

Envolvimento de Auto-Anticorpos na Fisiopatologia da Doença de Chagas

Role of Autoantibodies in the Physiopathology of Chagas' Disease

Emiliano Horacio Medei¹, José Hamilton Matheus Nascimento¹, Roberto Coury Pedrosa², Antônio Carlos Campos de Carvalho¹

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho¹, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho da Universidade Federal do Rio de Janeiro², Rio de Janeiro, RJ Brasil

Resumo

A doença de Chagas é um sério problema de saúde na América Latina. Entre 25% e 30% dos pacientes infectados evoluem para a forma crônica (CCC), observando-se danos miocárdicos progressivos e, freqüentemente, morte súbita.

Anticorpos com atividade para receptores de membrana acoplados a proteína G, adrenérgicos ou colinérgicos podem estar presentes no soro desses pacientes. No presente artigo serão discutidas a etiologia e a contribuição dos anticorpos na fisiopatologia da doença de Chagas.

Introdução

A doença de Chagas, cerca de cem anos após ser descrita, constitui ainda um sério problema de saúde na América Latina, causando cerca de 50 mil mortes por ano e com aproximadamente 18 milhões de pessoas infectadas¹.

Apesar de a incidência da doença de Chagas ter diminuído em razão das campanhas de saúde pública para erradicação do vetor e do melhor controle de qualidade das transfusões de sangue e derivados², hoje, a questão prioritária está voltada para o contingente de pessoas já infectadas pelo *T. cruzi*, considerando-se que uma parcela irá desenvolver a cardiopatia chagásica crônica, forma clínica mais freqüente e de maior determinante de gravidade.

Existem cerca de dois milhões de pacientes chagásicos na fase crônica no Brasil. Essa fase constitui-se numa forma clínica tardia da infecção pelo *T. cruzi*, causando dano intestinal e/ou miocárdico progressivo. Aproximadamente 30% dos pacientes com sorologia positiva desenvolvem alguma forma de expressão da doença crônica cardíaca. A cardiopatia chagásica crônica tem como substrato morfológico fundamental uma inflamação progressiva e fibrosante do miocárdio. Estudos histológicos mostram alterações inflamatórias e degenerativas

Palavras-chave

Anticorpos, doença de Chagas/fisiopatologia.

Correspondência: Emiliano H. Medei •

Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Bloco G-CCS, Cidade Universitária, Ilha do Fundão – 21949-900 Rio de Janeiro, RJ - Brasil
E-mail: emedei70@hotmail.com

Artigo enviado em 29/10/2007; revisado enviado em 14/01/2008, aceito em 31/01/2008;

em diferentes estágios evolutivos. A reação inflamatória é do tipo linfomonoplasmocitária. As miofibrilas demonstram graus variáveis de degeneração, podendo chegar a atrofia e necrose em algumas áreas e apresentar-se hipertrofiadas em outras. Concomitantemente, são encontradas áreas focais de fibrose, em razão do processo de reparo, tanto mais numerosas e extensas quanto mais antiga a infecção³. Ainda hoje, a patogênese desse substrato anatômico encontra-se sob constante debate e ainda permanecem obscuras as causas que levam à evolução diferencial para uma das formas clínicas.

Boa parte dos trabalhos mecanicistas referentes à patogenia na doença de Chagas, reportados no início dos anos 1990, aponta a participação de dois mecanismos principais na gênese desse processo inflamatório intenso:

- 1) agressão auto-imune, vinculada especialmente à mimetismo antigênico do *T. cruzi*; e,
- 2) parasitismo de baixa intensidade persistente nas fibras cardíacas⁴⁻⁷.

Tem sido, entretanto, difícil provar que a auto-imunidade vinculada ao mimetismo antigênico seja a causa definitiva da doença de Chagas. Mas é quase impossível descartar que a auto-imunidade não esteja envolvida no processo dessa doença. Controvérsias foram geradas na literatura, na forma de editoriais⁸⁻¹² reportando evidências inconclusivas para a teoria auto-imune vinculada ao mimetismo antigênico do *T. cruzi* na patogênese da doença de Chagas. Esses autores apontam que a maior parte dos trabalhos defensores da teoria de auto-imunidade se limita a documentar fenômenos de mimetismo antigênico entre o *T. cruzi* e tecidos do hospedeiro, sem correlação clínico-biológica com a cardiopatia chagásica crônica. Da mesma forma, questiona-se a função do parasita nas lesões cardíacas⁵⁻⁶.

