

RESPOSTA IMUNE HUMANA NA DOENÇA DE CHAGAS

Cláudia Ida Brodskyn
Manoel Barral-Netto

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO
2. RESPOSTA IMUNE INATA
 - 2.1. Células NK
 - 2.2. Componentes Humorais
3. IMUNIDADE HUMORAL
4. IMUNIDADE CELULAR
5. AUTO-IMUNIDADE
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INTRODUÇÃO

Grande parte das manifestações clínicas da doença de Chagas no homem se deve à resposta imune dirigida ao parasita. No homem, a infecção pelo *Trypanosoma cruzi* sensibiliza diferentes compartimentos do sistema imune, levando ao aparecimento de respostas humorais e celulares específicas contra o parasita. A mobilização do sistema imune é importante na redução da carga parasitária, mas, por outro lado, pode contribuir para o aparecimento das manifestações crônicas observadas em alguns pacientes. Tanto os pacientes que não desenvolvem sintomas, os da fase indeterminada, quanto os sintomáticos apresentam resposta imunológica contra o parasita. Entender as diferenças da resposta imune que estão implicadas em maior ou menor agressão tecidual é o grande desafio do estudo atual da imunologia da doença de Chagas no homem.

2. RESPOSTA IMUNE INATA

2.1. Células NK

Uma série de evidências tem demonstrado que a imunidade inata age como um componente-chave da resistência do hospedeiro

contra protozoários, controlando seu crescimento durante a fase da infecção. As células *natural killer* (NK) desempenham um papel importante nessa fase, seja limitando o crescimento parasitário, seja promovendo o desenvolvimento da imunidade celular adquirida.¹

Muitos protozoários induzem a ativação de células NK em hospedeiros infectados, o que tem sido demonstrado pelo aumento da atividade lítica das células do hospedeiro contra alvos sensíveis à ação de células NK (células K562 ou NC-37, por exemplo), pelo número aumentado de populações linfocitárias exibindo marcadores característicos das células NK (CD16, CD56 e CD69 no homem). No camundongo, esse aspecto foi também observado pela indução da síntese de IFN- γ em animais deficientes em células T.² Na maioria dos estudos iniciais, a estimulação da célula NK foi evidenciada pelo aumento da atividade citolítica. Levando em consideração esse critério, foi observado que o *T. cruzi* induz a ativação das células NK em modelos animais.³⁻⁵

Tradicionalmente, os dois mecanismos principais desempenhados pelas células NK se relacionam com a destruição de células-alvo e com a produção de citocinas envolvidas na sensibilização de outras células imunes. Resultados recentes no entendimento das funções efetoras das células NK sugerem que a secreção de diferentes citocinas no microambiente onde a resposta imune está se desenvolvendo constitui o mecanismo primário de resistência dessas células contra infecções por protozoários, embora o papel lítico não deva ser minimizado.¹

As células NK de camundongos tratados com produtos estimuladores da produção de interferon ou infectados com *T. cruzi* exibem atividade lítica significativa contra tripomastigotas extracelulares e epimastigotas.^{4,5} Utilizando camundongos *beige*, que não possuem atividade lítica das células NK, mas retêm a capacidade de produzir citocinas por essas células, verificou-se que a resistência contra o *T. cruzi* encontrava-se diminuída.³ Deve ser lembrado que as células NK são importante fonte de IFN- γ e TNF- α , duas citocinas relevantes na ativação de outras células, como macrófagos, capacitando-as a destruir microrganismos intra- e extracelulares. Estudos recentes têm demonstrado que a infecção dos macrófagos pelo *T. cruzi* pode induzir a secreção de IL-12 por essas células, o que leva ao aumento da produção

de IFN- γ e TNF- α , resultando em controle da parasitemia e da mortalidade.^{6,7}

Acredita-se que os protozoários atuem as funções das células NK através de mecanismos indiretos envolvendo a estimulação de monocinas produzidas pelas células apresentadoras de antígeno.^{2,8,9} Por essa razão, muito da pesquisa atual nessa área tenta identificar as moléculas parasitárias responsáveis pela indução das diferentes citocinas, particularmente da IL-12. No *T. cruzi* tem sido enfatizada a importância dos glicolípídeos como indutores da produção de monocinas (IL-12 e/ou TNF- α). As âncoras glicolípídicas têm sido consideradas estruturas principais, responsáveis pela indução da produção de tais citocinas, importantes na interação com as células NK.

A natureza transitória das respostas das células NK em hospedeiros infectados sugere que a atividade dessas células é rigorosamente controlada. Consistente com essa hipótese, citocinas como IL-10 e TGF- β têm mostrado inibir a síntese de IFN- γ induzida pelo parasita, bem como a lise pelas células NK.¹⁰ Essas citocinas teriam um papel importante no controle da produção de citocinas pró-inflamatórias, que, em excesso, poderiam contribuir para as lesões teciduais observadas posteriormente na doença de Chagas.

Células mononucleares do sangue periférico de pacientes chagásicos, quando estimuladas com antígeno de *T. cruzi*, desenvolvem atividade lítica contra células K562, uma atividade atribuída a células NK.¹¹ Essa atividade permanece em pacientes com manifestação da doença, e pode se dever à produção de IFN- γ por linfócitos T, sendo mais relacionada com a imunidade adquirida que com a inata.

