámico

	ASINTOMATICOS	CARDIOMIOPATÍAS
Control del parásito	+++	+
Regulación negativa de control del parásito	+	+++
Inducción de inmunopatología	+	+++
Regulación negativa de inmunopatología	+	+++

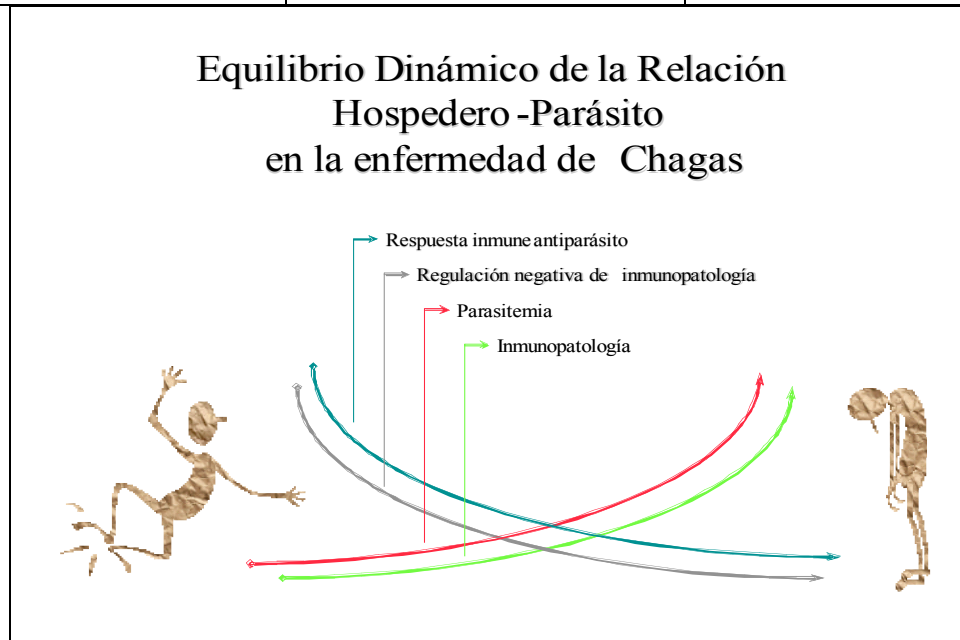


Fig. 4

La parasitemia debe ser mayor en pacientes con miocardiopatía

Según el esquema presentado el progreso de la enfermedad se asocia a una menor respuesta al parásito y, consecuentemente, debe ser más fácil demostrar la presencia del parásito en sangre. Esto fue demostrado por Maekelt (Maekelt 1973) y confirmado por nosotros (Mosca, Plaja et al. 1985). En ambos estudios la frecuencia de xenodiagnóstico positivo fue mayor en los pacientes con evidencia de patología cardíaca Tabla 3.

Tabla 3. Correlación entre la presencia de alteraciones electrocardiográficas y xenodiagnóstico positivo en pacientes con enfermedad de Chagas (Maekelt GA)

Grupos	Electrocardiograma Anormal	Electrocardiograma Anormal
Xenodiagnóstico +	422 (77.3%)	124 (22.7%)
Xenodiagnóstico -	452 (12.3%)	3264 (87.7%)

Los pacientes a los que se les evidencia parásitos circulantes deben tener menor respuesta inmune celular a éstos

Como puede apreciarse en la Tabla 1, tomada de nuestra publicación (Mosca, Plaja et al. 1985), se aprecia que los pacientes sin evidencia de daño cardíaco, cuando tienen xenodiagnóstico positivo, tienen una menor respuesta proliferativa de sus células mononucleares a antígenos del parásito. Esto no se observa en los pacientes con cardiomiopatía, lo cual sugiere que está relacionado con la regulación de la respuesta inflamatoria.

Las características de la respuesta inmune, en particular su regulación, deben ser diferentes en pacientes con cardiomiopatía que en los pacientes sin evidencia de patología.