Estudos recentes mostram que o *T. cruzi*-DNA não é exclusivo da forma cardíaca crônica, podendo ser detectado também nas formas assintomáticas¹³. A baixa carga do parasita encontrada em vários outros órgãos¹⁴ e a presença desses nem sempre correlacionam-se com o grau de miocardite¹⁵. Nesse modelo, a doença é reflexo da replicação de parasitas; entretanto, se ela ocorre em vários órgãos e é exclusivamente responsável pela patogenia, então por que lesões inflamatórias com grau de destruição funcional maior ocorrem somente no coração? Esses dados podem sugerir que a mera presença do *T. cruzi* no tecido pode não ser estímulo suficiente para uma miocardite difusa com perda funcional significativa.

Outro mecanismo, relacionado ao acometimento do sistema nervoso autônomo na doença de Chagas, foi referido

por Köberle que, na década de 1950, observou lesões em gânglios e fibras nervosas autônomas cardíacas¹⁶. No entanto, é oportuno considerar que, em todas as investigações referentes ao comprometimento do sistema nervoso autônomo na doença de Chagas, a avaliação autonômica limitou-se ao controle da frequência cardíaca como marcador de influência parassimpática, e eventuais distúrbios autonômicos simpáticos podem ocorrer sem possibilidade de detecção por esses métodos¹⁷. Da mesma forma, a hiperatividade simpática relativa, postulada por Köberle, não foi comprovada. Ao contrário, vários estudos subsequentes demonstraram que pode ocorrer destruição neuronal em gânglios simpáticos, embora essa seja geralmente menos pronunciada do que a denervação parassimpática¹⁸⁻¹⁹.

Pacientes com insuficiência cardíaca secundária à doença de Chagas podem, contudo, apresentar níveis de norepinefrina reduzidos, em contraste com aqueles com insuficiência cardíaca de outras etiologias, como mostrado em trabalhos prévios de nosso grupo²⁰. Esses dados corroboram o trabalho já publicado por Simões e cols.²¹, que mostraram uma denervação simpática a nível ventricular. Não obstante, um outro trabalho mostrou um incremento nos níveis séricos de norepinefrina²².

Outros grupos de pesquisadores trouxeram novas e distintas contribuições ao conhecimento da patologia da doença de Chagas, indicando a complexidade do envolvimento do sistema nervoso autônomo nesta doença. Assim, Machado e cols.²³⁻²⁴ demonstraram, em estudos bioquímicos e histoquímicos realizados em ratos inoculados com *Tripanosoma cruzi*, que a inervação simpática cardíaca praticamente desaparece durante a fase aguda, em consequência da destruição das fibras nervosas, em paralelo com a miocardite intensa. Essa destruição não é acompanhada de morte neural ou alterações inflamatórias significativas no gânglio cervical superior, sugerindo que a lesão das terminações nervosas simpáticas seja um fenômeno local²⁵. Após a fase aguda, ocorre recuperação gradual e completa da inervação simpática cardíaca. A inervação parassimpática apresenta comportamento análogo: intensa destruição de fibras nervosas e diminuição de níveis de acetilcolina cardíaca na fase aguda, seguido de reinervação e retorno a níveis normais de acetilcolina na fase crônica²⁶⁻²⁷. Porém, Figuerêdo Silva e cols.²⁸ mostraram, no modelo experimental de rato chagásico crônico, níveis reduzidos de acetilcolina, quando estimulada a liberação dessa por KCL. Na forma indeterminada também pode ser observada disautonomia nos pacientes chagásicos²⁹.

Segundo alguns autores³⁰⁻³¹, ainda que não constitua mecanismo lesivo primário e independente, a intensa redução da população neuronal cardíaca nos vários estágios evolutivos^{18,32-35} da doença sugere especificidade desse processo na infecção pelo *T. cruzi* e pode contribuir como mecanismo secundário e amplificador da lesão produzida pelo processo inflamatório²¹.

Embora o mecanismo da disfunção autonômica, na fase crônica da doença de Chagas, não tenha sido esclarecido, relatos recentes sobre a existência de anticorpos circulantes, com capacidade de ligação a receptores tanto colinérgicos (Ac-M) como adrenérgicos (Ac- β)³⁶⁻⁴⁰, poderiam conciliar as alterações neurogênicas e a agressão imunológica

como fatores fisiopatológicos interativos e relevantes¹⁷. Assim, Ribeiro e cols.⁴¹ mostraram que a presença de Ac-M e alterações na modulação vagal acontecem independentemente da disfunção ventricular.

Mas porque e quando estes anticorpos circulantes aparecem na historia natural da doença de Chagas? Ou seja, eles são gerados primariamente contra antígenos de *T. cruzi* ou secundariamente à destruição miocárdica?