2.2. Componentes Humorais

Outro aspecto importante da imunidade inata está relacionado com a resistência de formas tripomastigotas do *T. cruzi* à ação do complemento.¹² O parasita codifica três glicoproteínas capazes de bloquear a via alternativa do complemento, inibindo a formação da C3 convertase (gp160, similar ao DAF humano; gp58/68 e uma proteína com peso molecular entre 87 e 90 kDa).¹³ A proteína de 87-90 kDa também é conhecida como T-DAF porque apresenta 27% de homologia com a seqüência de DNA da proteína DAF, presente na membrana das células e responsável pelo decaimento da C3 convertase da via clássica do complemento.¹³ O *T. cruzi* também codifica uma hemolisina de 75 kDa que reage de forma cruzada com o componente C9 do complemento.¹⁴

A infecção pelo *T. cruzi* induz a secreção de proteínas da fase aguda, tais como proteína C reativa,¹⁵ amilóide-P sérico¹⁶ e α -2 macroglobulina (α -2M).¹⁷ Recentemente, foi demonstrado que complexos formados pela cruzipaina (gp57/51, cisteína-proteinase presente nas diferentes formas evolutivas do *T. cruzi*) e a α -2M são eficientemente interiorizados por monócitos humanos e esse processo resulta em um aumento na apresentação de peptídeos da cruzipaina às células T CD-4+ provenientes de pacientes chagásicos.¹⁸ Exceto por esse achado, o papel das proteínas de fase aguda na doença de Chagas humana permanece desconhecido, e futuros estudos são necessários para elucidar a sua participação, seja nos mecanismos de imunoproteção, seja na patogênese da doença.

3. IMUNIDADE HUMORAL

Um grande número de estudos em modelos experimentais tem demonstrado que os anticorpos constituem componentes impor-

tares nos mecanismos de defesa do hospedeiro contra o *T. cruzi*.¹⁹⁻²¹ Em 1982, Krettli e Brener²² introduziram a idéia de anticorpos líticos, revolucionando o direcionamento das pesquisas que tentavam entender o papel protetor desempenhado pelos anticorpos na infecção pelo *T. cruzi*. Eles verificaram existir uma dissociação entre os anticorpos envolvidos no diagnóstico da doença de Chagas e aqueles que participavam da resistência contra o parasita. Estes últimos podiam ser detectados através da lise mediada por complemento e só se ligavam a formas tripomastigotas sanguíneas vivas. Um outro aspecto importante desse trabalho mostrou que camundongos imunizados com diferentes formas antigênicas do parasita não induziam o aparecimento de anticorpos líticos e que o nível dessas imunoglobulinas praticamente desaparecia dos soros dos animais parasitologicamente curados, sugerindo que esse parâmetro seria um excelente critério para avaliar a cura da doença de Chagas em seres humanos. A partir desse ponto, surgiram diferentes trabalhos na literatura relacionados com anticorpos protetores. Assim, em 1984, Romeiro e cols.²³ verificaram que os anticorpos líticos presentes nos soros de pacientes chagásicos pertenciam à classe IgG, subclasses IgG1 e IgG2. Foi demonstrado que somente os anticorpos líticos presentes no soro de indivíduos chagásicos eram capazes de mediar o ADCC (*antibody-dependent cell cytotoxicity*).²⁴

A ausência de anticorpos líticos no soro de pacientes chagásicos mostrou ser uma excelente ferramenta para a avaliação de cura. Foi demonstrado que pacientes chagásicos, submetidos ao tratamento com drogas heterocíclicas e acompanhados por um período de 10 anos, apresentavam o teste de lise mediada por complemento negativo, embora a sorologia convencional permanesse positiva.²⁵

Como o ensaio para a detecção de anticorpos líticos requer parasitas vivos e infectivos, torna-se difícil a utilização desse teste na rotina laboratorial. Assim, Krautz e cols.²⁶ avaliaram, através de ELISA e Western blot, a possibilidade de utilizar um antígeno recombinante do *T. cruzi* (rTC24) para identificar pacientes chagásicos considerados parasitologicamente curados. Verificaram que os soros de todos os pacientes não curados reagiam com rTC24, enquanto 80% dos soros de indivíduos curados não reagiam com o antígeno, demonstrando que o rTC24 podia ser utilizado nos testes iniciais, embora não fosse capaz de detectar todos os pacientes curados. Foi também observado que anticorpos provenientes de soro de pacientes chagásicos, quando absorvidos com glicoconjugados isolados de tripomastigotas, perdiam a capacidade lítica do soro.²⁷ As frações ativas foram denominadas F2 (74 e 95 kDa) e F3 (120 e 200 kDa) e demonstrou-se que o antígeno de 74 kDa poderia ser usado no diagnóstico da infecção ativa pelo *T. cruzi*, substituindo a determinação pela lise mediada pelo complemento. Recentemente, foi introduzido um método de citofluorimetria para a detecção de anticorpos líticos apresentando alta sensibilidade, sendo mais rápido e eficiente que o ensaio convencional.²⁸

Anticorpos naturais heterófilos, encontrados no soro humano normal, reconhecem o *T. cruzi* e a ele se ligam.²⁹ Esses anticorpos reconhecem um epítipo terminal contendo o dissacarídeo galactosil α 1-3 galactose, e são denominados anti-Gal. Anticorpos anti-Gal têm elevação do seu título na fase aguda da infecção e permanecem elevados na infecção crônica.³⁰ Além da atividade lítica convencional,³¹ os anticorpos anti-Gal apresentam atividade lítica independente de complemento contra tripomastigotas celulares.³² Esse mecanismo de lise não foi bem esclarecido, mas acredita-se estar indiretamente relacionado com a indução da aglutinação dos parasitas, pelo menos *in vitro*.

