

## Hipótese Unificada sobre a Patogênese da Cardiopatia Chagásica Crônica. Implicações Terapêuticas

Marcos A. Rossi, Reinaldo B. Bestetti

Ribeirão Preto, SP

A doença de Chagas (tripanosomíase americana) é causada pela transmissão do protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*<sup>1</sup>. É uma das mais importantes causas de morbidade e mortalidade em muitos países latino-americanos e em áreas desde o sul dos Estados Unidos da América até a Argentina. Tendo em vista que vários milhões de imigrantes de países onde a doença é endêmica vivem atualmente nos Estados Unidos e Europa e estudos epidemiológicos revelam uma significativa prevalência de infecção nessa população, tem havido uma recente explosão de interesse no estudo da doença de Chagas em todo o mundo<sup>2,3</sup>. As mais importantes questões estão relacionadas com o diagnóstico, a patogênese e o tratamento, a transmissão do parasita por transfusão sanguínea ou pelo transplante de órgãos, o diagnóstico de laboratório e a reativação da doença em condições de imunossupressão, tais como em pacientes com síndrome de imunodeficiência adquirida e leucemia ou após o transplante de órgãos. A doença é caracterizada por três fases: aguda, indeterminada e crônica<sup>4,5</sup>. O coração é o órgão mais grave e freqüentemente envolvido. O grau de envolvimento do coração durante a fase aguda varia de leve (assintomático ou oligossintomático) à grave. As formas graves podem ser fatais, mas essa complicação é infreqüente, ocorrendo em apenas 3-5% dos casos. A cardiopatia chagásica crônica é a mais importante e freqüente manifestação da doença de Chagas, afetando 10 milhões de pessoas na América Latina<sup>6</sup>, a maior incidência observada na população de 15 a 50 anos de idade<sup>4,5</sup>.

Na fase crônica, 3 estágios podem ser distinguidos. No estágio inicial o paciente pode ser assintomático ou apresentar sintomas relacionados a distúrbios de ritmo. No estágio intermediário as manifestações clínicas persistem ou se intensificam, e pode ser detectado aumento do coração, de grau leve a moderado. No estágio final as mais significativas manifestações clínicas incluem insuficiência cardíaca congestiva, fenômenos tromboembólicos, arritmias graves e morte súbita<sup>5,7-10</sup>. Alterações da função cardíaca, anormalidades de condução do estímulo elétrico intracardíaco e episódios

de arritmias ventriculares e síncope predisõem os pacientes chagásicos à morte súbita, um risco constante em qualquer fase da doença<sup>9,10</sup>. A fase indeterminada é o período intermediário que separa as fases aguda e crônica, usualmente de longa duração (10-30 anos), pouco se conhecendo sobre suas manifestações clínico-patológicas.

As principais alterações patológicas refletem a importância do envolvimento cardíaco na doença de Chagas<sup>4,7,11,12</sup>. Na fase aguda, o coração é globoso e flácido. Microscopicamente, observam-se focos de necrose miocitolítica e degeneração miocelular com intenso infiltrado inflamatório linfomononuclear associados a fenômenos exsudativos e parasitismo de miofibras. A maioria dos corações com cardiopatia chagásica crônica apresenta acentuada alteração no tamanho e na forma, embora alguns corações aparentem ser normais no tamanho e na forma. Todos os graus de aumento do coração podem ser detectados, principalmente comprometendo as câmaras direitas, a dilatação normalmente predominando sobre a hipertrofia. Mais de 50% dos corações chagásicos apresentam uma lesão peculiar caracterizada por adelgaçamento e protusão da região apical do ventrículo esquerdo (VE), menos freqüentemente do ventrículo direito (VD), que recebe várias denominações, tais como aneurisma apical, lesão atrófica apical, adelgaçamento apical. Adelgaçamentos parietais semelhantes podem ocorrer nas paredes livres dos VD e VE. A substituição adiposa e fibroadiposa do miocárdio do VD, particularmente na região apical, são freqüentemente observados, ocasionalmente associados com a protusão da região apical. Essa atenuação do miocárdio envolve principalmente o subepicárdio, embora toda a parede livre do VD possa estar envolvida. A trombose do aneurisma é achado comum. No entanto, mesmo na ausência de lesão aneurismática, é comum a observação de extensa trombose mural das porções inferiores dos VD e VE dilatados. A presença de trombos explica a ocorrência muito freqüente de fenômenos tromboembólicos nas circulações pulmonar e sistêmica<sup>13</sup>.

