



DOENÇA DE CHAGAS

Edécio Cunha Neto

Pesquisador do Instituto do Coração (InCor)

Faculdade de Medicina da USP

Ganador do Prêmio Roche (1994) e Prêmio Santista Juventude

(1998) por seu trabalho na Imunologia da Doença de Chagas

edecunba@usp.br

Novos conhecimentos na patogênese da Doença de Chagas

A doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, afeta de 16 a 18 milhões de pessoas no continente americano. Dados da Organização Mundial de Saúde revelam que cerca de 90 milhões de pessoas estão expostas ao risco de infecção. Em decorrência de migrações populacionais, a doença de Chagas, classicamente considerada uma enfermidade rural, passou a atingir centros urbanos, estimando-se que, aproximadamente, 300.000 indivíduos infectados residam hoje em São Paulo e mais de 200.000, no Rio de Janeiro.

A despeito de a doença de Chagas ter sido descoberta e seu ciclo elucidado há mais de oito décadas, vários aspectos relacionados com o seu controle ainda se apresentam desafiadores. Os quimioterápicos anti-*T. cruzi* atualmente disponíveis apresentam baixa eficácia e alta toxicidade, especialmente na fase crônica da doença de Chagas. O conhecimento dos aspectos imunológicos e inflamatórios que levam ao desenvolvimento das diferentes formas clínicas e dos mecanismos responsáveis pelas formas graves, como a cardiopatia chagásica crônica, poderia permitir um tratamento eficaz por meio da modulação desses mecanismos.

A via mais importante de transmissão de *T. cruzi* para humanos é a vetorial, pelas fezes de insetos triatomíneos (barbeiros) infectados. Graças a programas de Saúde Pública, a transmissão vetorial está sendo controlada em diversos países da América Latina, como é o caso do Brasil. Em função das grandes correntes migratórias citadas acima, a transfusão sanguínea passou a

representar, especialmente nas grandes cidades, a via mais importante no surgimento de novos casos da doença de Chagas.

Acometimento cardíaco na Doença de Chagas

A causa principal de morbidade e mortalidade na doença de Chagas é o acometimento cardíaco, que ocorre de 5 a 30 anos após a infecção primária em cerca de 30% dos indivíduos infectados pelo *T. cruzi*. Na cardiopatia chagásica crônica (CCC), ocorre uma inflamação e destruição progressiva do tecido cardíaco, levando a alterações da condução dos impulsos elétricos no coração e arritmias. Paralelamente, ocorre um progressivo afinamento do músculo cardíaco, levando à dilatação das cavidades do coração, tendo como consequência a incapacidade de bombear adequadamente o sangue para o organismo, um quadro chamado de insuficiência cardíaca congestiva. Dessa forma, a CCC frequentemente tem um curso fatal, uma vez que o tratamento é apenas sintomático e a possibilidade de realização de transplantes cardíacos é bem menor que a demanda. Existem cerca de 2 milhões de pacientes acometidos de CCC em nosso país. A CCC é responsável por, aproximadamente, 15% dos casos de pacientes atendidos por insuficiência cardíaca congestiva, em hospitais do Estado de São Paulo. Um grupo menor dos pacientes infectados por *T. cruzi* (cerca de 5% a 8%) desenvolve alterações no tubo digestivo (os chamados megaesôfago e megacólon), aparentemente por destruição dos neurônios que controlam sua motilidade; esses



problemas digestivos dificilmente levam ao óbito. Já no acometimento cardíaco, que é tratado apenas sintomaticamente com sucesso variável, o paciente em geral vem a falecer em decorrência de complicações irreversíveis da doença. A CCC é a indicação mais comum para o implante de marca-passos cardíacos artificiais em nosso país. Nos pacientes com insuficiência cardíaca refratária, o único caminho é o transplante cardíaco, um procedimento dispendioso e inacessível para a grande maioria dos pacientes. Estudos com animais experimentalmente infectados indicaram que o tratamento com drogas anti-*T. cruzi* não parece evitar a progressão da cardiopatia ¹.