Mais recentemente, alguns estudos tentam correlacionar o perfil dos isotipos dos anticorpos anti-*T. cruzi* com as diferentes manifestações clínicas da doença de Chagas.³³ Os soros de pacientes com cardiopatia chagásica apresentam altos títulos de IgM, quando comparados com indivíduos não infectados ou na fase indeterminada da doença, o que é consistente com a teoria de que a auto-imunidade pode contribuir para a cardiopatia chagásica. Os soros provenientes de pacientes com envolvimento gastrintestinal apresentam níveis elevados de IgA, enquanto aqueles oriundos de pacientes com manifestações cardíacas e intestinais mostram títulos elevados de IgG2. Mais recentemente, esse mesmo grupo expandiu a análise através de exame da especificidade antigênica da resposta de IgG1, 2, 3, IgM e IgA desses pacientes por Western blot. Observaram, então, que IgG3 da maioria dos indivíduos da forma digestiva liga-se ao antígeno de 68 kDa, enquanto poucos pacientes com a forma cardíaca detectam essa molécula, e que, independentemente do grupo clínico, os perfis de reconhecimento antigênico por cada isotipo diferem drasticamente dos perfis de outros isotipos.³⁴ Há fortes indicações, assim, de que os anticorpos anti-*T. cruzi* apresentam reatividade diferente em pacientes com diferentes formas clínicas. É possível que essas diferenças reflitam mecanismos imunorreguladores diversos, com a participação de citocinas influenciando a expressão de diferentes classes de imunoglobulinas, e envolvidos com os distintos cursos da doença. A possível participação de citocinas é também sugerida por estudo que avalia os níveis de IgE nos pacientes chagásicos.³⁵ Os níveis total e específico de IgE anti-*T. cruzi* presente no fluido pericárdico de pacientes que morreram em uma área endêmica de tripanossomíase no Brasil Central foram determinados. Foram observados níveis significativamente elevados de IgE total em todos os grupos de pacientes chagásicos analisados, quando comparados com os indivíduos soronegativos para *T. cruzi*. Uma significativa correlação entre IgE total e IgE anti-*T. cruzi* foi somente observada nas amostras dos pacientes com cardiopatia chagásica, e pode sugerir a participação da IL-4 nesse processo.³⁵

Umezawa e cols.³⁶ descreveram diferenças na resposta imune humoral entre soros humanos chagásicos obtidos na fase aguda e crônica da doença de Chagas, utilizando quatro preparações antigênicas obtidas de *T. cruzi* e que refletem o conteúdo superficial e interno encontrado nas formas tripomastigotas. A proporção de IgG dirigida a antígenos de superfície dos tripomastigotas foi maior em soros agudos que nos crônicos, enquanto o oposto foi observado nos antígenos internos. Além disso, os soros de pacientes na fase aguda continham uma alta percentagem de IgG reativa a epítopos de carboidratos, e anticorpos IgA anti-*T. cruzi* só foram observados nesse grupo. Esses dados sugeriram a possibilidade de realizar o diagnóstico da fase aguda da doença de Chagas humana por método sorológico, permitindo maior rapidez de intervenção. Essa possibilidade também foi explorada num estudo realizado em crianças bolivianas, residentes em três diferentes áreas endêmicas, verificando-se que parâmetros sorológicos e bioquímicos poderiam definir os diferentes estágios da infecção aguda pelo *T. cruzi*.¹⁵ Níveis aumentados de IgM foram encontrados na fase inicial da infecção aguda, enquanto, no estágio intermediário, ocorreram altas concentrações de IgM e IgG específicas, bem como anticorpos anti-Gal e aumento de α -2M e proteína C reativa. Por sua vez, na fase mais tardia da infecção aguda, encontram-se baixos títulos de IgM, porém IgG, anti-Gal, α -2M e proteína C reativa continuam elevados; a detecção de IgG isoladamente foi sinal indicativo de fase indeterminada ou crônica da doença.¹⁵

Todas essas mudanças observadas no perfil das imunoglobulinas, durante as diferentes fases da doença, e nas manifestações clínicas refletem complexos mecanismos imunorreguladores que devem, em última instância, influenciar o curso da infecção pelo *T. cruzi* desde o contato inicial entre o parasita e o hospedeiro. A possibilidade de compreender esses mecanismos reguladores através de seus reflexos na resposta humoral é atraente devido à facilidade e custo mais baixo dos testes utilizados. Porém, trata-se de tarefa extremamente desafiadora, considerando-se a complexidade do sistema celular e a paucidade de estudos voltados para essa área na infecção chagásica humana.

4. IMUNIDADE CELULAR

Embora inúmeros trabalhos em modelos experimentais tenham definido a importância das subpopulações de linfócitos T CD4+ e CD8+ na infecção pelo *T. cruzi*, esse aspecto não se encontra totalmente definido na doença de Chagas no homem.

Sem dúvida, as células T CD4+ são extremamente importantes na proteção contra a infecção pelo *T. cruzi*, uma vez que são necessárias para a produção de anticorpos líticos e produzem citocinas, como o IFN- γ , que auxiliam na destruição de formas intracelulares do parasita em células infectadas.³⁷ Também, tem se verificado a presença de células T CD8+ participando da imunidade e patogênese da doença de Chagas humana. Clones de células T obtidos a partir das células mononucleares do sangue periférico (CMSP) de pacientes chagásicos assintomáticos são predominantemente CD4+, enquanto aqueles obtidos a partir de pacientes com sintomas cardíacos ou gastrintestinais exibem o fenótipo de células CD8+, sugerindo uma possível participação dessas células nos mecanismos imunopatológicos.³⁸ De fato, observações por imunistoquímica em tecido cardíaco, obtido em autópsias de pacientes com cardiomiopatia chagásica grave, mostraram que as lesões inflamatórias eram principalmente caracterizadas por linfócitos T CD8+, muitos dos quais expressavam granzima A, além de macrófagos, expressando TNF- α , e poucas células NK e linfócitos B.³⁹ Esses achados são compatíveis com conceitos envolvendo citólise e fibrose, e sugerem a participação das células T CD8+ na destruição da miofibrila cardíaca na cardiopatia chagásica. Além disso, observou-se a expressão aumentada de moléculas HLA-ABC nas células miocárdicas de pacientes chagásicos com cardiopatia crônica, reforçando que elas podem representar alvos de linfócitos T CD8+.⁴⁰ CMSP de pacientes assintomáticos, mas com cardiopatia subclínica, quando estimuladas com antígeno de *T. cruzi* desenvolvem atividade citotóxica (contra células K562) mais alta que a de CMSP de pacientes na forma indeterminada ou com cardiopatia grave. Apesar de tais resultados não poderem ser extrapolados para respostas dirigidas contra células infectadas expressando antígeno no contexto do MHC classe I, podemos observar diferenças importantes nos diversos grupos de pacientes chagásicos. Essas respostas são reguladas por citocinas, tendo a IL-12 um papel potencializador, provavelmente diretamente sobre as células NK, responsáveis pela destruição das células-alvo.¹¹

As citocinas desempenham papel importante na regulação da resposta imune e, seguramente, estão envolvidas tanto na resistência quanto nos mecanismos relacionados com a imunopatologia na doença de Chagas. A divisão de aspectos protetores e lesivos no paradigma Th1 \times Th2 nunca chegou a ser estabelecido na doença humana. O IFN- γ tem sido extensivamente estudado e é considerado uma citocina protetora, uma vez que ma-

crófaeos estimulados produzem metabólitos tóxicos para o parasita. Por outro lado, IL-4, IL-10 e TGF- β são capazes de suprimir a ativação dos macrófagos induzida por IFN- γ , inibindo tanto a liberação dos metabólitos tóxicos quanto a diferenciação de células Th1.