Utilizando ensayos de coestimulación demostramos la presencia de una regulación negativa de la respuesta inmune inducida específicamente por los antígenos del parásito (Mosca, Briceno et al. 1991), la cual fue mayor en pacientes sin evidencia de afección cardíaca. Posteriormente, utilizando antígenos crudo de tripomastigotes y antígenos de trypomastigotes semipurificados por electroforesis en geles de poliacrilamida, demostramos que la mayor parte de los antígenos evaluados inducían una mayor respuesta proliferativa, *in vitro*, de las células mononucleares de pacientes con patología cardíaca (Mosca, Navarro et al. 2006). Higuchi y colaboradores han demostrado la presencia de elementos del parásito en asociación con infiltrado inflamatorio y una mayor frecuencia de linfocitos CD8+ en los corazones de pacientes con cardiomiopatía Chagásica (Higuchi, Ries et al. 1997). Gomes y colaboradores demostraron la asociación de una respuesta celular tipo Th1 con la presencia de miocardiopatía (Gomes, Bahia-Oliveira et al. 2003) asociando la producción de INF γ y por los linfocitos CD4+ con la cardiomiopatía y la producción de IL 10 por los macrófagos con la ausencia de lesiones, posteriormente confirmaron este hallazgo en un estudio donde se evaluó la producción de quimiocinas en relación a los parámetros anteriores (Gomes, Bahia-Oliveira et al. 2005). Resultados similares, limitados a la evaluación de macrófagos, fueron reportados por Souza y colaboradores (Souza, Rocha et al. 2004). Laucella y colaboradores reportaron que la frecuencia de linfocitos T productores de INF γ , correlacionaba inversamente con la presencia de cardiomiopatía (Laucella, Postan et al. 2004). Lo anterior pone en evidencia que hay una diferencia en la respuesta inmune mediada por células en diferentes grupos de pacientes, siendo lo más resaltante que la patología se asocia a elementos que deben inducir inflamación, mientras que en los pacientes sin evidencia de patología predominan los elementos que regulan la respuesta inflamatoria tales como la IL 10.

Con la descripción de marcadores que permiten identificar células reguladoras se ha evaluado este aspecto en pacientes y se ha asociado una mayor frecuencia de linfocitos reguladores naturales CD4+CD25^{high} en los pacientes sin evidencia de patología cardíaca (Vitelli-Avelar, Sathler-Avelar et al. 2005; Araujo, Gomes et al. 2007).

En conjunto, las evidencias experimentales establecen diferencias entre la respuesta inmune de pacientes con afección cardíaca en comparación con los que no tienen evidencia de patología, tanto en cuanto a la respuesta inmune como a su regulación.

Si es un equilibrio, debe haber pacientes en los cuales las lesiones cardíacas no progresen

No tenemos resultados experimentales confiables en relación a esto. Sin embargo, en nuestra experiencia durante el periodo que realizamos seguimiento de pacientes con enfermedad de

Chagas, tuvimos diversos pacientes con patología que se mantuvo estable por el periodo de observación. El caso más emblemático fue un paciente que tuvo bloqueo AV completo a los 19 años de edad y luego de 30 años la enfermedad no había progresado ni clínicamente, ni en los exámenes complementarios. Similares observaciones me han sido comunicadas, a nivel personal, por otros investigadores.

Todos los pacientes deben tener evidencias de respuesta inflamatoria en los tejidos. Lo que debe variar es la intensidad y frecuencia de ella.

Las observaciones a nivel de ultraestructura reportadas por Palacios-Pru y colaboradores (Palacios-Pru, Carrasco et al. 1989) concuerdan con este supuesto demostrando la presencia de compromiso tisular en todos los pacientes, independientemente de presencia o no de patología cardíaca. Lo que varió fue la intensidad del proceso inflamatorio y la presencia de alteraciones permanentes del miocardio. Estas fueron mayores mientras mayor era el compromiso funcional del corazón.