Na cardiopatia chagásica crônica, a micropatologia revela miocardite fibrosante crônica focal e difusa. Focos de micronecrose miocárdica estão presentes em associação com um infiltrado inflamatório composto predominantemente de células linfomononucleares e com fibrose intersticial. Essa fibrose intersticial, um dos mais proeminentes achados<sup>14</sup>, representa uma remodelagem da matriz colágena, causa de progressiva descompensação

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Correspondência: Marcos A. Rossi - Depto de Patologia

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP - CEP 14049-900 - Ribeirão Preto, SP

Recebido para publicação em 19/7/94

Aceito 7/11/94

sação miocárdica pela diminuição de débito cardíaco combinada com um aumento da sobrecarga de trabalho decorrente de rigidez miocárdica<sup>15</sup>. O sistema de condução mostra as mesmas lesões inflamatórias e fibróticas encontradas no miocárdio. Parasitas são muito raramente encontrados na fase crônica da doença. Além disso, pode ser sempre demonstrada a destruição do sistema nervoso parassimpático do coração.

A patogênese da cardiopatia chagásica crônica, todavia, ainda não está totalmente compreendida. Diferentes mecanismos têm sido propostos.

### Lesão direta do tecido pelo *Trypanosoma cruzi*

As lesões poderiam ser decorrentes da invasão continuada do miocárdio, da liberação local de toxinas, ou ambas. Os níveis insignificantes de parasitemia e o achado ocasional de pseudocistos parasitários são argumentos contra a hipótese de que as lesões miocárdicas são diretamente correlacionadas com a presença de parasitas. Todavia, antígenos parasitários têm sido detectados nos infiltrados inflamatórios na fase crônica da infecção em camundongos<sup>16</sup> e no homem<sup>17</sup>. Essas observações dão suporte à hipótese de que uma persistente estimulação antigênica teria papel na patogênese das alterações miocárdicas na fase crônica.

### Alterações autonômicas

A cardiomiopatia crônica da doença de Chagas poderia ser uma forma neurogênica de cardiopatia conseqüente à destruição das células ganglionares parassimpáticas do coração. Estudos histológicos têm demonstrado de modo inequívoco uma acentuada desnervação das células ganglionares do sistema nervoso intrínseco do coração em casos de doença de Chagas<sup>7,18</sup>. A extensão dessa desnervação não tem sido detectada em qualquer outra cardiopatia até agora estudada, embora um número significativo de cardioneuropatias tenha sido descrito<sup>19</sup>. É geralmente aceito que a maioria das células ganglionares do sistema nervoso intrínseco do coração pertence ao sistema parassimpático. O principal dilema da teoria neurogênica repousa na incerteza acerca de seu mecanismo fisiopatológico. Está bem demonstrado uma relação estreita entre tônus autonômico alterado e morte súbita cardíaca<sup>20,21</sup>. Por outro lado, taquiarritmias ventriculares malignas (taquicardia ventricular, fibrilação ventricular) são causas importantes de morte súbita entre pacientes com cardiopatia chagásica<sup>9,10</sup>. A destruição da inervação parassimpática poderia induzir um aumento do tônus simpático que poderia ter tanto um efeito direto na arritmogênese, via alterações das propriedades eletrofisiológicas do coração ou um efeito indireto, via outros mecanismos, tais como demanda aumentada de oxigênio

induzida por catecolaminas, aumento do tônus vasomotor coronariano e aumento da adesividade plaquetária<sup>21</sup>. Além disso, o possível predomínio simpático causaria hipoperfusão e conseqüente necrose miocitolítica. Com efeito, degeneração miofibrilar e extensa perda de elementos contráteis têm sido demonstradas no miocárdio atrial de corações de macacos privados da inervação parassimpática<sup>22</sup>.