O TNF- α tem sido implicado tanto na resistência quanto na gênese de lesões teciduais, enquanto a IL-6 e a IL-1, associadas com grande número de alterações nas funções da célula endotelial, podem estar implicadas nas alterações microvasculares observadas na miocardiopatia chagásica. Além disso, citocinas como o IFN- γ , o TNF- α , a IL-6 e a IL-1 modulam a expressão de moléculas de adesão, que participam no recrutamento de linfócitos para os sítios de inflamação. Portanto, alterações quantitativas ou no equilíbrio entre diferentes citocinas podem estar relacionadas com a resistência e o desenvolvimento das diferentes lesões observadas na fase crônica da doença de Chagas.⁴¹

Dutra e cols.⁴² analisaram os níveis de expressão de várias citocinas nas CMSP de pacientes chagásicos e voluntários normais, pela técnica de RT-PCR (*reverse transcriptase polymerase chain reaction*). A análise *ex vivo* mostrou que os níveis de IL-5, IL-10, IL-13 e IFN- γ encontravam-se aumentados nos indivíduos chagásicos quando comparados com indivíduos não infectados. Os antígenos parasitários levaram à produção elevada de IFN- γ e baixa de IL-10; contudo, o inverso foi observado após a estimulação por anticorpos antiepipimastigotas. Esse achado sugere que a presença simultânea de estímulos antigênicos e anticópicos durante a fase crônica da doença de Chagas pode explicar a existência de reatividade inflamatória e antiinflamatória detectada na maioria dos pacientes.

Vários estudos experimentais têm relatado a ocorrência de imunossupressão na doença de Chagas, principalmente durante a fase aguda da infecção. Em camundongos, a imunização com antígenos relacionados ou não com o *T. cruzi* resulta em deficiência na produção de anticorpos, quando comparada com a observada em camundongos não infectados.^{43,44} Evidências de deficiência da resposta imune celular também foram documentadas em animais infectados^{45,46} e em pacientes chagásicos.⁴⁷

Células linfóides provenientes de doadores sadios ou de pacientes infectados quando co-cultivados com o *T. cruzi* apresentam supressão da produção de IL-2 e do seu receptor.^{48a} Redução na produção de IL-4, IL-5 e IFN- γ , em resposta ao estímulo mitogênico por linfócitos humanos normais co-cultivados com *T. cruzi*, foi também observada em relação às culturas sem parasitas.^{48b} Através da marcação intracelular por citocinas, demonstrou-se ocorrer uma diminuição na porcentagem de células CD3+ ativadas expressando IL-2 e IL-4, linfócitos considerados Th0 nos cultivos realizados na presença do parasita, sugerindo que este é capaz de inibir, concomitantemente, a produção de mais de uma citocina pelos linfócitos T ativados.

Outros investigadores, cultivando *in vitro* linfócitos de voluntários normais na presença do *T. cruzi*, demonstram estimulação linfocitária após cinco a sete dias de cultura.^{49,50} Nesses estudos, porém, os linfócitos não foram previamente ativados por mitógenos. Tomados em conjunto, esses estudos indicariam a capacidade do *T. cruzi* em estimular células não ativadas, mas de inibir células já estimuladas.

A imunossupressão contra antígenos não relacionados com o *T. cruzi* foi também observada em pacientes chagásicos. Bottasso e cols.⁵¹ demonstraram que pacientes com a forma indeterminada da doença de Chagas não responderam ao teste tuberculínico mesmo após a vacinação pelo BCG. Sugerem que essa perda de resposta a antígenos comuns micobacterianos pode ter implicações

no desenvolvimento de auto-imunidade na doença de Chagas ou numa maior suscetibilidade à tuberculose ou à hanseníase.

Os sinais co-estimulatórios, representados por diferentes moléculas presentes na superfície dos linfócitos e das células apresentadoras de antígeno, são componentes fundamentais para a ativação das células T. Dentre os sinais co-estimulatórios, resalta-se a ligação entre CD28/CD80 (B7-1) ou CD86 (B7-2), que se constitui num dos mais importantes eventos no fenômeno de estimulação linfocitária. Linfócitos T (CD4+ ou CD8+) provenientes do sangue periférico de pacientes chagásicos exibem uma maior frequência de células CD4+CD28- e CD8+CD28-, quando comparados com os de indivíduos não infectados pelo *T. cruzi*.⁴² Considerando-se a importância do CD28 para a ativação das células T, essa observação pode significar que diferentes estágios de ativação dos linfócitos T ou eventos imunorregulatórios distintos estejam ocorrendo no curso da infecção chagásica. Além disso, foi demonstrado que, em pacientes infectados pelo HIV, a população celular CD28- está mais propensa a sofrer apoptose, e esse tipo de morte celular foi observado na doença de Chagas experimental.⁵²

5. AUTO-IMUNIDADE

A ocorrência de auto-imunidade ou imunopatologia na doença de Chagas continua sendo aspecto fundamental na compreensão da patogênese da doença,⁵³⁻⁵⁵ e essa controvérsia ainda persiste. A presença do *T. cruzi* nos tecidos e sangue é de difícil detecção na fase crônica da doença, mas é comum a observação de focos de infiltrado de células mononucleares no coração de pacientes infectados pelo *T. cruzi* nessa fase (ver Capítulo 12—Patologia). Nesses infiltrados predominam células T CD8+ e alguns macrófagos,³⁹ e as fibras cardíacas destruídas, infectadas ou não, encontram-se em íntima associação com linfócitos T CD4+ ou CD8+.⁵⁶ A dissociação existente entre parasitemia baixa e patologia tecidual, aliada à observação de fibras destruídas, mesmo sem a detecção do parasita no local, tem servido de base à hipótese da existência de auto-imunidade contra o tecido cardíaco como elemento importante no desenvolvimento da cardiopatia chagásica crônica. No entanto, técnicas de amplificação do kDNA têm permitido a detecção de parasitas onde falham as técnicas parasitárias convencionais, e permitiram detectar uma parasitemia de quatro parasitas por mililitro em indivíduos infectados por três anos e meio.⁵⁷