La idea central de esta hipótesis es que la patología cardíaca o su ausencia son determinadas por el equilibrio que se establece entre el parásito y el hospedero. Las implicaciones más importantes de ella son que deberíamos poder modificar la evolución de las lesiones cardíacas e identificar los factores que determinan que el equilibrio pase, de un balance que permite una vida normal a uno que afecta la capacidad funcional del paciente. Con este fin estamos realizando, en el estado Lara de Venezuela, en una zona donde la enfermedad de Chagas es endémica, un estudio para identificar factores de riesgo para el desarrollo de cardiomiopatía, que esperamos nos dé los instrumentos para comprender mejor los factores que condicionan el daño cardíaco y que nos permitan evaluar intervenciones terapéuticas para prevenirlo.

Cuadro 1

Aspectos fundamentales del sistema inmune

El sistema inmune esta constituido por una compleja red de células y de factores secretados (quimiocinas, citocinas y otros mediadores)

- Discrimina lo propio de lo extraño
- Capacidad de responder a una cantidad prácticamente ilimitada de Agentes vivos o inanimados extraños
- Tiene la capacidad de aprender y recordar (Memoria inmunológica)

Para poderlo comprender y explicar lo estudiamos separando sus partes. Sin embargo, es fundamental tener presente que estas partes funcionan conjuntamente con complejas interacciones y equilibrios

La respuesta inmune a un agente patógeno es la resultante de una serie de complejas decisiones que hace el sistema inmune y que pueden ser afectadas tanto por las características del microorganismo como por las condiciones del hospedero

Una adecuada respuesta inmune requiere que las decisiones sean las adecuadas

Los parásitos a lo largo de la evolución han desarrollado complejos mecanismos para interactuar con el sistema inmune de su hospedero tanto para eludirlo como para regularlo.

Cuadro 2

INFLAMACIÓN

Una serie de reacciones que tienen como fin minimizar el daño originado por microorganismos, aislarlo y destruirlo y como ultimo paso reparar el daño tisular y restaurar la función normal del organismo

Se caracteriza por edema, enrojecimiento, aumento de temperatura y dolor. Este cuadro mejora y desaparece conjuntamente con la restitución tisular

Cuando esta respuesta inflamatoria no esta controlada y sale de los parámetros fisiológicos puede ser dañina para el hospedero.

Cuadro 3 **Moléculas del *Trypanosoma cruzi* que modifican la respuesta de los linfocitos T**

La enzima trans-sialidasa libre o anclada a GPI aumenta la parasitemia y mortalidad en ratones infectados experimentalmente