### Mecanismos auto-imunes

A participação de mecanismos auto-imunes tem sido postulada na gênese da miocardite crônica da doença de Chagas<sup>23-25</sup>. A infiltração linfomononuclear na ausência de parasitas detectáveis no tecido cardíaco lesado e a demonstração que células T sensibilizadas de camundongos, cronicamente infectados, capazes de transferir miocardite para recipientes normais<sup>26</sup>, constituem forte sugestão do envolvimento de mecanismos auto-imunes na patogênese da miocardite chagásica crônica. A autoimunidade órgão-específica é muitas vezes relacionada à infecções causadas por vírus, bactérias e parasitas<sup>27-29</sup>. Todavia, o estabelecimento da real natureza auto-imune da miocardite da doença de Chagas dependia de um modelo experimental que pudesse fornecer evidências, apoiando a hipótese e permitindo uma visão segura de manipulações imunológicas para a avaliação de linhagens de linfócitos que poderiam estar implicadas na geração da doença. Isto foi conseguido em recente investigação para se estudar *in vivo* a auto-reatividade contra tecido cardíaco singênico, transplantando corações recém-nascidos no pavilhão auditivo de camundongos cronicamente infectados pelo *T. cruzi*<sup>30</sup>. Os camundongos cronicamente infectados foram capazes de rejeitar transplantes cardíacos singênicos em 20-30 dias. Essa rejeição de corações singênicos em animais adultos infectados era comparável à situação alogênica. Essas observações contrastaram com aquelas de órgãos transplantados em recipientes singênicos normais, que podem persistir íntegros e apresentar batimentos por até 1 ano<sup>31</sup>. O estudo histológico do tecido cardíaco transplantado em camundongos chagásicos revelou intenso infiltrado inflamatório mononuclear associado à necrose miocitolítica, semelhante ao padrão obtido quando corações são transplantados em condições alogênicas. Além disso, a depleção de linfócitos T CD4, mas não de CD8, antes do transplante de coração, aboliu a rejeição. Ou seja, os transplantes sobreviveram em camundongos, cronicamente infectados, tratados com anticorpo monoclonal anti-CD4. Finalmente, linfócitos T CD4 de camundongos cronicamente infectados injetados *in situ* foram capazes de promover rejeição, enquanto células T CD8 e não-T eram inefetivas. Esses resultados, analisados em conjunto, sugerem que a autoimunidade é o principal mecanismo implicado na rejeição de tecidos

cardíacos singenéticos transplantados na orelha de camundongos cronicamente infectados com *T. cruzi*. Os resultados estabelecem que a auto-reatividade está restrita ao compartimento de células T CD4, de modo claramente diferente da rejeição do transplante de pele em condições alogênicas, atribuída aos linfócitos T CD4 e CD8<sup>32,33</sup>. Por outro lado, de acordo com outros modelos experimentais de doenças auto-imunes órgão-específicas, nos quais as células T CD4 desempenham o papel principal na indução de lesões teciduais<sup>34,35</sup>. A análise das populações de linfócito T nos infiltrados inflamatórios na doença de Chagas tem mostrado que as células T representam cerca de 5% do total de células mononucleares presentes nos infiltrados inflamatórios crônicos, a maioria delas CD4<sup>36</sup>. Todavia, embora a resposta celular seja dependente de linfócitos T, os macrófagos parecem ser as mais importantes células efetoras na gênese da miocardite chagásica crônica<sup>37</sup>, onde constituem a maioria das células do infiltrado celular<sup>24,37,38</sup>. É sabido que os linfócitos T CD4 modulam a produção de anticorpos<sup>39</sup>, a ativação de macrófagos<sup>40</sup> e a lesão de nervos periféricos<sup>41</sup> e que promovem o recrutamento de monócitos para os tecidos para se constituir infiltrados inflamatórios<sup>42</sup>.