A ocorrência de auto-imunidade foi proposta em alguns modelos experimentais, como na demonstração da rejeição de transplantes singênicos de corações de camundongos recém-nascidos, na orelha de camundongos cronicamente infectados com *T. cruzi*, mas não na de camundongos normais.⁵⁸ A rejeição podia ser bloqueada *in vivo* pela depleção das células T CD4+, indicando o envolvimento do sistema imune no processo. Entretanto, recentemente, observações semelhantes, porém com outras cepas do *T. cruzi*, mostraram que, para que ocorresse a rejeição do transplante, era necessária a presença do parasita.⁵⁹ Sugerem, então, que as lesões observadas na miocardiopatia chagásica são, na verdade, uma reação contra o parasita, e não contra antígenos próprios, o que caracterizaria um fenômeno auto-imune. A noção de que a lesão cardíaca na fase crônica deriva de resposta imune contra o parasita é também apoiada por um estudo imunocitoquímico recente em biópsias miocárdicas de pacientes chagásicos. Foi observada uma associação significativa entre a presença de miocardite moderada ou grave e a presença de anti-

genos do *T. cruzi*, sugerindo que a lesão tecidual progressiva pode estar associada à resposta contra o parasita.⁶⁰

O mimetismo de antígenos próprios por antígenos dos agentes infecciosos pode induzir resposta cruzada auto-imune a epítomos presentes nas proteínas do hospedeiro, o que provocaria uma quebra no balanço da resposta imunológica em relação à autotolerância, levando, conseqüentemente, ao aparecimento de auto-imunidade. Assim, mesmo com a indução de resposta cruzada em células T e B sendo demonstrada contra um epítomo *in vitro*, sua capacidade de induzir doença auto-imune *in vivo* dependerá de vários outros aspectos. No caso de respostas dependentes da ação do linfócito T, como na doença de Chagas, estes incluem a necessidade de que a apresentação apropriada de antígenos, no tecido-alvo e no contexto da ligação do complexo MHC-peptídeo com o receptor da célula T, resulte em ativação linfocitária superando os efeitos anergizantes.⁶¹

Nessa linha, foi identificado um epítomo do *T. cruzi*, denominado B13, que apresenta reação cruzada com a cadeia pesada da miosina cardíaca.⁶² Anticorpos anticadeia pesada da miosina cardíaca (AMA) isolados de pacientes com cardiopatia chagásica reagem contra B13 em 100% dos casos estudados, mas tal reação só é observada em 14% dos AMA obtidos de indivíduos assintomáticos. Além disso, B13 apresenta homologia com a miosina cardíaca humana. Esses dados embasam a idéia de que reações cruzadas entre a cadeia pesada da miosina cardíaca e B13, um epítomo parasitário, podem estar envolvidas na patogênese da cardiopatia chagásica. Seguindo essas observações, foram obtidos clones de linfócitos T, provenientes do infiltrado cardíaco de pacientes chagásicos, capazes de responder simultaneamente à miosina cardíaca e ao epítomo B13 do *T. cruzi*, embora não houvesse clones reativos primariamente a qualquer antígeno do parasita.⁶³ Todos esses achados sugerem que o mimetismo molecular entre a miosina cardíaca e a proteína B13 do *T. cruzi* pode contribuir para o aparecimento de lesões cardíacas na cardiomiopatia da doença de Chagas crônica.

Outros epítomos do parasita parecem também participar no fenômeno de mimetismo molecular com proteínas próprias do hospedeiro, reforçando a possibilidade da participação da auto-imunidade na doença de Chagas crônica. Nesse grupo estão membros da família de proteínas ribossomais do *T. cruzi* (TcP), os quais foram clonados. Utilizando-se peptídeos sintéticos, verificou-se que 80% dos indivíduos chagásicos produzem anticorpos específicos anti-P dirigidos contra a região C-terminal da TcP0 e TcP1/P2. Esses anticorpos reagem também contra os resíduos C-terminais das proteínas P humanas,⁶⁴ sugerindo que, devido à conservação antigênica, as proteínas TcP podem contribuir para o aparecimento de anticorpos auto-reativos nos pacientes chagásicos. Soros de pacientes chagásicos possuem anticorpos que reconhecem a porção carboxiterminal da proteína ribossomal P0 do *T. cruzi* e a segunda alça extracelular do receptor β 1-adrenérgico humano.⁶⁵ Esses auto-anticorpos exercem, *in vitro*, um efeito cronotrópico positivo em cardiomiócitos de ratos neonatos, sendo esse efeito bloqueado tanto por um bloqueador específico para β -1, o bisprolol, como pelo peptídeo P0. Portanto, parece que o *T. cruzi* é capaz de induzir uma resposta auto-imune funcional contra o receptor β 1-adrenérgico através de um mecanismo de mimetismo molecular. Mais recentemente, foi observado que anticorpos presentes no soro de pacientes chagásicos são capazes de interagir com a alça extracelular dos receptores de acetilcolina muscarínicos (mAChR).^{66,67} Esse auto-anticorpo também desempenha uma atividade agonista, modificando eventos intracelulares associados com ativação via mAChR, isto é, diminuindo a contratilidade, au-

mentando o cGMP e diminuindo a produção de cAMP. A relevância clínica desses achados é demonstrada pela associação entre os auto-anticorpos circulantes nos pacientes chagásicos e a presença de sintomas. É interessante observar que, além das lesões teciduais cardíacas observadas na miocardiopatia chagásica, algumas disfunções observadas no curso da fase crônica da doença de Chagas podem ter sua origem em componentes da resposta imune que reagem de forma cruzada com receptores presentes nas células cardíacas.