Mecanismos de destruição do coração

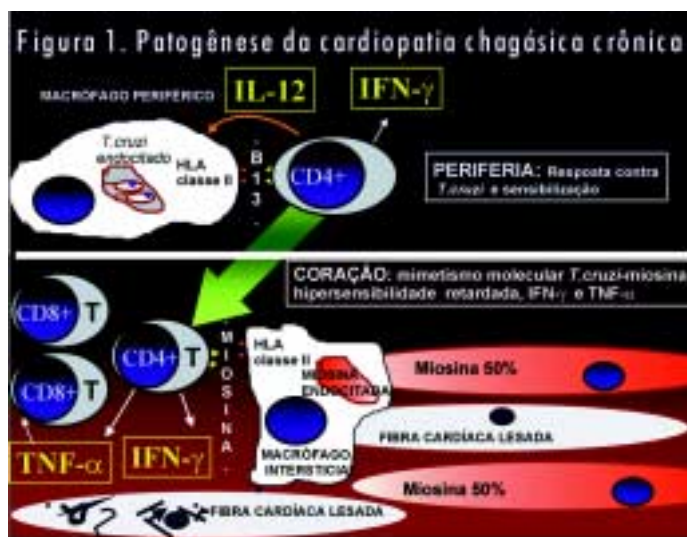
Os mecanismos que levam ao desenvolvimento da CCC ainda são assunto de intenso debate. São ainda desconhecidos os fatores de suscetibilidade que levam apenas 30% dos indivíduos a desenvolverem a CCC após a infecção por *T. cruzi*, enquanto que os restantes 70% não apresentam problemas cardíacos. A principal característica do tecido cardíaco na CCC é uma miocardite difusa, incluindo a destruição das fibras cardíacas e substituição por fibrose cicatricial, associada a um considerável infiltrado inflamatório difuso, composto por linfócitos T e macrófagos. Essas células inflamatórias têm sido consideradas como as efetivas destruidoras do tecido cardíaco, na aparente ausência do *T. cruzi*. Já no coração de pacientes da forma indeterminada (IND), sem sintomas cardíacos, identifica-se uma inflamação bem menos intensa, chamada miocardite focal ², que pode estar associada com restos parcialmente destruídos do parasita ³(Higuchi *et al. Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1997; 56: 485). Utilizando-se técnicas ultra-sensíveis, como o PCR ⁴ e a imuno-histoquímica ⁵, encontram-se indícios da presença do *T. cruzi* no coração de pacientes com CCC; entretanto, tais indícios também são encontrados no coração de chagásicos da forma indeterminada, sem alterações cardíacas ⁶. Além disso, outros órgãos, como os rins, são parasitados

pelo *T. cruzi* de forma análoga ao coração ⁷, sem apresentarem sinais de destruição ou dano funcional. Em conjunto, esses dados sugerem que a simples presença do *T. cruzi* não é suficiente para a indução da miocardite difusa e da destruição do tecido cardíaco.

Há algumas décadas, foi postulada a hipótese auto-imune da patogênese da CCC, que procurava explicar a agressão ao tecido cardíaco na CCC na ausência do *T. cruzi in situ* como um fenômeno secundário a uma resposta imunológica contra algum antígeno do *T. cruzi*, que apresentasse semelhanças antigênicas, ou mimetismo molecular, com um componente cardíaco. A

infetados reconhecem a miosina cardíaca, a proteína mais abundante do coração (Resultados revisados na ref. 8). Para verificar a validade dos resultados na doença humana, nosso grupo estudou anticorpos anti-miosina cardíaca no soro de pacientes CCC e IND. Anticorpos anti-miosina cardíaca purificados por afinidade a partir de soros de pacientes CCC reconheceram especificamente um antígeno de *T. cruzi* em um "imunoblot" com proteínas dos parasitas, apresentando-se como duas bandas de 140 e 116 kDa ⁹. Identificou-se esse antígeno como a proteína recombinante B13 de *T. cruzi* ¹⁰. Anticorpos de reação cruzada estavam presentes em 100% dos soros de CCC, mas somente 14% dos soros IND os apresentavam ⁹. Uma vez que são os

