

# Citocinas e óxido nítrico na Doença de Chagas

## Cytokines and nitric oxide in Chagas Disease

Wander Rogério Pavanelli\*

---

### Resumo

O resultado da complexa interação entre o sistema imune do hospedeiro humano e o *T. cruzi* determina o quadro clínico chamado de “doença de Chagas”. Durante a fase aguda da infecção, ocorre uma reação inflamatória localizada conhecida como sinal de Romana. Posteriormente observa-se um curto período caracterizado pela presença do parasito na corrente sanguínea do hospedeiro (parasitemia), após o qual um quadro inflamatório intenso no coração (miocardite). A intensidade deste quadro parece determinar o controle da proliferação do microrganismo, e pode estar associado com alterações estruturais crônicas no tecido cardíaco (fibrose), que eventualmente resultam em falha cardíaca. Na fase crônica, em torno de 25 a 30% dos pacientes infectados apresentam miocardiopatia. Sabe-se que a miocardite chagásica crônica é caracterizada por infiltrado mononuclear difusa, destruição de fibras do miocárdio, áreas de necrose e o achado extremamente raro de parasitas nas lesões. Na maioria das vezes, esta resposta é desproporcional ao parasitismo tecidual, e o infiltrado celular parece ser mais lesivo para o tecido cardíaco. A inflamação depende de linfócitos T, predominantemente T CD8<sup>+</sup> sensibilizados contra antígenos de *T. cruzi*, que condicionam resistência à infecção. A resistência à infecção é multifatorial, incluindo fatores genéticos do hospedeiro, e citocinas como IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-12. Todos ativam direta ou indiretamente o principal mecanismo de controle da proliferação intracelular do parasito, que é dado através da geração de óxido nítrico (NO). Já a susceptibilidade à infecção está associada com a produção de IL-10, IL-5, IL-13 e IL-4, que inibem a geração de nitritos pelos macrófagos.

**Palavras-chave:** doença de Chagas, miocardite, citocinas, óxido nítrico.

---

\* Departamento de Bioquímica e Imunologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil . Email: wanderpavanelli@usp.br

Endereço para correspondência: Faculdade de Medicina-Universidade de São Paulo-USP, Av. Bandeirantes, 3900- CEP: 14049-900, Ribeirão Preto-SP, Brasil

## Abstract

The result of complex interaction enters the immune system of human host and the *T. cruzi* determines the clinical conditions called "Chagas disease". During the acute phase of infection, occurs a located inflammatory response known as signal of Romanha. Later a short period characterized for presence of parasite in blood of host is observed (parasitemia), after which intense an inflammatory response in heart (myocardite). The intensity this response seems to determine the control of microorganism proliferation, and can be associated with chronic structural alterations in tissue cardiac (fibrosis), that eventually result in cardiac deficiency. In the chronic phase, around 25 the 30% of infected patients present myocardiopatia. It is known that the chronic chagasic myocardite is characterized by infiltrated mononuclear diffuse, myocardial fibers destruction, areas of necrosis and finding extremely rare of parasites in heart. Most of the time, this response in myocardium is unbalanced tissue parasitism, and the cellular infiltrated seems to be more injurious for cardiac tissue. The inflammation depends on lymphocytes T, predominantly CD8<sup>+</sup> sensitized against antigens of *T. cruzi*, that condition resistance the infection. The resistance to the infection is multi-factorial, including genetic factors of the host, and cytokines as IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  and IL-12. All activate directly or indirectly the main mechanism of control of the intracellular proliferation of parasite, that is given through the nitric oxide (NO) generation. Already the susceptibilities to the infection are associated with the production of IL-10, IL-5, IL-13 and IL-4, which inhibit the generation of nitrites for the macrophages.