O conhecimento dos mecanismos responsáveis pelo aparecimento das manifestações da fase crônica da doença de Chagas é fundamental para o entendimento da relação parasita-hospedeiro e permitirá maior avanço no tratamento dos doentes, bem como no desenvolvimento de vacinas capazes de induzir a destruição do parasita antes que lesões teciduais se estabeleçam.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Scott P, Trinchieri G. The role of natural killer cells in host-parasite interactions. *Curr Opin Immunol*, 7:34, 1995.
2. Scharton-Kersten TM, Sher A. Role of natural killer cells in innate resistance to protozoan infections. *Curr Opin Immunol*, 9:44, 1995.
3. Hatcher FM, Kuhn RE, Cerrone MC, Burton RC: Increased natural killer cell activity in experimental American trypanosomiasis. *J Immunol*, 127:1126, 1981.
4. Hatcher FM, Kuhn RE. Destruction of *Trypanosoma cruzi* by natural killer cells. *Science*, 218:295, 1982.
5. Albright JW, Hatcher FM, Albright JF: Interaction between murine natural killer cells and trypanosomes of different species. *Infect Immun*, 44:315, 1984.
6. Aliberti JC, Cardoso MA, Martins GA, Gazzinelli RT, Vieira LQ, Silva JS. Interleukin-12 mediates resistance to *Trypanosoma cruzi* in mice and is produced by murine macrophages in response to live trypomastigotes. *Infect Immun*, 64:1961, 1996.
7. Hunter CA, Slifer T, Araújo F. Interleukin-12 mediated resistance of *Trypanosoma cruzi* is dependent on tumor necrosis factor alpha and gamma interferon. *Infect Immun*, 64:2381, 1996.
8. Scharton-Kersten T, Denkers EY, Gazzinelli R, Sher A. Role of IL12 in induction of cell-mediated immunity to *Toxoplasma gondii*. *Res Immunol*, 146:539, 1995.
9. Gazzinelli RT. Molecular and cellular basis of interleukin 12 activity in prophylaxis and therapy against infectious diseases. *Mol Med Today*, 2:258, 1996.
10. 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*, 64:128, 1996.
11. Brodsky CI, Barral A, Bulhões MA, Souto T, Machado WC, Barral-Netto M. Cytotoxicity in patients with different clinical forms of Chagas' disease. *Clin Exp Immunol*, 105:450, 1996.
12. Nogueira N, Bianco C, Cohn Z. Studies on the selective lysis and purification of *Trypanosoma cruzi*. *J Exp Med*, 142:224, 1975.
13. Morgan BP, Meri S. Membrane proteins that protect against complement lysis. *Springer Semin Immunopathol*, 15:369, 1994.
14. Fuhrman SA, Joiner KA. Complement evasion by protozoa. *Exp Parasitol*, 68:474, 1989.
15. Medrano-Mercado N, Luz MR, Torrico F, Tapia G, Van Leuven F, Araujo-Jorge TC. Acute-phase proteins and serologic profiles of chagasic children from an endemic area in Bolivia. *Am J Trop Med Hyg*, 54:154, 1996.
16. Scharfstein J, Barcinski MA, Leon LL. Induction of the acute-phase protein serum amyloid P in experimental Chagas' disease. *Infect Immun*, 35:46, 1982.
17. Isaac L, Pereira M, Santos M, Sampaio EP, Lima NR, Lage MJ, Araujo-Jorge TC. *Trypanosoma cruzi*: plasma levels of alpha-2-macroglobulin during experimental murine infections with reticulotropic and myotropic strains. *Parasitol Res*, 76:726, 1990.