linfócitos T e não os anticorpos os principais envolvidos na destruição ao coração, testamos clones de linfócitos T obtidos por clonagem *in vitro* e expandidos a partir de um fragmento de biópsia do coração de um paciente portador de CCC. Foram identificados clones de linfócitos T CD4+ obtidos de biópsia endomiocárdica de portador de CCC que reconheciam de forma cruzada a miosina cardíaca (a principal proteína do coração) e a proteína B13 de *T. cruzi* ¹¹. Curiosamente, nenhum clone de célula T reagiu a qualquer outro antígeno de *T. cruzi*, o que poderia indicar que, pelo menos nas áreas estudadas, o desencadeador do infiltrado inflamatório era o reconhecimento cruzado da miosina cardíaca e não a presença do *T. cruzi* ¹¹. Estudamos também a produção de citocinas (mediadores solúveis secretados por linfócitos modular à inflamação) por linfócitos T presentes no coração de pacientes CCC. Quando submetidos a estímulo com a fito-hemaglutinina, potente ativador de linfócitos, essas células produzem quantidades significativas de IFN- γ e TNF- α , (citocinas inflamatórias, do tipo T1) mas não IL-4 (citocina anti-inflamatória, do tipo T2) ¹². Em conjunto, esses dados indicam a presença, no infiltrado inflamatório do coração de cardiopatas chagásicos, de linfócitos T reagindo cruzadamente com componentes do coração e capazes de produzir citocinas inflamatórias, capazes de estabelecer uma inflamação do



esse mecanismo - reagir com um antígeno semelhante, porém distinto daquele que gerou a resposta imune - chama-se reação cruzada imunológica. Tanto as respostas imunes ao *T. cruzi* quanto a auto-imunidade a componentes cardíacos já foram responsabilizadas como desencadeadores do infiltrado inflamatório e da destruição tecidual na CCC ⁸.

Informações obtidas com modelos animais freqüentemente apontam para uma direção que pode ser confirmada por estudos com doentes. Linfócitos T CD4+, ou auxiliares, de camundongos cronicamente infectados com *T. cruzi* podem transferir a inflamação cardíaca para camundongos não-infectados. Também foi observado que tanto anticorpos do soro quanto linfócitos T CD4+ de camundongos

tipo “hipersensibilidade tardia”, justamente a observada na CCC.

Após a definição das características principais dos linfócitos T presentes no coração de cardiopatas chagásicos, é possível comparar tais características em linfócitos do sangue periférico de pacientes CCC e IND, um material mais facilmente disponível que biópsias cardíacas. Embora os linfócitos periféricos não tenham apresentado resposta contra a miosina cardíaca, a imunização *in vitro* de linfócitos com a proteína B13 leva à geração de clones de linfócitos T com reação cruzada com a miosina¹³. Isso sugere que, ao longo da infecção por *T. cruzi*, a sensibilização pela proteína B13 *in vivo* possa levar à quebra da tolerância para a miosina cardíaca. A resposta de linfócitos T do sangue periférico à proteína B13 foi muito semelhante entre pacientes CCC e IND. Os linfócitos T reconhecem B13 de forma restrita ao HLA, isto é, apenas indivíduos com certas características genéticas (portadores de determinados alelos dos genes da região HLA) podem apresentar resposta, embora estas características estejam presentes em até 85% da população. Entre os chagásicos, a resposta de citocinas a B13 é caracterizada por grande produção de Interferon-gama, uma citocina pró-inflamatória, do tipo T1, e produção quase nula de Interleucina 4, uma citocina anti-inflamatória, do tipo T2. A resposta de citocinas a estímulo com fitoemaglutinina foi semelhante ao da B13 e oposta à encontrada em controles normais. Esses resultados indicaram a existência, nos pacientes chagásicos, de um desvio sistêmico e generalizado para a produção de citocinas do tipo T1 (IFN- γ e proinflamatórias), com supressão de produção das citocinas do perfil T2 (IL-4)¹⁴. Esse desvio do perfil das citocinas provavelmente está relacionado com a capacidade do *T. cruzi* de induzir a produção da Interleucina 12 (IL-12) por monócitos e macrófagos, que, reconhecidamente, estimula a produção de citocinas do tipo T1 e suprime o perfil T2.