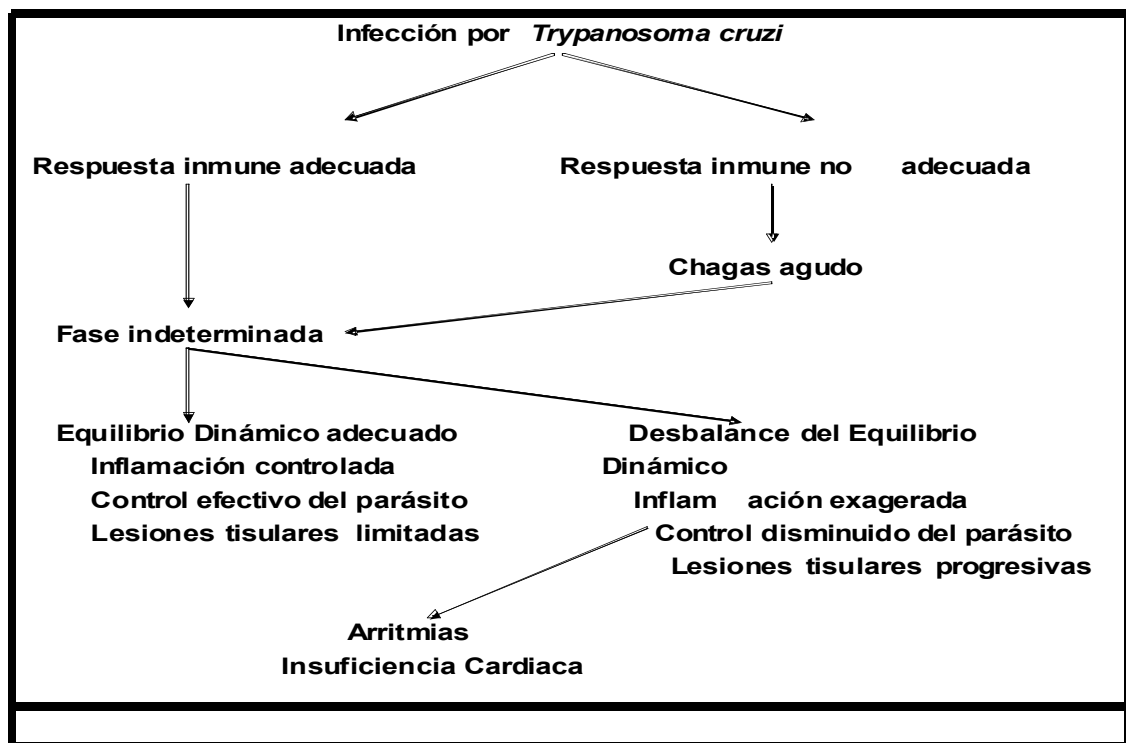
Mucinas

Fosfolípidos anclados a GPI inhiben producción de IL 2 pero no de IL 4

Fosfolípidos anclados a GPI potentes inductores de inflamación

Cruzipaina induce producción de TGF β e IL 10

Cuadro 4



Agradecimientos.

Este trabajo fue subvencionado por FONACIT G2000001530 y FONACIT LAB-2000001639 y el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela

Abel, L. C., J. Kalil, et al. (1997). "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 **30**(11): 1305-8.

Aliberti, J. C., M. A. Cardoso, et al. (1996). "Interleukin-12 mediates resistance to Trypanosoma cruzi in mice and is produced by murine macrophages in response to live trypomastigotes." Infect Immun **64**(6): 1961-7.

Aliberti, J. C., J. T. Souto, et al. (2001). "Modulation of chemokine production and inflammatory responses in interferon-gamma- and tumor necrosis factor-R1-deficient mice during Trypanosoma cruzi infection." Am J Pathol **158**(4): 1433-40.

Almeida, I. C., M. M. Camargo, et al. (2000). "Highly purified glycosylphosphatidylinositols from Trypanosoma cruzi are potent proinflammatory agents." Embo J **19**(7): 1476-85.

Araujo, F. F., J. A. Gomes, et al. (2007). "Potential role of CD4+CD25HIGH regulatory T cells in morbidity in Chagas disease." Front Biosci **12**: 2797-806.

Araujo, F. G. (1989). "Development of resistance to Trypanosoma cruzi in mice depends on a viable population of L3T4+ (CD4+) T lymphocytes." Infect Immun **57**(7): 2246-8.

Borda, E. S., L. J. Sterin-Borda, et al. (1991). "Trypanosoma cruzi attachment to lymphocyte muscarinic cholinergic and beta adrenergic receptors modulates intracellular signal transduction." Mol Biochem Parasitol **47**(1): 91-100.

Borges, M., A. C. Da Silva, et al. (2003). "Peptide-based analysis of the amino acid sequence important to the immunoregulatory function of Trypanosoma cruzi Tc52 virulence factor." Immunology **109**(1): 147-55.

Briceno, L. and W. Mosca (1996). "Defective production of interleukin 2 in patients with Chagas' disease. Purified IL-2 augments in vitro response in patients with chagasic cardiomyopathy." Mem Inst Oswaldo Cruz **91**(5): 601-7.

Brodskyn, C., J. Patricio, et al. (2002). "Glycoinositolphospholipids from Trypanosoma cruzi interfere with macrophages and dendritic cell responses." Infect Immun **70**(7): 3736-43.

Campo, V. A., C. A. Buscaglia, et al. (2006). "Immunocharacterization of the mucin-type proteins from the intracellular stage of Trypanosoma cruzi." Microbes Infect **8**(2): 401-9.

Cardillo, F., J. C. Voltarelli, et al. (1996). "Regulation of Trypanosoma cruzi infection in mice by gamma interferon and interleukin 10: role of NK cells." Infect Immun **64**(1): 128-34.