Uma questão suscitada a partir desses dados refere-se a ativação dos linfócitos T CD4 auto-reativos. Esta poderia resultar de uma resposta reativa cruzada entre antígenos de miocárdio e de *T. cruzi*<sup>43</sup> ou poderia depender de uma sensibilização aos antígenos parasitários<sup>44,45</sup>. Considerando que a ativação policlonal de células T e B seria um componente importante durante a fase aguda da infecção pelo *T. cruzi*, tem sido proposto que tal ativação teria um importante papel no desenvolvimento da doença auto-imune *a posteriori*<sup>46</sup>. Até agora, apoiamos a hipótese de que extensa lesão tissular e disfunção imunológica durante a fase aguda, mais do que de reatividade cruzada entre antígenos próprios e de *T. cruzi*, seriam absolutamente necessárias para o aparecimento, na fase crônica, da auto-imunidade órgão-específica.

Nesse contexto, um importante aspecto a ser considerado está relacionado aos fatores que contribuem para a progressão da fase aguda para a fase indeterminada da doença de Chagas e aos fatores implicados na progressão da fase indeterminada para a fase crônica. Tem sido proposto que um dano na rede imunológica supressora poderia ter um papel na patogênese das lesões miocárdicas, tanto na fase aguda como na crônica<sup>47,48</sup>.

### Alterações microvasculares

Tem sido postulado, recentemente, que alterações microvasculares desempenhariam um papel significativo na patogênese da cardiomiopatia crônica da doença de Chagas<sup>8,49-53</sup>. A natureza focal da necrose miocitolítica

associada à fibrose intersticial e infiltrado inflamatório mononuclear na miocardite chagásica crônica sugere que a microcirculação poderia estar envolvida, isto é, o local primário de doença poderia ser a um nível capaz de causar necrose focal de células em grupos discretos.

Trombose plaquetária em pequenos vasos coronarianos epi e intramiocárdicos e evidência histoquímica da presença de focos de hipóxia miocárdica foram observadas em camundongos cronicamente infectados com a cepa Colombia de *T. cruzi*<sup>49,50</sup>. Essas constatações resultaram na proposição de que as conseqüências da infecção convergiriam sobre a microcirculação cardíaca, resultando em áreas de hipoperfusão, focos de necrose miocitolítica, fibrose intersticial e hipertrofia das células musculares cardíacas circunjacentes. Desde então, numerosas alterações na microcirculação coronariana têm sido demonstradas na doença de Chagas, tanto humana quanto experimental. A ocorrência de constricção vascular focal, formação de microaneurismas e dilatação e proliferação de microvasos foi demonstrada na infecção aguda pelo *T. cruzi* em camundongos<sup>51</sup> de modo semelhante ao observado em outras cardiomiopatias congestivas<sup>54-56</sup>. Essas alterações microvasculares foram observadas precocemente na evolução da doença de Chagas experimental, antes mesmo do aparecimento de degeneração ou fibrose miocárdicas. O estudo ultra-estrutural de corações chagásicos humanos demonstrou acentuado espessamento da membrana basal dos capilares miocárdicos (até 20 vezes a espessura normal)<sup>57,58</sup> semelhante ao espessamento, homogêneo ou em múltiplas camadas, observado nas membranas basais de capilares de pacientes com diabetes mellitus<sup>59</sup> e mixe-dema<sup>60</sup>, em camundongos KK com cardiomiopatia de natureza genética associada ao diabetes mellitus<sup>61</sup> e em ratos com cardiomiopatia diabético-hipertensiva experimentalmente induzida<sup>62</sup>. A administração crônica de verapamil, droga bloqueadora dos canais de cálcio, produziu, através de sua ação vasodilatadora nas fibras musculares lisas e de seu efeito inibitório sobre a agregação plaquetária<sup>54,63</sup>, redução significativa na inflamação e fibrose miocárdicas em camundongos infectados pelo *T. cruzi*, além de uma taxa de mortalidade 10 vezes menor durante o período de observação de 70 dias<sup>64</sup>. Estudos *in vitro* demonstraram disfunção das células endoteliais relacionada à infecção pelo *T. cruzi*, com conseqüente aumento da reatividade plaquetária<sup>65</sup>. A interação entre plaquetas e endotélio lesado ou superfície subendotelial poderia estimular a ativação de plaquetas com subseqüente produção de tromboxana A2 derivado das plaquetas. Em apoio a essas observações, demonstraram-se níveis plasmáticos elevados de tromboxana A2 em camundongos infectados pelo *T. cruzi*, o que, provavelmente, contribuiria para um aumento de agregação plaquetária e de espasmo microvascular focal<sup>65</sup>. Estudos cintilográficos recentes demonstraram significativa diminuição da perfusão

miocárdica, provável conseqüência de isquemia microvascular, em pacientes chagásicos crônicos com cardiopatia dilatada<sup>66,67</sup> e em corações de camundongos após 15 e 30 dias de infecção pelo *T. cruzi*<sup>53</sup>.