A partir do final da década de 1970, foram descritos sistemas de reação cruzada entre proteínas molecularmente definidas de *T. cruzi* e do hospedeiro mamífero. Teixeira e cols.⁴² descreveram que coelhos imunizados com a proteína ribossomal P do *T. cruzi* desenvolviam uma miocardite compatível com uma resposta auto-imune. Evidências, enfatizando a relevância da proteína ribossomal P do *T. cruzi* na resposta imune, foram estabelecidas por trabalhos subsequentes⁴³⁻⁴⁴. Um dos pioneiros nesse sentido foi o grupo de Mariano Levin em 1989⁴⁵, mostrando que soros de portadores de cardiopatia chagásica tinham títulos mais altos que soros de portadores de doença de Chagas na forma indeterminada de anticorpos contra um epítipo da proteína ribossomal P do *T. cruzi* (P0, P1 e P2) muito semelhante à proteína ribossomal humana correspondente⁴⁵. A identificação precisa dos componentes do *T. cruzi* semelhantes àqueles específicos do tecido cardíaco, apresentando mimetismo molecular, tornava-se fundamental para o estudo da patogênese auto-imune da cardiopatia chagásica crônica.

Ao mesmo tempo, a década de 1980 e início dos anos 1990 foram marcados por um considerável progresso na delimitação da estrutura de receptores beta-adrenérgicos. Peptídeos sintéticos correspondentes às seqüências primárias de receptores beta-1 e beta-2-adrenérgicos foram usados como antígenos para rastrear anticorpos receptores-específicos em pacientes europeus com cardiomiopatia dilatada idiopática⁴⁶⁻⁴⁸. Diferentes modelos experimentais foram usados para caracterizar esses auto-anticorpos que estavam presentes em aproximadamente 30% dos pacientes com cardiomiopatia dilatada idiopática⁴⁹. Nessa época, evidências na literatura indicavam que IgG de camundongo infectado por *T. cruzi* é também capaz de interagir com receptores muscarínicos colinérgicos de miocárdio⁵⁰. Seguindo os mesmos passos referentes aos trabalhos com receptores beta-adrenérgicos, foram também descritos auto-anticorpos com reatividade contra receptores muscarínicos colinérgicos de miocárdio no soro total de pacientes chagásicos crônico⁵¹⁻⁵⁴.

A presença de auto-anticorpos funcionalmente ativos com reatividade contra receptores muscarínicos colinérgicos em pacientes chagásicos com graus diferentes de comprometimento cardíaco (pacientes assintomáticos com ECG/ECO normais, pacientes assintomáticos com o ECG normal e com alterações do ecocardiograma, pacientes sintomáticos com alterações do ECG/ECO, mas sem alterações funcionais importantes e finalmente, pacientes sintomáticos, graves, com alterações de condução e de mecânica cardíaca) foi relatada pela primeira vez pelo grupo do Rio de Janeiro⁵⁵⁻⁵⁷. Esse grupo mostrou que a presença dos anticorpos funcionais independe do grau de comprometimento cardíaco.

Evidências da participação dos anticorpos na fisiopatologia da cardiopatia chagásica crônica

Indução da disfunção ventricular mediada por anticorpos

Evidências baseadas em experimentos animais mostram que os anticorpos interagem com os constituintes celulares fazendo com que eles tenham, potencialmente, influência no metabolismo e na contratilidade cardíaca. Sabe-se que a interrupção da via beta-adrenérgica pode afetar a força de contração e o relaxamento miocárdico. Dessa forma, Leite⁵⁸ mostrou que soros de pacientes chagásicos crônicos reduzem de modo dose-dependente a amplitude da contração do miocárdio atrial de coelho. Reduzem também a contratilidade e os parâmetros temporais da contração. Os soros de pacientes sem disfunção miocárdica não alteraram de modo significativo quaisquer dos parâmetros medidos.

Nessa mesma linha, Savio-Galimberti e cols.⁵⁹ observaram que os anticorpos com efeito adrenérgico comprometiam a *performance* do músculo cardíaco na preparação de coração isolado. Um outro trabalho, também do mesmo grupo, mostrou que os anticorpos, dessa vez com efeito muscarínico, diminuía a corrente de cálcio tipo L pela ativação, não-competitiva, do receptor muscarínico subtipo 2⁶⁰. O comprometimento dessa corrente pelos anticorpos com efeito adrenérgico ou muscarínico poderia contribuir pelo menos em parte na disfunção miocárdica presente na fase crônica dos pacientes chagásicos.

Um outro trabalho a mostrar o comprometimento cardíaco como consequência do processo auto-imune gerado por anticorpos com efeito adrenérgico ou colinérgico foi o de Gimenez e cols.⁶¹, que imunizaram camundongos com um plasmídeo codificando para o receptor M2 e beta-1-adrenérgico. Nesse trabalho os autores acharam não só anticorpos contra a segunda alça dos receptores M2 e beta-1, mas também contra a terceira alça intracelular do receptor M2. Com ensaios de *binding* foi possível observar um incremento na expressão dos receptores M2 de quase o dobro do controle, e uma diminuição nos beta-1, e sinais de desregulação autonômica nos animais imunizados. Desarranjo miofibrilar e fibrose foram outros achados importantes nesses animais, como consequência da exposição prolongada aos anticorpos.