**Keywords:** Chagas disease, myocardites, cytokines, nitric oxide.

---

A infecção pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas resulta em parasitismo crônico, gerando inflamação e fibrose no miocárdio e lesões no sistema nervoso autônomo intramural do esôfago ou cólon, fenômenos estes que acarretam dano estrutural com dilatação destes órgãos<sup>(1,2)</sup>. De fato, o parasito induz inflamação e, a resposta imune desencadeada parece ser amplamente responsável pelo controle da replicação do *T. cruzi* e pelos danos observados no tecido cardíaco, durante a fase aguda da doença. Este processo envolve a participação de monócitos, macrófagos, neutrófilos e células T, sendo que os mecanismos que medeiam à geração de tal resposta, ainda são motivos de controvérsia entre os pesquisadores.

A doença inicia-se com uma fase aguda que é assintomática na maioria dos casos. Entretanto, essa primeira fase pode se manifestar com febre, edema subcutâneo no local da inoculação (chagoma de inoculação),

enfartamento ganglionar, hepatoesplenomegalia, e miocardite aguda (altamente associada ao óbito durante essa fase) <sup>(3-6)</sup>. O indivíduo infectado pode então entrar na fase indeterminada da doença, de duração variável e que é caracterizada pela ausência total de sintomas. Em torno de 30% dos pacientes infectados podem apresentar manifestações clínicas da formas crônicas, decorrentes da inflamação perpetuada e dano estrutural <sup>(1,2)</sup>, constituindo as formas crônicas (cardíaca ou digestiva) da doença.

A apresentação das diferentes manifestações clínicas da doença de Chagas é dependente de fatores inerentes ao parasito e ao hospedeiro. Dentre eles um dos aspectos mais importantes talvez seja a resposta imune do hospedeiro, que protege contra a proliferação do parasito, porém com o potencial de causar patologia. A infecção pelo *T. cruzi* expõe o hospedeiro a uma complexa mistura de antígenos que estimulam a imunidade celular inata e adaptativa.

Durante a infecção com *T. cruzi*, a imunidade inata desempenha papel fundamental, controlando a replicação do parasito e atuando na patogênese da doença de Chagas. Os primeiros sinais da infecção sugerem que o parasito pode estimular as células do hospedeiro a produzirem mediadores que podem desencadear uma resposta inflamatória. Essa resposta induzida contra o parasito é desencadeada por uma cascata de eventos provenientes de células, síntese de citocinas e óxido nítrico (NO), essências para a resistência do hospedeiro. O macrófago é a principal célula que atua contra o parasito, através da produção de NO estimulada por IFN- $\gamma$  produzido inicialmente por células Natural Killer (NK) <sup>(8)</sup>. Os cardiomiócitos são outras células que participam ativamente na resposta à infecção, através da produção de citocinas e NO, modulando a presença de células inflamatórias no tecido e controlando a replicação do parasito <sup>(7)</sup>. A molécula de NO é produzida pela isoforma induzível da NO sintase, em resposta a IFN- $\gamma$  e em sinergismo com TNF- $\alpha$ . Estas citocinas produzidas durante a fase aguda da infecção, correlacionam-se com um incremento na concentração plasmática de nitrito, produtos finais da via da arginina/NO.

De fato, a cinética da produção de citocinas <sup>(8)</sup> além de controlar a replicação do parasito e induzir a miocardite em camundongos infectados com *T. cruzi*, também modula a diferenciação da resposta em Th1 e Th2.