18. Morrot A, Strickland DK, Higuchi MdL, Reis M, Pedrosa R, Scharfstein J. Human T cell responses against the major cysteine proteinase (cruzipain) of *Trypanosoma cruzi*: role of the multifunctional alpha-2-macroglobulin receptor in antigen presentation by monocytes. *Int Immunol*, 9:825, 1997.
19. Kierzenbaum F, Howard JG. Mechanisms of resistance against experimental *Trypanosoma cruzi* infection: the importance of antibodies and antibody-forming capacity in the Biozzi high and low responder mice. *J Immunol*, 116:1208, 1976.
20. Takehara HA, da Silva AM, Brodskyn CI, Mota I. A comparative study of anti-*Trypanosoma cruzi* serum obtained in acute and chronic phase of infection in mice. *Immunol. Lett*, 23:81, 1989.
21. Krettl AU, Brener Z. Protective effects of specific antibodies in *Trypanosoma cruzi* infections. *J Immunol*, 116:755, 1976.
22. Krettl AU, Brener Z. Resistance against *Trypanosoma cruzi* associated to anti-living trypomastigote antibodies. *J Immunol*, 128:2009, 1982.
23. Romeiro SA, Takehara HA, Mota I. Isotype of lytic antibodies in serum of Chagas' disease patients. *Clin Exp Immunol*, 55:413, 1984.
24. Lima-Martins MV, Sanchez GA, Krettl AU, Brener Z. Antibody-dependent cell cytotoxicity against *Trypanosoma cruzi* is only mediated by protective antibodies. *Parasite Immunol*, 7:367, 1985.
25. Galvão LM, Nunes RM, Caçado JR, Brener Z, Krettl AU. Lytic antibody titre as a means of assessing cure after treatment of Chagas disease: a 10 years follow-up study. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg*, 1996.
26. Krautz GM, Galvão LM, Caçado JR, Guevara-Espinoza A, Ouassiss A, Krettl AU. Use of a 24-kilodalton *Trypanosoma cruzi* recombinant protein to monitor cure of human Chagas' disease. *J Clin Microbiol*, 33:2086, 1995.
27. Almeida IC, Krautz GM, Krettl AU, Travassos LR. Glycoconjugates of *Trypanosoma cruzi*: a 74 kD antigen of trypomastigotes specifically reacts with lytic anti-alpha-galactosyl antibodies from patients with chronic Chagas disease. *J Clin Lab Anal*, 7:307, 1993.
28. Martins-Filho OA, Pereira ME, Carvalho JF, Caçado JR, Brener Z. Flow cytometry, a new approach to detect anti-live trypomastigote antibodies and monitor the efficacy of specific treatment in human Chagas' disease. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2:569, 1995.
29. Towbin H, Rosenfelder G, Wieslander J, Avila JL, Rojas M, Szarfman A, Esser K, Nowack H, Timpl R. Circulating antibodies to mouse laminin in Chagas' disease, American cutaneous leishmaniasis and normal individuals recognize terminal galactosyl alpha 1-3-galactose epitopes. *J Exp Med*, 166:419, 1987.
30. Almeida IC, Ferguson MA, Schenkman S, Travassos LR. Lytic anti-alpha-galactosyl antibodies from patients with chronic Chagas' disease recognize novel O-linked oligosaccharides on mucin-like glycosyl-phosphatidylinositol-anchored glycoproteins of *Trypanosoma cruzi*. *Biochem J*, 304:793, 1991.
31. Almeida IC, Milani SR, Gorin PA, Travassos LR. Complement-mediated lysis of *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes by human anti-alpha-galactosyl antibodies. *J Immunol*, 146:2394, 1991.
32. Gazzinelli RT, Pereira ME, Romanha A, Gazzinelli G, Brener Z. Direct lysis of *Trypanosoma cruzi*: a novel effector mechanism of protection mediated by human anti-gal antibodies. *Parasite Immunol*, 13:345, 1991.
33. Morgan J, Dias JC, Gontijo ED, Bahia-Oliveira L, Correa-Oliveira R, Colley DG, Powell MR. Anti-*Trypanosoma cruzi* antibody isotype profiles in patients with different clinical manifestations of Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg*, 55:355, 1996.
34. Morgan J, Colley DG, Pinto Dias JC, Gontijo ED, Bahia-Oliveira L, Correa-Oliveira R, Powell MR. Analysis of anti-*Trypanosoma cruzi* antibody isotype specificities by western blot in sera from patients with different forms of Chagas' disease. *J Parasitol*, 84:641, 1998.
35. Mineo JR, Rocha A, Costa-Cruz JM, da Silva AM, Silva DA, Gonçalves-Pires MD, Lopes ER, Chapadeiro E. Total and specific anti-*Trypanosoma cruzi* immunoglobulin E in pericardial fluid samples from patients with chronic Chagas disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 90:578, 1996.
36. Umezawa ES, Shikanai-Yasuda MA, Stolf AM. Changes in isotype composition and antigen recognition of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies from acute to chronic Chagas disease. *J Clin Lab Anal*, 10:407, 1996.
37. Tarleton RL, Grusby MJ, Postan M, Glimcher LH. *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*, 8:12, 1996.
38. Cuña WR, Cuña CR. Characterization of T cell clones from chagasic patients: predominance of CD8 surface phenotype in clones from patients with pathology. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 90:503, 1995.
39. Reis DD, Jones EM, Tostes S, Lopes ER, Gazzinelli G, Colley DG, McCurley TL. 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*, 48:637, 1993.
40. Reis DD, Jones EM, Tostes S, Lopes ER, Chapadeiro E, Gazzinelli G, Colley DG, McCurley TL. Expression of major histocompatibility complex antigens and adhesion molecules in hearts of patients with chronic Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg*, 49:192, 1993.
41. Laucella SA, Rottenberg ME, deTitto EH. Role of cytokines in resistance and pathology in *Trypanosoma cruzi* infection. *Rev Arg Microbiol*, 28:99, 1996.
42. Dutra WO, Martins-Filho OA, Caçado JR, Pinto-Dias JC, Brener Z, Gazzinelli G, Carvalho JF, Colley DG. Chagasic patients lack CD28 expression on many of their circulating T lymphocytes. *Scand J Immunol*, 43:88, 1996.
43. Ramos C, Lamoyi E, Feoli M, Rodriguez M, Perez M, Ortiz-Ortiz L. *Trypanosoma cruzi*: immunosuppressed response to different antigens in infected mouse. *Exp Parasitol*, 45:190, 1978.
44. Reed SG, Inverso JA, Roters SB. Heterologous antibody responses in mice with chronic *T. cruzi* infection: depressed T helper function restored with supernatants containing interleukin-2. *J Immunol*, 133:1558, 1984.
45. Reed SG, Larson CL, Speer CA. Suppression of cell-mediated immunity in experimental Chagas' disease. *Z Parasitenkd*, 52:11, 1977.
46. Harel-Bellan A, Joskowicz M, Fradelizi D, Eisen H. T lymphocyte function during experimental Chagas' disease: production of and response to interleukin-2. *Eur J Immunol*, 15:438, 1985.
47. Teixeira AR, Teixeira G, Macedo V, Prata A. Acquired cell-mediated immunodepression in acute Chagas' disease. *J Clin Invest*, 62:1132, 1978.
48. Kierszenbaum F, Lopez HM, Szein MB. *Trypanosoma cruzi* downregulates the production of interleukin-2, interferon-gamma, interleukin-4 and interleukin-5 by activated human lymphocytes. *J Parasitol*, 82:652, 1996.
49. Van Voorhis WC. Coculture of human peripheral blood mononuclear cells with *Trypanosoma cruzi* leads to proliferation of lymphocytes and cytokine production. *J Immunol*, 148:239, 1992.
50. Pivezdam MR, Russo DM, Burns JM, Jr., Skeiky YA, Grabstein KH, Reed SG. Characterization of responses of normal human T cells to *Trypanosoma cruzi* antigens. *J Immunol*, 150:916, 1993.
51. Bottasso OA, Ingledew N, Keni M, Morini J, Pividori JF, Rook GA, Stanford JL. Cellular immune response to common mycobacterial antigens in subjects seropositive for *Trypanosoma cruzi*. *Lancet*, 344:1540, 1994.
52. Lopes MF, da Veiga VF, Santos AR, Fonseca ME, DosReis GA. Activation-induced CD4+ T cell death by apoptosis in experimental Chagas' disease. *J Immunol*, 154:744, 1995.
53. Kalil J, Cunha-Neto E. Autoimmunity in Chagas disease cardiomyopathy: fulfilling the criteria at last? *Parasitol Today*, 12:396, 1996.
54. Kierszenbaum F. Chronic chagasic tissue lesions in the absence of *Trypanosoma cruzi*: a proposed mechanism. *Parasitol Today*, 12:414, 1996.
55. Levin MJ. In chronic Chagas disease, don't forget the parasite. *Parasitol Today*, 12:415, 1996.