Castes, M., A. Panagiotopoulos, et al. (1986). "Demonstration of an indomethacin-sensitive mechanism regulating immune reactivity in Chagas' disease patients." Immunopharmacology **12**(3): 203-12.

Cordeiro, F. D., O. A. Martins-Filho, et al. (2001). "Anti-Trypanosoma cruzi immunoglobulin G1 can be a useful tool for diagnosis and prognosis of human Chagas' disease." Clin Diagn Lab Immunol **8**(1): 112-8.

Corti, M. and C. Yampolsky (2006). "Prolonged survival and immune reconstitution after chagasic meningoencephalitis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome." Rev Soc Bras Med Trop **39**(1): 85-8.

Cossio, P. M., C. Diez, et al. (1974). "Chagasic cardiopathy. Demonstration of a serum gamma globulin factor which reacts with endocardium and vascular structures." Circulation **49**(1): 13-21.

Cunha-Neto, E., V. Coelho, et al. (1996). "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 **98**(8): 1709-12.

Cunha-Neto, E., M. Duranti, et al. (1995). "Autoimmunity in Chagas disease cardiopathy: biological relevance of a cardiac myosin-specific epitope crossreactive to an immunodominant Trypanosoma cruzi antigen." Proc Natl Acad Sci U S A **92**(8): 3541-5.

de Barros-Mazon, S., M. E. Guariento, et al. (2004). "Differential regulation of lymphoproliferative responses to Trypanosoma cruzi antigen in patients with the cardiac or indeterminate form of Chagas disease." Clin Immunol **111**(1): 137-45.

Duthie, M. S., M. Kahn, et al. (2005). "Critical proinflammatory and anti-inflammatory functions of different subsets of CD1d-restricted natural killer T cells during Trypanosoma cruzi infection." Infect Immun **73**(1): 181-92.

Elies, R., I. Ferrari, et al. (1996). "Structural and functional analysis of the B cell epitopes recognized by anti-receptor autoantibodies in patients with Chagas' disease." J Immunol **157**(9): 4203-11.

Gea, S., P. Ordonez, et al. (1993). "Chagas' disease cardioneuropathy: association of anti-Trypanosoma cruzi and anti-sciatic nerve antibodies." Am J Trop Med Hyg **49**(5): 581-8.

Giordanengo, L., N. Guinazu, et al. (2002). "Cruzipain, a major Trypanosoma cruzi antigen, conditions the host immune response in favor of parasite." Eur J Immunol **32**(4): 1003-11.

Girardi, M. (2006). "Immunosurveillance and immunoregulation by gammadelta T cells." J Invest Dermatol **126**(1): 25-31.

Girones, N. and M. Fresno (2003). "Etiology of Chagas disease myocarditis: autoimmunity, parasite persistence, or both?" Trends Parasitol **19**(1): 19-22.

Gomes, J. A., L. M. Bahia-Oliveira, et al. (2005). "Type 1 chemokine receptor expression in Chagas' disease correlates with morbidity in cardiac patients." Infect Immun **73**(12): 7960-6.

Gomes, J. A., L. M. Bahia-Oliveira, et al. (2003). "Evidence that development of severe cardiomyopathy in human Chagas' disease is due to a Th1-specific immune response." Infect Immun **71**(3): 1185-93.

Higuchi, M. D., M. M. Ries, et al. (1997). "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 **56**(5): 485-9.

Higuchi Mde, L., L. A. Benvenuti, et al. (2003). "Pathophysiology of the heart in Chagas' disease: current status and new developments." Cardiovasc Res **60**(1): 96-107.

Hunter, C. A., L. A. Ellis-Neyes, et al. (1997). "IL-10 is required to prevent immune hyperactivity during infection with Trypanosoma cruzi." J Immunol **158**(7): 3311-6.