## Hipótese

As evidências dos estudos sobre a cardiopatia chagásica no homem e em animais de experimentação sugerem que a doença cardíaca ocorre como uma conseqüência de vários processos fisiopatológicos após a infecção pelo *T. cruzi* interagindo com fatores não identificados do hospedeiro (fig. 1). O desenvolvimento da miocardite fibrosante crônica está relacionado à necrose celular focal progressiva e acumulativa, associada à fibrose intersticial reparativa e reacional e hipertrofia miocitária circunjacente. Esses processos seriam iniciados e perpetuados por alterações na microcirculação cardíaca e por fatores auto-ímmunes<sup>68</sup>. O distúrbio autonômico e/ou a miocardite fibrosante crônica e a disfunção ventricular poderiam atuar como fatores predisponentes a um maior risco de morte cardíaca súbita.

## Implicações terapêuticas

Baseado nessa hipótese, várias estratégias terapêuticas potenciais podem ser propostas. As drogas  $\beta$ -bloqueadoras poderiam ser úteis no reestabelecimento do equilíbrio autonômico do coração, diminuindo a prevalência de arritmias malignas<sup>69</sup> e, possivelmente, a ocorrência de morte súbita. Além disso, poderiam manter uma adequada perfusão vascular pela modulação do tônus vasomotor coronariano<sup>21</sup>, prevenindo, desse modo, o desenvolvimento dos focos de micronecrose. Os bloqueadores de canais de cálcio poderiam atuar na prevenção da hipoxia tissular devido ao seu efeito vasodilatador e ao seu efeito anti-agregante plaquetário<sup>54,63</sup>. Os inibidores da enzima conversora de angiotensina poderiam normalizar o equilíbrio autonômico cardíaco pela redução da atividade simpática decorrente do bloqueio da formação de angiotensina II ao nível dos centros cardiovasculares cerebrais<sup>70</sup>. Além disso, poderiam agir pela ação inibitória sobre o efeito vasoconstrictor da angiotensina<sup>71</sup>. Outros mecanismos de ação dos inibidores da enzima conversora incluem: ação anti-inflamatória, provavelmente através da inibição da síntese de prostaglandinas pelas células endoteliais, dos ativadores do plasminogênio ou da bradicinina<sup>72</sup>, ação anti-fibrosante<sup>73-75</sup>, ação sobre a resposta imunológica<sup>76-78</sup>, ação benéfica sobre a mionecrose<sup>79</sup> e ação anti-oxidante<sup>80</sup>. O uso de terapia imunossupressora para amenizar a miocardite fibrosante crônica é ainda uma questão em discussão. O uso de corticosteróides orais poderia promover a reativação da infecção pelo *T. cruzi*<sup>81</sup>. Por outro lado, a ciclosporina poderia ser útil no controle da reatividade au-