Um elegante trabalho realizado por Jahns e cols.⁶² mostrou que as IgGs com efeito beta-adrenérgico possuem uma participação direta na disfunção ventricular. Esses autores propõem que o dano ocasionado pelos anticorpos resulta de um mecanismo auto-imune, posto que anticorpos de ratos imunizados com peptídeos correspondentes à segunda alça extracelular do receptor beta-1-adrenérgico, transferidos a ratos saudáveis, foram capazes de induzir as mesmas alterações cardíacas observadas nos ratos previamente imunizados.

Papel eletrofisiológico dos anticorpos

Uns dos primeiros trabalhos a propor que um componente humoral poderia estar envolvido na gênese das arritmias na cardiomiopatia chagásica foi publicado por De Carvalho e cols.⁵¹. Nessa oportunidade descreveram que soros provenientes de coelhos infectados com *T. cruzi* geraram

distúrbios eletrocardiográficos no coração isolado de coelho. Três anos após, esse mesmo grupo confirmou essa hipótese mostrando agora que anticorpos provenientes de pacientes chagásicos crônicos que possuíam arritmias complexas diminuíram a frequência cardíaca e provocaram bloqueio atrioventricular no coração isolado de coelho⁵⁶. Continuando nessa linha de pensamento, Costa e cols.⁵⁵ caracterizaram 58 soros de pacientes com CCC e descreveram que alguns deles, com efeito beta-adrenérgico, bloquearam a condução mediante junções comunicantes em cultura de cardiomiócitos de ratos neonatos, sugerindo mais um mecanismo pelo qual esses anticorpos podem contribuir para a ocorrência de arritmias. Outro trabalho que sustenta o papel arritmogênico dos anticorpos foi publicado por Fukuda e cols.⁶³, no qual foram imunizados coelhos com o peptídeo da segunda alça extracelular do receptor beta-adrenérgico, mostrando pós-potenciais precoces e uma diminuição na densidade das correntes de potássio das células M desses animais.

Já o grupo de Maurício Rosenbaum, entre 1994 e 1995⁶⁴⁻⁶⁵, mostrou a presença dos anticorpos em pacientes com CCC e o possível envolvimento desses nas arritmias desses pacientes. Esse grupo mostrou uma correlação entre o tipo de distúrbio de condução e a característica das IgGs presentes no soro dos pacientes chagásicos. Interessantemente, as IgGs dos pacientes que possuíam arritmias ventriculares incrementaram a frequência de batimentos e a produção de AMPc (75%), enquanto as IgGs dos pacientes portadores de disfunção do nodo sinusal diminuíram a frequência de batimentos e incrementaram a síntese de fosfatidilinositol (76,9%), em cultura de cardiomiócitos de rato⁶⁵.

Até 2007, todos os trabalhos relacionaram o papel dos anticorpos com distúrbios de condução, focalizando especialmente a disfunção da condução atrioventricular, sem considerar que o comprometimento da repolarização ventricular poderia ser mediado por esses anticorpos e estar relacionado à indução de morte súbita, que é uma das principais causas de morte nos pacientes com CCC⁶⁶. Assim, Medei e cols.⁶⁷ mostraram pela primeira vez que pacientes com CCC que possuíam anticorpos com atividade muscarínica apresentavam maior dispersão do intervalo QT quando comparados com pacientes chagásicos crônicos que não possuíam esse tipo de anticorpo em seu soro. Interessantemente, esses anticorpos, com efeito muscarínico, quando perfundidos no coração isolado de coelho sob frequência cardíaca controlada, incrementaram o intervalo QT.

Conclusões

Os trabalhos aqui descritos evidenciam o envolvimento de anticorpos na fisiopatologia da cardiomiopatia chagásica crônica, seja de forma direta, seja indireta. Com esses conhecimentos novas propostas terapêuticas poderiam ser pensadas.

Atualmente, o tratamento do paciente chagásico na fase crônica com cardiomiopatia está sendo realizado de forma similar aos pacientes cardiopatas de outras etiologias, sendo aliás validada a utilização de betabloqueadores nestes pacientes⁶⁸.

Nos pacientes refratários, qual seria a opção terapêutica apropriada?

Opções terapêuticas, já utilizadas em outras doenças, poderiam ser consideradas na terapia da cardiomiopatia crônica refratária aos tratamentos convencionais.