- Jardim, E. and O. M. Takayanagui (1994). "Chagasic meningoencephalitis with detection of *Trypanosoma cruzi* in the cerebrospinal fluid of an immunodepressed patient." J Trop Med Hyg **97**(6): 367-70.
- Kierszenbaum, F. (1999). "Chagas' disease and the autoimmunity hypothesis." Clin Microbiol Rev **12**(2): 210-23.
- Kierszenbaum, F. (2003). "Views on the autoimmunity hypothesis for Chagas disease pathogenesis." FEMS Immunol Med Microbiol **37**(1): 1-11.
- Kierszenbaum, F. (2005). "Where do we stand on the autoimmunity hypothesis of Chagas disease?" Trends Parasitol **21**(11): 513-6.
- Kierszenbaum, F., W. R. Cuna, et al. (1990). "Trypanosomal immunosuppressive factor: a secretion product(s) of *Trypanosoma cruzi* that inhibits proliferation and IL-2 receptor expression by activated human peripheral blood mononuclear cells." J Immunol **144**(10): 4000-4.
- Kierszenbaum, F., M. Fresno, et al. (2002). "The *Trypanosoma cruzi* membrane glycoprotein AGC10 inhibits human lymphocyte activation by a mechanism preceding translation of both, interleukin-2 and its high-affinity receptor subunits." Mol Biochem Parasitol **125**(1-2): 91-101.
- Kotner, J. and R. Tarleton (2007). "Endogenous CD4(+) CD25(+) regulatory T cells have a limited role in the control of *Trypanosoma cruzi* infection in mice." Infect Immun **75**(2): 861-9.
- Krettli, A. U. and Z. Brener (1982). "Resistance against *Trypanosoma cruzi* associated to anti-living trypomastigote antibodies." J Immunol **128**(5): 2009-12.
- Laucella, S. A., M. Postan, et al. (2004). "Frequency of interferon- gamma -producing T cells specific for *Trypanosoma cruzi* inversely correlates with disease severity in chronic human Chagas disease." J Infect Dis **189**(5): 909-18.
- Layrisse, Z., M. T. Fernandez, et al. (2000). "HLA-C(*)03 is a risk factor for cardiomyopathy in Chagas disease." Hum Immunol **61**(9): 925-9.
- Maekelt, G. A. (1973). "Evaluación estadística de los resultados de encuestas epidemiológicas realizadas en Venezuela respecto a la etiología chagásica de las miocardiopatías crónicas rurales." Arch. Venez. Med. Trop. Parasitol **5**: 107-115.
- Manoel-Caetano Fda, S. and A. E. Silva (2007). "Implications of genetic variability of *Trypanosoma cruzi* for the pathogenesis of Chagas disease." Cad Saude Publica **23**(10): 2263-74.
- Martin, D. L. and R. L. Tarleton (2005). "Antigen-specific T cells maintain an effector memory phenotype during persistent *Trypanosoma cruzi* infection." J Immunol **174**(3): 1594-601.
- McCormick, T. S. and E. C. Rowland (1989). "*Trypanosoma cruzi*: cross-reactive anti-heart autoantibodies produced during infection in mice." Exp Parasitol **69**(4): 393-401.
- Messias-Reason, I. J., L. Urbanetz, et al. (2003). "Complement C3 F and BF S allotypes are risk factors for Chagas disease cardiomyopathy." Tissue Antigens **62**(4): 308-12.
- Minoprio, P. M., H. Eisen, et al. (1986). "Polyclonal lymphocyte responses to murine *Trypanosoma cruzi* infection. I. Quantitation of both T- and B-cell responses." Scand J Immunol **24**(6): 661-8.
- Monteiro, A. C., V. Schmitz, et al. (2006). "Cooperative activation of TLR2 and bradykinin B2 receptor is required for induction of type 1 immunity in a mouse model of subcutaneous infection by *Trypanosoma cruzi*." J Immunol **177**(9): 6325-35.