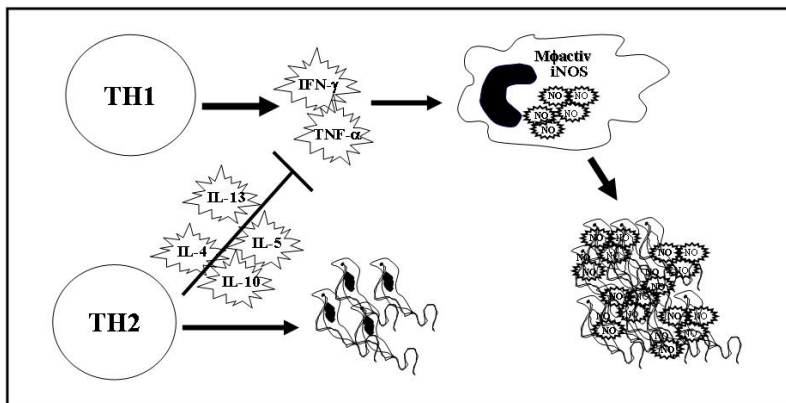
As células Th1 produzem IFN- $\gamma$  e IL-12 e induzem resposta imune efetora predominantemente celular essencial para a defesa do hospedeiro frente às infecções intracelulares e tumores, enquanto que células Th2 produzem principalmente IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, atuando na resposta imune humoral. As citocinas IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-12 atuam sobre linfócitos Th0 levando sua diferenciação para um perfil Th1 que é amplificado pela produção de mais citocinas inflamatórias. Esse processo ativa mecanismos efetores da imunidade adaptativa, como os linfócitos T citolíticos (CD8), estimulando sua diferenciação e proliferação <sup>(8-12)</sup>. Os linfócitos T CD8 são a principais células envolvidas na defesa contra agentes infecciosos intracelulares (como *T. cruzi*), elas podem destruir as células parasitadas pelo *T. cruzi* que apresentam antígenos do patógeno via MHC-I.

Há claras evidências da participação desses mecanismos imunes efetores na indução da lesão miocárdica de pacientes chagásicos <sup>(13)</sup>. A cardiopatia chagásica é essencialmente uma doença inflamatória secundária à infecção pelo *T. cruzi*. Visto que há uma correlação entre a inflamação e a presença de *T. cruzi* no tecido cardíaco e a sua ausência em locais sem inflamação <sup>(14-17)</sup>. No entanto, o mimetismo molecular entre antígenos do parasito e do hospedeiro com formação de auto-anticorpos e linfócitos T auto-reativos (miosina cardíaca, proteína P ribossomal, queratina, receptores  $\beta$ -adrenérgicos e de muscarina, proteínas associadas à microtúbulos do citoesqueleto e proteínas neuronais, auto-antígeno, dentre outros) tem sido demonstrada em associação com as lesões <sup>(18-21)</sup>. Contudo, não existem marcadores que permitam prever o grau de risco de desenvolvimento de cardiopatia nos indivíduos infectados. É sabido que o padrão de citocinas produzido é mais do tipo Th1, com predominância de IFN- $\gamma$ , supressão de citocinas do tipo Th2, como IL-4, e elevados níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$  <sup>(19)</sup>. Em concordância,

pacientes na fase indeterminada apresentam uma resposta imune mais regulada, com maior produção de citocinas antiinflamatórias (IL-10 e IL-4) <sup>(22-28)</sup>.

Tais citocinas favorecem a regulação da resposta, prevenindo o dano imunológico continuado <sup>(8,29,12,30)</sup>, contudo propiciam a persistência do *T. cruzi* no tecido. Enquanto, IL-4 e IL-10 também favorecem a diferenciação de linfócitos T imaturos para perfil Th2, que, através da ativação policlonal de linfócitos B e produção de imunoglobulinas, mantém a resposta imune humoral. A modulação de resposta imune contra o parasito deve atuar permitindo o estado de “latência” que ocorre nos pacientes e nos animais infectados. A produção das diferentes classes e subclasses de imunoglobulinas se faz através do reconhecimento direto de antígenos do parasito por linfócitos B. Isso tudo, auxiliado pela produção das diferentes citocinas.