Uma possível opção alternativa para prevenir ou talvez reparar os efeitos deletérios dos anticorpos nesses pacientes seria a "Imunoabsorção de imunoglobulinas". Essa técnica consiste na retirada das IgG através de plasmaferese, passando o sangue por uma coluna de imunoafinidade que adere os anticorpos desejados. Esse procedimento descrito por Berta e cols.⁶⁹ já foi utilizado em pacientes com miastenia gravis⁶⁹. Mais tarde, essa técnica foi utilizada em pacientes com cardiomiopatia dilatada, removendo anticorpos com atividade beta-adrenérgica, obtendo-se um resultado satisfatório na sobrevida e nos parâmetros hemodinâmicos dos pacientes⁷⁰⁻⁷¹. Recentemente, alguns trabalhos têm mostrado os benefícios dessa técnica em modelos animais e a possibilidade de ser

realizada em pacientes com doença de Chagas⁷²⁻⁷³.

Uma outra opção terapêutica poderia ser a utilização, de forma reparadora, das células-tronco. Essa nova estratégia está sendo intensamente investigada tanto em modelos animais^{74,75} como em ensaios clínicos⁷⁶⁻⁷⁸.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi parcialmente financiado pelo CNPq, FAPERJ e CAPES.

Vinculação Acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

Referências

- Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas' disease. *Lancet Infect Dis.* 2001; 1: 92-100.
- Chagas' disease-interruption of transmission. *Wkly Epidemiol. Rec.* 1998; 73: 1-4.
- Rossi MA. The pattern of myocardial fibrosis in chronic Chagas' heart disease. *Int J Cardiol.* 1991; (3): 335-40.
- Avila HA, Sigman DS, Cohen LM, Millikan RC, Simpson L. Polymerase chain reaction amplification of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast minicircle DNA isolated from whole blood lysates: diagnosis of chronic Chagas' disease. *Mol Biochem Parasitol.* 1991; 48 (2): 211-21.
- Jones EM, Colley DG, Tostes S, Lopes ER, Vnencak-Jones CL, Mccurley T. Amplification of a *Trypanosoma cruzi* DNA sequence from inflammatory lesions in human chagas'ic cardiomyopathy. *Am J Trop Med Hyg.* 1993; 48: 348-57.
- Higuchi ML, Brito T, Reis MM, Barbosa A. Correlation between *Trypanosoma cruzi* parasitism and myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagas'ic myocarditis: light microscopy and immunohistochemical findings. *Cardiovasc Pathol.* 1993; 2: 101-6.
- Cunha-Neto E, Duranti M, Gruber A, Zingales B, de Messias I, Stolf N. Autoimmunity in Chagas' disease cardiopathy: biological relevance of a cardiac myosin-specific crossreactive to an immunodominant T cruzi antigen. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92: 3541-5.
- Rossi MA, Bestetti RB. The challenge of chagas'ic cardiomyopathy. the pathologic roles of autonomic abnormalities, autoimmune mechanisms and microvascular changes, and therapeutic implications. *Cardiology.* 1995; 86: 1-7.
- Elizari MV. Chagas'ic myocardopathy: historical perspective. *Medicina (B. Aires).* 1999; 59 (Suppl 2): 25-40.
- Benoist C, Mathis D. Autoimmunity provoked by infection: how good is case for T cell epitope mimicry? *Nat Immunol.* 2001; 2 (9): 797-801.
- Limas CJ. Cardiac autoantibodies in dilated cardiomyopathy: a pathogenetic role? *Circulation.* 1999; 95: 1979-80.
- Tarleton RL, Zhang L. Chagas' disease etiology: autoimmunity or parasite persistence? *Parasitol Today.* 1999; 15: 94-9.
- Anez N, Carrasco H, Parada H, Crisante G, Rojas A, Fuenmayor C, et al. Myocardial parasite persistence in chronic chagas'ic patients. *Am J Trop Med Hyg.* 1999; 60: 726-32.
- Barbosa Jr JA, Andrade Z. Identificação do *trypanosoma cruzi* nos tecidos extracardíacos de portadores de miocardite crônica chagásica. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1984; 17: 123-6.
- Palomino SA, Aiello VD, Higuchi ML. Systematic mapping of hearts from chronic chagas'ic patients: the association between the occurrence of histopathological lesions and *Tripanosoma cruzi* antigens. *Ann Trop Med Parasitol.* 2000; 94: 571-9.
- Köberle F. Über das neurotoxin des *trypanosoma cruzi*. *Zbl Path.* 1956; 95: 467-75.
- Rassi Jr A, Marin-Neto JA. Cardiopatia chagásica crônica. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo.* 2000; 4: vi-xxxii.
- Alcântara F. Denervação dos gânglios cardíacos intramurais e cervicotorácicos na moléstia de Chagas'. *Rev Goiana Med.* 1970; 16: 159- 77.
- Tafuri WL. Comportamento do sistema nervoso autônomo na cardiopatia chagásica experimental e humana. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1993; 26: 29-30.
- Cunha AB, Cunha DM, Pedrosa RC, Flammini F, Silva AJ, Saad EA, et al. Norepinephrine and heart rate variability: a marker of dysautonomia in chronic Chagas' cardiopathy. *Rev Port Cardiol.* 2003; 22 (1): 29-52.
- Simões MV, Pyntia 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; 35: 226-7.
- Dávila DF, Bellabarba G, Hernandez I, Calmon G, Torres A, Donis JH, et al. Plasma norepinephrine myocardial damage and left ventricular systolic function in Chagas' heart disease. *Int J Cardiol.* 1995; 52: 145-51.
- Machado AB, Machado CR, Gomes CB. Depletion of heart norepinephrine in experimental acute myocarditis caused by T cruzi. *Experientia.* 1975; 31: 1202-3.
- Machado AB, Machado CR, Chiari CA. Recovery from heart norepinephrine depletion in experimental Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg.* 1978; 27: 20-4.
- Camargos ER, Machado CR. Morphometric and histological analysis of the superior cervical ganglion in experimental Chagas' disease in rats. *Am J Trop Med Hyg.* 1988; 39: 456-62.
- Machado AB, Machado CR, Gomes CB. T cruzi: acetylcholine content and cholinergic innervation of the heart in rats. *Exp Parasitol.* 1979; 47: 107-15.
- Machado AB, Machado CR, Gomes CB. Changes of choline acetyltransferase