56. Tostes Junior S, Lopes ER, Pereira FE, Chapadeiro E. Miocardiopatia chagásica crônica humana: estudo quantitativo de linfócitos de CD4+ e CD8+ nos exudatos inflamatórios. *Rev Soc Bras Med Trop*, 27:127, 1994.
57. Centurion-Lara A, Barrett L, Van Voorhis WC. Quantitation of parasitemia by competitive polymerase chain reaction amplification of parasite kDNA minicircles during chronic infection with *Trypanosoma cruzi*. *J Infect Dis*, 170:1334, 1994.
58. dos Santos RR, Rossi MA, Laus JL, Silva JS, Savino W, Mengel J. Anti-CD4 abrogates rejection and reestablishes long-term tolerance to syngeneic newborn hearts grafted in mice chronically infected with *Trypanosoma cruzi*. *J Exp Med*, 175:29, 1992.
59. Tarleton RL, Zhang L, Downs MO. "Autoimmune rejection" of neonatal heart transplants in experimental Chagas disease is a parasite-specific response to infected host tissue. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94:3932, 1997.
60. Bellotti G, Bocchi EA, de Moraes AV, Higuchi ML, Barbero-Marcial M, Sosa E, Esteves-Filho A, Kalil R, Weiss R, Jatene A, Pileggi F. In vivo detection of *Trypanosoma cruzi* antigens in hearts of patients with chronic Chagas' heart disease. *Am Heart J*, 131:301, 1996.
61. Davies JM. Molecular mimicry: can epitope mimicry induce autoimmune disease? *Immunol Cell Biol*, 75:113, 1997.
62. Cunha-Neto E, Duranti M, Gruber A, Zingales B, De Messias I, Stolf N, Bellotti G, Patarroyo ME, Pileggi F, Kalil J. Autoimmunity in Chagas disease cardiopathy: biological relevance of a cardiac myosin-specific epitope crossreactive to an immunodominant *Trypanosoma cruzi* antigen. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92:3541, 1995.
63. 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*, 98:1709, 1996.
64. Skeiky YA, Benson DR, Guderian JA, Sleath PR, Parsons M, Reed SG. *Trypanosoma cruzi* acidic ribosomal P protein gene family. Novel P proteins encoding unusual cross-reactive epitopes. *J Immunol*, 151:5504, 1993.
65. Ferrari I, Levin MJ, Wallukat G, Elies R, Lebesgue D, Chiale P, Elizari M, Rosenbaum M, Hoebeke J. Molecular mimicry between the immunodominant ribosomal protein P0 of *Trypanosoma cruzi* and a functional epitope on the human beta 1- adrenergic receptor. *J Exp Med*, 182:59, 1995.
66. Goin JC, Leiros CP, Borda E, Sterin-Borda L. Interaction of human chagasic IgG with the second extracellular loop of the human heart muscarinic acetylcholine receptor: functional and pathological implications. *Faseb J*, 11:77, 1997.
67. Sterin-Borda L, Leiros CP, Goin JC, Cremaschi G, Genaro A, Echague AV, Borda E. Participation of nitric oxide signaling system in the cardiac muscarinic cholinergic effect of human chagasic IgG. *J Mol Cell Cardiol*, 29:1851, 1997.

Lista de Autores

ACHILÉA LISBOA BITTENCOURT

Professora de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA.

ADEMIR ROCHA

Professor Titular, Faculdade de Medicina de Uberlândia, Uberlândia, MG.

ALEJANDRO O. LUQUETTI

Professor Adjunto, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

ÁLVARO VALENTIM LIMA SARABANDA

Médico da Seção de Cardiologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, SP.

ANIS RASSI

Professor Emérito, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

ANIS RASSI JUNIOR

Professor, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

ANTONIO CARLOS SILVEIRA

Coordenador de Controle de Doenças Transmitidas por Vetores, Fundação Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, Brasília, DF.

ANTONIO LUIZ PINHO RIBEIRO

Professor Adjunto, Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

CLAUDIA IDA BRODSKYN

Professora Adjunta, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA.

EDÉCIO CUNHA-NETO

Pesquisador, Laboratório de Imunologia, Instituto do Coração, USP, São Paulo, SP.

EDIMAR A. BOCCHI

Professor Livre-Docente, Laboratório de Imunologia, Instituto do Coração, USP, São Paulo, SP.

EDISON REIS LOPES

Professor Titular, Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG.

ELOI S. GARCIA

Pesquisador Titular, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ.

GABRIEL A. SCHMUÑIS

Oficina Sanitária Panamericana, Organização Mundial de Saúde, Washington, DC – USA.

GEORGE A. DOS REIS

Professor Titular, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

GUSTAVO GABRIEL RASSI

Chefe do Setor de Imunologia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

HÉLIO MOREIRA

Professor Titular, Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

ITALO A. SHERLOCK

Pesquisador Titular, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (FIOCRUZ), Salvador, BA.

J. ROMEU CANÇADO

Professor Emérito, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

JOÃO CARLOS PINTO DIAS

Professor Titular, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

JOFFRE MARCONDES DE REZENDE

Professor Emérito, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

JORGE KALIL

Professor Titular, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

JOSÉ ANTONIO MARIN-NETO

Professor Titular, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, SP.

JOSÉ FRANCO DA SILVEIRA

Professor Titular, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP.

MANOEL BARRAL-NETTO

Pesquisador Titular, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (FIOCRUZ), Salvador, BA.