Embora muitas citocinas sejam atualmente caracterizadas com base em seus efeitos pró ou antiinflamatórios, está claro que várias delas também apresentam funções paradoxais, respondendo de diferentes maneiras na dependência de sua concentração, do microambiente e do estágio da resposta imune na quais essas proteínas são produzidas. Dessa forma, essas citocinas podem influenciar tanto a atividade das células T efectoras como de células reguladoras, no sentido de estabelecer uma resposta imune protetora ao hospedeiro. Corolário deste conceito é que a compreensão da relação entre tais citocinas e células poderia contribuir para o delineamento de alvos terapêuticos e marcadores imunopatogênicos no contexto de doenças inflamatórias.



**Figura 1.** Envolvimento das citocinas e óxido nítrico na patogenia da doença de Chagas.

Citocinas do padrão Th1 (IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ ) atuam em conjunto para induzir a ativação de macrófago e a produção de óxido nítrico (NO), atuando na eliminação do parasito. Citocinas do padrão Th2 (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) bloqueiam as citocinas do padrão Th1, permitindo a persistência do *T. cruzi* no tecido.

## REFERÊNCIAS

1. Tafuri WL, Maria T de A. On the behavior of the neurosecretory vesicular component of the mega-esophagus in human trypanosomiasis cruzi. Rev Inst Med Trop São Paulo: 298-309, 1970.
2. Tafuri WL. Pathogenesis of Chagas' disease. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 29(4): 194-9, 1987
3. Salgado E. Conjunctival circulation in mitral stenosis. Rev Clin Esp, 87: 222-7, 1962,
4. Salgado G, de Miguel E, Martinez-Veiga JL, Diego M, Lucea C. Portal hypertension and secretin. Rev Esp Enferm Apar Dig, 57(4): 403-6, 1980.

5. Boainain E, Rassi A. Etiologic therapy of Chagas' disease. *Arq Bras Cardiol*, 32(6): 395-9, 1979.
6. Rassi AJr, Rassi A, Little WC. Chagas' heart disease. *Clin Cardiol*, 23(12): 883-9, 2000.
7. Machado FS, Martins GA, Aliberti JC, Mestriner FL, Cunha FQ, Silva JS. *Trypanosoma cruzi*-infected cardiomyocytes produce chemokines and cytokines that trigger potent nitric oxide-dependent trypanocidal activity. *Circulation*, 102(24): 3003-8, 2000.
8. Silva JS, Morrissey PJ, Grabstein KH, Mohler KM, Anderson D, Reed SG. Interleukin 10 and interferon gamma regulation of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *J Exp Med*, 175(1): 169-74, 1992.
9. Holscher C, Kohler G, Muller U, Mossmann H, Schaub GA, Brombacher F. Defective nitric oxide effector functions lead to extreme susceptibility of *Trypanosoma cruzi*-infected mice deficient in gamma interferon receptor or inducible nitric oxide synthase. *Infect Immun*, 66(3): 1208-15, 1998.
10. Silva JS, Vespa GN, Cardoso MA, Aliberti JC, Cunha FQ. 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, 1995.
11. Vespa GN, Cunha FQ, Silva JS. Nitric oxide is involved in control of *Trypanosoma cruzi*-induced parasitemia and directly kills the parasite in vitro. *Infect Immun*, 62(11): 5177-82, 1994.
12. Cardillo F, Voltarelli JC, Reed SG, Silva JS. Regulation of *Trypanosoma cruzi* infection in mice by gamma interferon and interleukin 10: role of NK cells. *Infect Immun*, 64(1): 128-34, 1996.
13. De Souza AP, Tanowitz HB, Chandra M, Shtutin V, Weiss LM, Morris SA, et al. Effects of early and late verapamil administration on the development of cardiomyopathy in experimental chronic *Trypanosoma cruzi* (Brazil strain) infection. *Parasitol Res*, 92(6): 496-501, 2004.
14. Araujo Jorge TC, Barbosa HS, Moreira AL, De Souza W, Meirelles MN. The interaction of myotropic and macrophagotropic strains of *Trypanosoma cruzi* with myoblasts and fibers of skeletal muscle. *Z Parasitenkd*, 72(5): 577-84, 1986.