Artigo de Revisão

- activity of rat tissues during Chagas' disease. *Braz J Med Biol Res.* 1987; 20: 697-702.
28. Figuerêdo-Silva J, Coutinho-Netto J, Bestetti RB, Oliveira JS. [3H]-acetylcholine release from rat atria in chronic chagas'ic cardiopathy. *Braz J Med Biol Res.* 1989; 22 (6): 737-40.
29. Molina RB, Matsubara BB, Hueb JC, Zanati SG, Meira DA, Cassolato JL, et al. Dysautonomia and ventricular dysfunction in the indeterminate form of Chagas' disease. *Int J Cardiol.* 2006; 113 (2): 188-93.
30. Dávila DF, Inglessis G, Dávila CAM. Chagas' heart disease and the autonomic nervous system. *Int J Cardiol.* 1998; 66: 123-7.
31. Rossi MA, Mengel JO. Patogênese da miocardite chagásica crônica: o papel de fatores autoimunes e microvasculares. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1992; 34: 593-9.
32. Köberle F. Enteromegaly and cardiomegaly in Chagas' disease. *Gut.* 1963; 4: 399-405.
33. Köberle F. Chagas' heart disease and Chagas' syndromes: the pathology of American trypanosomiasis. *Adv Parasitol.* 1968; 6: 63-116.
34. Mott KE, Hagstrom JWC. The pathologic lesions of the cardiac autonomic nervous system in chronic Chagas' myocarditis. *Circulation.* 1965; 31: 273-86.
35. Oliveira JS. A natural human model of intrinsic heart nervous system denervation: Chagas' cardiopathy. *Am Heart J.* 1985; 110: 1092-8.
36. Goin JC, Borda E, Leiros CP, Storino R, Sterin-Borda L. Identification of antibodies with muscarinic cholinergic activity in human Chagas' disease: pathological implications. *J Auton Nerv Syst.* 1994; 47: 45-52.
37. Goin JC, Leiros CP, Borda E, Sterin-Borda L. Interaction of human chagas'ic IgG with the second extracellular loop of the human heart muscarinic acetylcholine receptor: functional and pathological implications. *FASEB J.* 1997; 11 (1): 77-83.
38. Borda ES, Sterin-Borda L. Antiadrenergic and muscarinic receptor antibodies in Chagas' cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 1996; 54: 149-56.
39. Borda ES, Cossio P, Vega MV, Arana R, Sterin-Borda L. A circulating IgG in Chagas' disease which binds to β -adrenoreceptors of myocardium and modulates their activity. *Clin Exp Immunol.* 1984; 57: 679-86.
40. Retondaro FC, Costa PCS, Pedrosa RC, Kurtenbach E. Presence of antibodies against the third intracellular loop of the M2 muscarinic receptor in the sera of chronic chagas'ic patients. *FASEB J.* 1999; 13: 2015-20.
41. Ribeiro AL, Gimenez LE, Hernandez CC, de Carvalho AC, Teixeira MM, Guedes VC, et al. Early occurrence of anti-muscarinic autoantibodies and abnormal vagal modulation in Chagas' disease. *Int J Cardiol.* 2007; 117 (1): 59-63.
42. Teixeira ARL, Teixeira ML, Santos-Buch CA. The immunology of experimental Chagas' Disease IV. Production of lesions in rabbits similar to those of chronic Chagas' Disease in man. *Am J Pathol.* 1975; 80: 163-71.
43. Ramos C. T cruzi: immunosuppressed response to different antigens induced in the infected mouse. *Exp Parasitol.* 1978; 45: 190-9.
44. Teixeira ARL. Chagas' Disease: a clinical, parasitological, immunological and pathological study in rabbits. *Am J Trop Med Hyg.* 1983; 32: 258-72.
45. Levin MJ, Mesri E, Benarous R, Levitus G, Schijman A, Levy-Yeyati P, et al. Identification of major T cruzi antigenic determinants in Chronic Chagas' Heart Disease. *Am J Trop Med Hyg.* 1989; 41: 530-8.
46. Limas CJ, Goldenberg IF, Limas C. Autoantibodies against β -adrenoreceptors in human dilated cardiomyopathy. *Circ Res.* 1989; 64: 97-103.
47. Magnusson Y, Marullo S, Hoyer S, Waagstein F. Mapping of a functional autoimmune epitope on the β 1 adrenergic receptor in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest.* 1990; 86: 1658-63.
48. Wallukat G, Wollenberg A. Effects of the gamma globulin fraction of patients with allergic asthma and dilated cardiomyopathy on chronotropic β -adrenoreceptor function in cultured neonatal rat heart myocytes. *Biomed Biochim Acta.* 1987; 46: 634-9.
49. Magnusson Y, Wallukat G, Waagstein F, Hjalmarson A, Hoebcke J. Autoimmunity in idiopathic dilated cardiomyopathy: characterization of antibodies against the β 1-adrenoreceptor with positive chronotropic effect. *Circulation.* 1994; 89: 2760-7.