- Mosca, W. (1986). "Autoimmunity should not limit the search for a Chagas disease vaccine." Parasitol Today **2**(4): 122; author reply 122-3.
- Mosca, W. and L. Briceno (2000). "ETIOPATOGENIA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS. UNA NUEVA PERSPECTIVA." Arch. Hosp. Vargas **42**(1): 11-17.
- Mosca, W., L. Briceno, et al. (1991). "Cell mediated immunity in Chagas' disease. Trypanosoma cruzi antigens induce suppression of the in vitro proliferative response of mononuclear cells." Mem Inst Oswaldo Cruz **86**(2): 147-52.
- Mosca, W., M. Castes, et al. (1986). "Evaluation of the interaction of leucocytes from Chagas disease patients with trypomastigotes of Trypanosoma cruzi." Trans R Soc Trop Med Hyg **80**(6): 975-7.
- Mosca, W. and R. Cedillos (1988). "Autoantibodies and immunocomplexes in Chagas' disease." Acta Cient Venez **39**(4): 363-7.
- Mosca, W., N. Navarro, et al. (2006). "Proliferation and bystander suppression induced by antigens of Trypanosoma cruzi. Evaluation with a modification of the T cell blot technique." Invest Clin **47**(3): 265-82.
- Mosca, W. and J. Plaja (1981). "Delayed hypersensitivity to heart antigens in Chagas' disease as measured by in vitro lymphocyte stimulation." J Clin Microbiol **14**(1): 1-5.
- Mosca, W., J. Plaja, et al. (1979). "Immune response in human Chagas' disease I. lymphocyte blastogenesis in chagasic patients without evidence of cardiomyopathy." Acta Cient Venez **30**(4): 401-4.
- Mosca, W., J. Plaja, et al. (1985). "Longitudinal study of immune response in human Chagas' disease." J Clin Microbiol **22**(3): 438-41.
- Palacios-Pru, E., H. Carrasco, et al. (1989). "Ultrastructural characteristics of different stages of human chagasic myocarditis." Am J Trop Med Hyg **41**(1): 29-40.
- Planelles, L., M. C. Thomas, et al. (2003). "Differential CD86 and CD40 co-stimulatory molecules and cytokine expression pattern induced by Trypanosoma cruzi in APCs from resistant or susceptible mice." Clin Exp Immunol **131**(1): 41-7.
- Quanquin, N. M., C. Galaviz, et al. (1999). "Immunization of mice with a TolA-like surface protein of Trypanosoma cruzi generates CD4(+) T-cell-dependent parasitocidal activity." Infect Immun **67**(9): 4603-12.
- Reis, D. D., E. M. Jones, et al. (1993). "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 **48**(5): 637-44.
- Rocha, A., A. C. de Meneses, et al. (1994). "Pathology of patients with Chagas' disease and acquired immunodeficiency syndrome." Am J Trop Med Hyg **50**(3): 261-8.
- Ropert, C. and R. T. Gazzinelli (2004). "Regulatory role of Toll-like receptor 2 during infection with Trypanosoma cruzi." J Endotoxin Res **10**(6): 425-30.
- Silva, J. S., J. C. Aliberti, et al. (1998). "The role of IL-12 in experimental Trypanosoma cruzi infection." Braz J Med Biol Res **31**(1): 111-5.

Silva, J. S., F. S. Machado, et al. (2003). "The role of nitric oxide in the pathogenesis of Chagas disease." Front Biosci **8**: s314-25.

Silva, J. S., P. J. Morrissey, et al. (1992). "Interleukin 10 and interferon gamma regulation of experimental *Trypanosoma cruzi* infection." J Exp Med **175**(1): 169-74.

Silva, J. S., G. N. Vespa, et al. (1995). "Tumor necrosis factor alpha mediates resistance to *Trypanosoma cruzi* infection in mice by inducing nitric oxide production in infected gamma interferon-activated macrophages." Infect Immun **63**(12): 4862-7.

Soares, M. B., L. Pontes-De-Carvalho, et al. (2001). "The pathogenesis of Chagas' disease: when autoimmune and parasite-specific immune responses meet." An Acad Bras Cienc **73**(4): 547-59.

Souza, P. E., M. O. Rocha, et al. (2007). "Trypanosoma cruzi infection induces differential modulation of costimulatory molecules and cytokines by monocytes and T cells from patients with indeterminate and cardiac Chagas' disease." Infect Immun **75**(4): 1886-94.