15. Amato Neto V, Higuchi ML, Amato VS. Absence of cardiac lesion attributable to *Trypanosoma cruzi* after at least 17 years of a course of Chagas' disease due to transfusions. Rev Soc Bras Med Trop, 28(4): 415-7, 1995.
16. Higuchi ML, Gutierrez PS, Aiello VD, Palomino S, Bocchi E, Kalil J, et al. Immunohistochemical characterization of infiltrating cells in human chronic chagasic myocarditis: comparison with myocardial rejection process. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol, 423(3): 157-60, 1993.
17. Bellotti G, Bocchi EA, de Moraes AV, Higuchi ML, Barbero-Marcial M, Sosa E, et al. In vivo detection of *Trypanosoma cruzi* antigens in hearts of patients with chronic Chagas' heart disease. Am Heart J, 131(2): 301-7, 1996.
18. Levine MA, Leenen FH. Role of beta 1-receptors and vagal tone in cardiac inotropic and chronotropic responses to a beta 2-agonist in humans. Circulation, 79(1):107-15, 1989.
19. Cunha-Neto E, Coelho V, Guilherme L, Fiorelli A, Stolf N, Kalil J. 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, 1996.
20. Kerner N, Liegeard P, Levin MJ, Hontebeyrie-Joskowicz M. *Trypanosoma cruzi*: antibodies to a MAP-like protein in chronic Chagas' disease cross-react with mammalian cytoskeleton. Exp Parasitol, 73(4): 451-9, 1991.
21. Petry K, Eisen H. Chagas disease: a model for the study of autoimmune diseases. Parasitol Today, 5(4): 111-6, 1989.
22. Bahia-Oliveira LM, Gomes JA, Rocha MO, Moreira MC, Lemos EM, Luz ZM, et al. IFN-gamma in human Chagas' disease: protection or pathology? Braz J Med Biol Res, 31(1): 127-31, 1998.
23. Mortara RA, da Silva S, Patricio FR, Higuchi ML, Lopes ER, Gabbai AA, et al. Imaging *Trypanosoma cruzi* within tissues from chagasic patients using confocal microscopy with monoclonal antibodies. Parasitol Res, 85(10): 800-8, 1999.
24. Correa-Oliveira R, Gomes J, Lemos EM, Cardoso GM, Reis DD, Adad S, et al. The role of the immune response on the development of severe clinical forms of human Chagas disease. Mem Inst Oswaldo Cruz, 94 : 253-5, 1999.



25. Ribeiro M, Pereira-Chioccola VL, Renia L, Augusto Fragata Filho A, Schenkman S, Rodrigues MM. Chagasic patients develop a type 1 immune response to *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase. *Parasite Immunol*, 22(1): 49-53, 2000.
26. Abel LC, Rizzo LV, Ianni B, Albuquerque F, Bacal F, Carrara D, et al. Chronic Chagas' disease cardiomyopathy patients display an increased IFN-gamma response to *Trypanosoma cruzi* infection. *J Autoimmun*, 17(1): 99-107, 2001.
27. Gomes ML, Toledo MJ, Nakamura CV, Bittencourt NL, Chiari E, de Araujo SM. *Trypanosoma cruzi*: genetic group with peculiar biochemical and biological behavior. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 98(5): 649-54, 2003.
28. Zalloum L, Gomes ML, Kinoshita AT, Toledo MJ, Prioli AJ, de Araujo SM. *Trypanosoma cruzi*: two genetic groups in Parana state, Southern Brazil. *Exp Parasitol*, 111(1): 55-8, 2005.
29. Reed SG. Immunology of *Trypanosoma cruzi* infections. *Chem Immunol*, 70: 124-43, 1998.
30. Silva JS, Aliberti JC, Martins GA, Souza MA, Souto JT, Padua MA. The role of IL-12 in experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *Braz J Med Biol Res*, 31(1): 111-5, 1998.