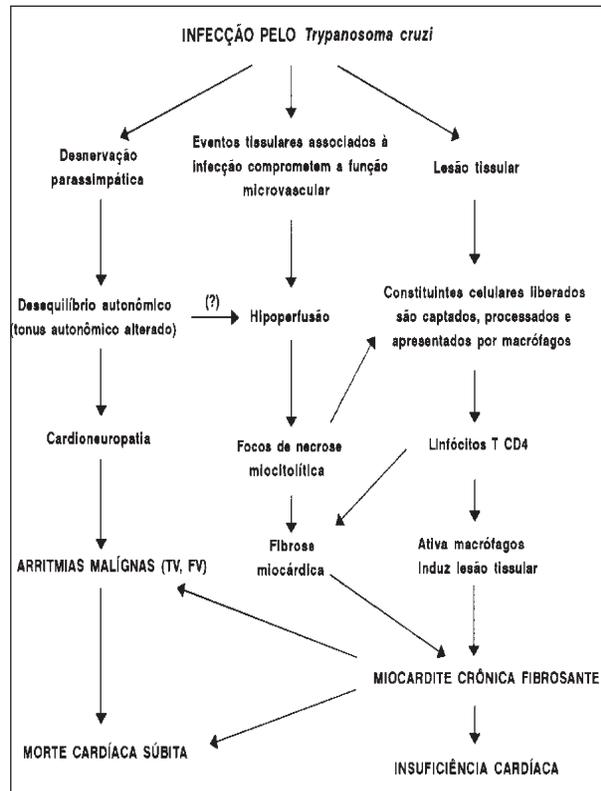


Fig. 1 - Representação diagramática de uma hipótese unificada sobre a patogênese da cardiopatia chagásica crônica.

to-ímmune pelo efeito inibitório sobre a liberação de linfocinas, sem induzir a reagudização da infecção<sup>82</sup>. Finalmente, o tratamento com anticorpos monoclonais anti-CD4, visando o restabelecimento de uma tolerância tecido-específica crônica, poderia ser da maior importância.

## Referências

1. World Health Organization Expert Committee - Chagas' disease. In: World Health Organization Technical Report Series 697. Geneva: WHO. 1984: 50-5.
2. Rossi L, Maturri L - Cardiomiopatia chagásica. Aggiornamento istopatológico. Suppl Med d' Italia. 1994; 10: 87-90.
3. Kirchhoff LV - American trypanosomiasis (Chagas' disease) - a tropical disease now in the United States. N Engl J Med 1993; 329: 639-43.
4. Köberle F - Chagas' heart disease. Pathology. Cardiologia 1968; 52: 82-90.
5. Puigbo JJ - Chagas' heart disease. Clinical aspects. Cardiologia 1968; 52: 91-6.
6. Bestetti RB, Santos CRF, Machado OB Jr et al - Clinical profile of patients with Chagas' disease before and during sustained ventricular tachycardia. Int J Cardiol 1990; 29: 39-45.
7. Köberle F - Chagas' disease and Chagas' syndromes: the pathology of American trypanosomiasis. Adv Parasitol 1968; 6: 63-116.
8. Rossi MA - Microvascular changes as a cause of chronic cardiomyopathy in Chagas' disease. Am Heart J 1990; 120: 233-6.
9. Chiale PA, Halpern MS, Nau GJ et al - Malignant ventricular arrhythmias in chronic chagasic myocarditis. PACE 1982; 5: 162-72.
10. Giniger AG, Retyk EO, Laiño RA, Sananes EG, Lapuente AR - Ventricular tachycardia in Chagas' disease. Am J Cardiol 1992; 70: 459-62.
11. Oliveira JSM, Mello-Oliveira JA, Frederique U Jr, Lima-Filho EC - Apical aneurysm of Chagas' heart disease. Br Heart J 1981; 46: 432-7.
12. Ribeiro-dos-Santos R, Rassi A, Köberle F - Chagas' disease. Antibiot Chemother 1981; 30: 115-34.
13. Oliveira JSM, Correa-de-Araujo RL, Navarro MA, Muccillo G - Cardiac thrombosis and thromboembolism in chronic Chagas' heart disease. Am J