Souza, P. E., M. O. Rocha, et al. (2004). "Monocytes from patients with indeterminate and cardiac forms of Chagas' disease display distinct phenotypic and functional characteristics associated with morbidity." Infect Immun **72**(9): 5283-91.

Talvani, A., M. O. Rocha, et al. (2006). "Levels of anti-M2 and anti-beta1 autoantibodies do not correlate with the degree of heart dysfunction in Chagas' heart disease." Microbes Infect **8**(9-10): 2459-64.

Tarleton, R. L. (1988). "Trypanosoma cruzi-induced suppression of IL-2 production. II. Evidence for a role for suppressor cells." J Immunol **140**(8): 2769-73.

Tarleton, R. L. (2007). "Immune system recognition of *Trypanosoma cruzi*." Curr Opin Immunol **19**(4): 430-4.

Tarleton, R. L., P. P. de Andrade, et al. (1988). "Interleukin 2 production in patients with Chagas' disease: correlation with anti-parasite antibody responses." Immunol Lett **17**(3): 229-34.

Tarleton, R. L., M. J. Grusby, et al. (1996). "Trypanosoma cruzi infection in MHC-deficient mice: further evidence for the role of both class I- and class II-restricted T cells in immune resistance and disease." Int Immunol **8**(1): 13-22.

Tarleton, R. L., M. J. Grusby, et al. (2000). "Increased susceptibility of Stat4-deficient and enhanced resistance in Stat6-deficient mice to infection with *Trypanosoma cruzi*." J Immunol **165**(3): 1520-5.

Tarleton, R. L., R. Schafer, et al. (1983). "Effects of extracts of *Trypanosoma cruzi* on immune responses: induction of a nonspecific suppressor factor." Infect Immun **41**(3): 978-86.

Tarleton, R. L., J. Sun, et al. (1994). "Depletion of T-cell subpopulations results in exacerbation of myocarditis and parasitism in experimental Chagas' disease." Infect Immun **62**(5): 1820-9.

Toda, A. and C. A. Piccirillo (2006). "Development and function of naturally occurring CD4+CD25+ regulatory T cells." J Leukoc Biol **80**(3): 458-70.

Torrice, F., H. Heremans, et al. (1991). "Endogenous IFN-gamma is required for resistance to acute *Trypanosoma cruzi* infection in mice." J Immunol **146**(10): 3626-32.

Vago, A. R., L. O. Andrade, et al. (2000). "Genetic characterization of *Trypanosoma cruzi* directly from tissues of patients with chronic Chagas disease: differential distribution of genetic types into diverse organs." Am J Pathol **156**(5): 1805-9.

van Oosterhout, A. J. and N. Bloksma (2005). "Regulatory T-lymphocytes in asthma." Eur Respir J **26**(5): 918-32.

Van Overtvelt, L., N. Vanderheyde, et al. (1999). "Trypanosoma cruzi infects human dendritic cells and prevents their maturation: inhibition of cytokines, HLA-DR, and costimulatory molecules." Infect Immun **67**(8): 4033-40.

Van Voorhis, W. C. and H. Eisen (1989). "FI-160. A surface antigen of Trypanosoma cruzi that mimics mammalian nervous tissue." J Exp Med **169**(3): 641-52.

Vitelli-Avelar, D. M., R. Sathler-Avelar, et al. (2005). "Chagasic patients with indeterminate clinical form of the disease have high frequencies of circulating CD3+CD16-CD56+ natural killer T cells and CD4+CD25High regulatory T lymphocytes." Scand J Immunol **62**(3): 297-308.

Vitelli-Avelar, D. M., R. Sathler-Avelar, et al. (2006). "Are increased frequency of macrophage-like and natural killer (NK) cells, together with high levels of NKT and CD4+CD25high T cells balancing activated CD8+ T cells, the key to control Chagas' disease morbidity?" Clin Exp Immunol **145**(1): 81-92.

Weaver, C. T., L. E. Harrington, et al. (2006). "Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties." Immunity **24**(6): 677-88.

Witebsky, E., N. R. Rose, et al. (1957). "Chronic thyroiditis and autoimmunization." J Am Med Assoc **164**(13): 1439-47.