50. Sterin-Borda L, Gorelik G, Borda ES. Chagas'ic IgG binding with cardiac muscarinic cholinergic receptors modifies cholinergic mediated cellular transmembrane signals. *Clin Immunol Immunopathol.* 1991; 61: 387-97.
51. de Carvalho AC, Masuda MO, Tanowitz HB, Wittner M, Goldenberg RCS, Spray DC. Conduction defects and arrhythmias in Chagas' Disease: Possible role of gap junctions and humoral mechanisms. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1994; 5: 686-69.
52. Elies R, Ferrari I, Walluk G, Lebes D, Chiali P, Elizari M, et al. Structural and functional analysis of the B cell epitopes recognized by anti-receptor autoantibodies in patients with Chagas' Disease. *J Immunol.* 1996; 157: 2203-11.
53. Ferrari I, Levin ML, Wallukat G, Elies R, Libesque D, Chiale P, et al. Molecular mimicry between the immunodominant ribosomal protein PO of *Trypanosoma cruzi* and a functional epitope on the human β 1-adrenergic receptor. *J Exper Med.* 1995; 182: 59-65.
54. Kaplan D, Ferrari I, Lopez-Bergami P, Mahler E, Levitus G, Chiale P, et al. Antibodies to ribosomal P proteins of *Trypanosoma cruzi* in Chagas' disease possess functional autoreactivity with heart tissue and differ from anti-P ribosomal autoantibodies in lupus. *Proc Natl Acad Science (USA).* 1997; 94: 10301-6.
55. Costa PCS, Fortes FSA, Machado AB, Almeida NAC, Olivares EL, Cabral PR, et al. Sera from chronic chagas'ic patients depress cardiac electrogenesis and conduction. *Braz J Med Biol Res.* 2000; 33: 1-9.
56. Farias de Oliveira S, Pedrosa RC, Nascimento JHMS, Campos de Carvalho AC, Masuda MO. Sera from chronic Chagas'ic patients with complex cardiac arrhythmias depress electrogenesis and conduction in isolated rabbit hearts. *Circulation.* 1997; 96: 2031-7.
57. Masuda MO, Levin M, Farias de Oliveira S, Santos Costa PC, Bergami PL, Santos Almeida NA, et al. Functionally active cardiac antibodies in chronic Chagas' disease are specifically blocked by *Trypanosoma cruzi* antigens. *FASEB J.* 1998; 12: 1551-5.
58. Leite CM. Estudo de aspectos cardíacos da doença de Chagas' em modelos experimentais para a fase aguda e a fase crônica. [Tese]. Rio de Janeiro: Instituto de Biofísica Carlos Chagas' Filho; 1999.
59. Savio-Galimberti E, Dos Santos Costa P, de Carvalho AC, Ponce-Hornos JE. Mechanical and energetic effects of chronic chagas'ic patients' antibodies on rat myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004; 287 (3): H1239-45.
60. Hernandez CC, Barcellos LC, Gimenez LE, Cabarcas RA, Garcia S, Pedrosa RC, et al. Human chagas'ic IgGs bind to cardiac muscarinic receptors and impair L-type Ca^{2+} currents. *Cardiovasc Res.* 2003; 58 (1): 55-65.
61. Gimenez LE, Hernandez CC, Mattos EC, Brandao IT, Olivieri B, Campelo RP, et al. DNA immunizations with M2 muscarinic and beta1 adrenergic receptor coding plasmids impair cardiac function in mice. *J Mol Cell Cardiol.* 2005; 38(5):703-14.
62. Jahns R, Boivin V, Hein L, Triebel S, Angermann CE, Ertl G, et al. Direct evidence for a beta 1-adrenergic receptor-directed autoimmune attack as a cause of idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Clin Invest.* 2004; 113 (10): 1419-29.
63. Fukuda Y, Miyoshi S, Tanimoto K, Oota K, Fujikura K, Iwata M, et al. Autoimmunity against the second extracellular loop of β 1-adrenergic receptors induces early afterdepolarization and decreases in K-channel density in rabbits. *J Am Coll Cardiol.* 2004; 43 (6): 1090-100.
64. Rosenbaum MB, Chiale PA, Schejtman D, Levin M, Elizari MV. Antibodies to beta-adrenergic receptors disclosing agonist-like properties in idiopathic dilated cardiomyopathy and Chagas' heart disease. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1994; 5 (4): 367-75.
65. Chiale PA, Rosenbaum MB, Elizari MV, Hjalmarson A, Magnusson Y, Wallukat G, et al. High prevalence of antibodies against beta 1- and beta 2-adrenoreceptors in patients with primary electrical cardiac abnormalities. *J Am Coll Cardiol.* 1995; 26 (4): 864-9.
66. Rassi A Jr, Rassi SG, Rassi A. Sudden death in Chagas' disease. *Arq Bras Cardiol.* 2001; 76 (1): 75-96.