- Cardiol 1983; 52: 147-51.
14. Rossi MA - The pattern of myocardial fibrosis in chronic Chagas' heart disease. *Int J Cardiol* 1991; 30: 335-40.
  15. Mello-Oliveira JA, Oliveira JSM, Köberle F - Pathologic anatomy of the His-Tawara system and electrocardiographic abnormalities in chronic Chagas' heart disease. *Arq Bras Cardiol* 1972; 25: 17-25.
  16. Ben Younès-Chennoufi A, Hontebeyrie-Joskowicz M, Tricottet V, Eisen H, Reynes M, Said G - Persistence of *Trypanosoma cruzi* antigens in the inflammatory lesion of chronically infected mice. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1988; 82: 77-83.
  17. Higuchi ML, Brito T, Reis MM et al - Correlation between *Trypanosoma cruzi* parasitism and myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagasic myocarditis: light microscopy and immunohistochemical findings. *Cardiovasc Pathol* 1993; 2: 101-6.
  18. Oliveira JSM - A natural model of intrinsic heart nervous system denervation: Chagas' cardiopathy. *Am Heart J* 1985; 110: 1092-8.
  19. James TN - Primary and secondary cardiomyopathies and their functional significance. *J Am Coll Cardiol* 1983; 2: 983-1002.
  20. Schwartz PJ, La Rovere MT, Vanoli E - Autonomic nervous system and sudden cardiac death. Experimental basis and clinical observations for post-myocardial infarction risk stratification. *Circulation* 1992; 85(Suppl 1): 1-77-191.
  21. Wharton JM, Coleman RE, Strauss HC - The role of autonomic nervous system in sudden cardiac death. *Trends Cardiovasc Med* 1992; 2: 65-71.
  22. Wong WC, Yick TY, Ling EA - Ultrastructure of the chronically vagotomized atrial myocardium in the monkey (*Macaca fascicularis*). *Histol Histopath* 1989; 4: 359-66.
  23. Santos-Buch CA, Acosta AM - Pathology of Chagas' disease. In: Tizard I, ed. *Immunology and Pathogenesis of Trypanosomiasis*. Boca Raton, Fla: CRC Press Inc; 1985: 145-84.
  24. Ribeiro-dos-Santos R, Rossi MA - *Imunopatologia*. In: Cançado JR, Chuster M, eds - *Cardiopatia Chagásica*. Belo Horizonte, Fundação Carlos Chagas; 1985: 10-22.
  25. Kierszenbaum F - Autoimmunity in Chagas' disease. *J Parasitol* 1986; 72: 201-11.
  26. Laguens RP, Cabeza-Meckert P, Chambo G, Gelpi RJ - Chronic Chagas' disease in the mouse. II. Transfer of the heart disease by means of immunocompetent cells. *Medicina (Buenos Aires)* 1981; 40: 3.
  27. Smith HR, Steinberg AD - Autoimmunity: a perspective. *Annu Rev Immunol* 1983; 1: 175-210.
  28. Sinha AA, Lopez MT, Mc Devitt HO - Autoimmune disease: The failure of self tolerance. *Science* 1990; 248: 1380-8.
  29. Rose NR, Neumann DA, Herkowitz A - Autoimmune myocarditis: concepts and questions. *Immunol Today* 1991; 12: 253-5.
  30. Ribeiro-dos-Santos R, Rossi MA, Laus JL, Santana Silva J, 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* 1992; 175: 29-39.
  31. Rossi MA - Chronic hemodynamic unloading regulates the morphological development of newborn mouse hearts transplanted in the ear of isogenic adult mice. *Am J Pathol* 1992; 141: 183-92.
  32. Cobbold SP, Jayasuriya A, Nash A, Prospero TD, Waldmann H - Therapy with monoclonal antibodies by elimination of T-cell subsets in vivo. *Nature* 1984; 312: 548-51.
  33. Kitagawa S, Sato S, Mori S, Hamaoka T, Fujiwara H - Induction of anti-allo-class II tolerance by inactivation of CD8+ helper T cells, and reversal of tolerance through introduction of third-party helper T cells. *J Exp Med* 1990; 172: 105-14.
  34. Sakaguchi S, Sakaguchi N - Thymus and autoimmunity: transplantation of the thymus from cyclosporin A-treated mice causes organ-specific autoimmune disease in athymic mice. *J Exp Med* 1988; 167: 1479-85.
  35. Sakaguchi S, Sakaguchi N - Organ-specific autoimmune disease induced in mice by elimination of T cell subsets. V. Neonatal administration of cyclosporin A causes autoimmune disease. *J Immunol* 1989; 142: 471-80.