Em suma, nossos resultados, ilustrados esquematicamente na Figura 1, reforçam a possibilidade de que a infecção pelo *T. cruzi* estimule a formação de linfócitos T potencialmente patogênicos, como postulado para outros agentes infecciosos em doenças autoimunes. A infecção gera linfócitos T maduros, que reconhecem a proteína B13 e produzem IFN- γ , que são potencialmente

capazes de migrar para o coração. Entretanto, a identificação de linfócitos T anti-B13 capazes de produzir citocinas tipo T1 tanto em pacientes CCC como em IND, que não apresentam destruição do tecido cardíaco, indica que a sua presença não é suficiente para causar inflamação e destruição no coração. Assim, deve haver um “ponto-chave”, um fenômeno imunológico adicional, ocorrendo apenas em pacientes CCC, que leve ao acúmulo e ativação de tais células no miocárdio levando à lesão. Estamos investigando a hipótese de que a geração de um infiltrado inflamatório destrutivo no miocárdio pode somente ocorrer no subgrupo de indivíduos infectados por *T. cruzi*, cujos linfócitos T anti-B13 apresentam reação cruzada com a miosina cardíaca.

Novos tratamentos: drogas “inteligentes” e imunomodulação

Aparentemente, não existe imunidade estéril ao *T. cruzi*, isto é, o parasita persiste no organismo do paciente em baixos números, ao longo da fase crônica da doença, quer entre cardiopatas quer entre indeterminados. Isso é apoiado pelo fato de que estados de imunossupressão (por exemplo, drogas imunossupressoras para transplante de órgãos, imunodeficiências) em chagásicos crônicos invariavelmente provocam reativação do parasitismo. O tratamento com as drogas disponíveis contra o *T. cruzi* não leva à eliminação completa do parasita de pacientes adultos cronicamente infectados; assim, a cura parasitológica completa é difícil. Aparentemente, o parasita persiste no hospedeiro na forma intracelular, já que estudos mostraram que células intensamente parasitadas por *T. cruzi* não são danificadas pelo infiltrado inflamatório durante a infecção^{3,15}. Os dados parecem indicar que as formas intracelulares do parasita desenvolveram mecanismos de escape, ou pelo menos de retardo, da destruição das células infectadas pelo sistema imune, como acontece com alguns tipos de vírus^{15,16}. A identificação desses possíveis mecanismos de escape poderia fornecer importantes alvos para o desenvolvimento de drogas anti-*T. cruzi* efetivas, capazes

de curar a infecção crônica pelo parasita.

Por outro lado, a definição do auto-antígeno cardíaco relevante para a patogênese auto-imune da cardiopatia chagásica crônica é o primeiro passo para, no futuro, conceber um tratamento por supressão antígeno-específica da resposta imune dirigida contra esse auto-antígeno, como já descrito na uveíte auto-imune, diabetes mellitus insulino-dependente, esclerose múltipla e na artrite reumatóide¹⁶. Nessas doenças, observou-se que a administração oral do auto-antígeno relevante gerou diminuição dos níveis de citocinas inflamatórias do tipo T1 no órgão afetado, com conseqüente redução de inflamação e destruição tecidual. Seria possível, então, eliminar seletivamente a resposta auto-imune prejudicial sem interferir na resposta de defesa contra o parasita.

Referências bibliográficas

1. Teixeira, A.R.L. *et al. J. Infect. Dis.* 162:1420, 1990
2. Higuchi, M.L. *et al. Clin. Cardiol.* 1987; 10:665
3. Higuchi, M.L. *et al. Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1997; 56: 485
4. Jones, E. *et al. Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1993; 48:348
5. Higuchi, M.L. *et al. Cardiovasc. Pathol.* 1993; 2:101
6. Olivares-Villagomez, D. *et al. Parasite Immunol* 1998; 20:447
7. Chocair, P. *et al. Rev Soc Bras Med Tropical* 1985;18:43
8. Kalil, J. & Cunha-Neto, E. *Parasitol. Today* 1996; 12:396
9. Cunha-Neto, E. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; **92**:3541
10. Gruber A. & Zingales B. *Exp Parasitol* 1993;76:1
11. Cunha-Neto, E. *et al. J. Clin. Invest.* 1996; 98:1709
12. Cunha-Neto, E. *et al. Braz. J. Med. Biol. Res.* 1998; 31:133-137
13. Abel, L.C.J. *et al. Braz. J. Med. Biol. Res.* 1997; 30: 1305
14. Cunha-Neto, E. *et al. Mem Inst. Oswaldo Cruz* 1997; 92 (Suppl I): 40-41
15. Vianna, G. *Mem. Instituto Oswaldo Cruz* 1911; 3:276
16. Fruh, K *et al. Nature* 1995; 375:415
17. Meinel, E *et al. Immunol. Today* 1998; 19:474
18. Weiner, H.L. *Annu. Rev. Med.* 1997; 48:341