67. Medei E, Pedrosa RC, Benchimol Barbosa PR, Costa PC, Hernandez CC, Chaves EA, et al. Human antibodies with muscarinic activity modulate ventricular repolarization: basis for electrical disturbance. *Int J Cardiol.* 2007; 115 (3): 373-80.
68. Quiros FR, Morillo CA, Casas JP, Cubillos LA, Silva FA. CHARITY: Chagas' cardiomyopathy bisoprolol intervention study: a randomized double-blind placebo force-titration controlled study with Bisoprolol in patients with chronic heart failure secondary to Chagas' cardiomyopathy [NCT00323973]. *Trials.* 2006; 7: 21.
69. Berta E, Confalonier P, Simoncini O, Bernardi G, Busnach G, Mantegazza R, et al. Removal of antiacetylcholine receptor antibodies by protein-A immunoadsorption in myasthenia gravis. *Int J Artif Organs.* 1994; 17: 603-8.
70. Dörfel WV, Felix SB, Wallukat G, Brehme S, Bestvater K, Hofmann T, et al. Short-term hemodynamic effects of immunoadsorption in dilated cardiomyopathy. *Circulation.* 1997; 95: 1994-7.
71. 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: 385-99.
72. Jane-wit D, Altuntas CZ, Johnson JM, Yong S, Wickley PJ, Clark P, et al. Beta 1-adrenergic receptor autoantibodies mediate dilated cardiomyopathy by agonistically inducing cardiomyocyte apoptosis. *Circulation.* 2007; 116 (4): 399-410.
73. Labovsky V, Smulski CR, Gomez K, Levy G, Levin MJ. Anti-beta1-adrenergic receptor autoantibodies in patients with chronic Chagas' heart disease. *Clin Exp Immunol.* 2007; 148 (3): 440-9.
74. 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 chagas'ic mice. *Am J Pathol.* 2004; 164 (2): 441-7.
75. Soares MB, Garcia S, de Carvalho AC, Ribeiro dos Santos R. Cellular therapy in Chagas' disease: potential applications in patients with chronic cardiomyopathy. *Regen Med.* 2007; 2 (3): 257-64.
76. 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.
77. Vilas-Boas F, Feitosa GS, Soares MB, Pinho-Filho JA, Mota A, Almeida AJ, et al. Bone marrow cell transplantation to the myocardium of a patient with heart failure due to Chagas' disease. *Arq Bras Cardiol.* 2004; 82 (2): 185-7.
78. Tura BR, Martino HF, Gowdak LH, dos Santos RR, Dohmann HF, Krieger JE, et al. Multicenter randomized trial of cell therapy in cardiopathies - MiHeart Study. *Trials.* 2007; 8: 2.