  36. Ben Younès-Chennoufi A, Said G, Durand A, Hontebeyrie-Joskowicz M - Cellular immunity to is mediated by helper T cells (CD4+). *Trans Roy Trop Med Hyg* 1988; 82: 84-9.
  37. Rossi MA - Myocardial damage in *Trypanosoma cruzi* myocarditis: a role for macrophages. *Can J Cardiol* 1990; 6: 293-8.
  38. Molina HA, Kierszenbaum F - A study of human myocardial tissue in Chagas' disease: a distribution and frequency of inflammatory cell types. *Int J Parasitol* 1987; 17: 1297-306.
  39. Minoprio P, Eisen H, Joskowicz M, Pereira P, Coutinho A - Suppression of polyclonal antibody production in *Trypanosoma cruzi*-infected mice by treatment with anti-L3T4 antibodies. *J Immunol* 1987; 139: 545-50.
  40. Russo M, Starobinas N - Macrophage activation and resistance to *Trypanosoma cruzi* infection. *Res Immunol* 1991; 142: 144-6.
  41. Hontebeyrie-Joskowicz M, Said G, Millon G, Marchall G, Eisen H - L3T4+ T cells able to mediate parasite-specific delayed-type hypersensitivity play a role in the pathology of experimental Chagas' disease. *Eur J Immunol* 1987; 17: 1027-33.
  42. Hontebeyrie-Joskowicz M - Immunoregulatory mechanisms and Chagas' disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1992; 87 (Suppl V): 101-3.
  43. Teixeira ARL, Teixeira L, Santos-Buch CA - The immunology of Chagas' disease. IV. The production of lesions in rabbits similar to those of chronic Chagas' disease in man. *Am J Pathol* 1975; 80: 163-77.
  44. Ribeiro-dos-Santos R, Hudson L - *Trypanosoma cruzi* binding of parasite antigens to mammalian cell membranes. *Parasite Immunol* 1980; 2: 1-10.
  45. Ribeiro-dos-Santos R, Pirmez C, Savino W - Role of autoreactive immunological mechanisms in chagasic carditis. *Res Immunol* 1991; 2: 134-7.
  46. Minoprio P, Itohara S, Heusser C, Tonegario S, Coutinho A - Immunobiology of murine T. cruzi infection: the predominance of parasite-nonspecific responses and the activation of TCRI T cells. *Immunol Rev* 1989; 112: 183-207.
  47. Andrade ZA, Andrade SG, Sadigursky M - Enhancement of chronic *Trypanosoma cruzi* myocarditis in dogs treated with low doses of cyclophosphamide. *Am J Pathol* 1987; 127: 467-73.
  48. Santana Silva J, Rossi MA - Intensification of acute *Trypanosoma cruzi* myocarditis in BALB/c mice pretreated with low doses of cyclophosphamide or gamma irradiation. *J Exp Path* 1990; 71: 33-9.
  49. Rossi MA, Gonçalves S, Ribeiro-dos-Santos R - Experimental *Trypanosoma cruzi* cardiomyopathy in BALB/c mice. The potential role of intravascular platelet aggregation in its genesis. *Am J Pathol* 1984; 114: 209-16.
  50. Rossi MA, Carobrez SG - Experimental *Trypanosoma cruzi* cardiomyopathy in BALB/c mice: histochemical evidence of hypoxic changes in the myocardium. *Br J Exp Pathol* 1985; 66: 155-60.
  51. Factor SM, Cho S, Wittner M, Tanowitz H - Abnormalities of the coronary microcirculation in acute murine Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34: 246-53.
  52. Morris SA, Tanowitz HB, Wittner M, Bilezikian JP - Pathophysiological insights into the cardiomyopathy of Chagas' disease. *Circulation* 1990; 82: 1900-9.
  53. Tanowitz HB, Morris SA, Factor SM, Weiss LM, Wittner M - Parasitic diseases of the heart. I: Acute and chronic Chagas' disease. *Cardiovasc Path* 1992; 1: 7-15.
  54. Factor SM, Minase T, Cho S, Dominitz R, Sonnenblick EH - Microvascular spasm in the cardiomyopathic Syrian hamster: a preventable cause of focal myocardial necrosis. *Circulation* 1982; 66: 342-54.
  55. Factor SM, Okun EM, Minase T - Capillary microaneurysms in the human diabetic heart. *N Engl J Med* 1980; 302: 384-8.
  56. Factor SM, Minase T, Cho S, Fein F, Capasso JM, Sonnenblick EH - Coronary microvascular abnormalities in the hypertensive-diabetic rat: a primary cause of cardiomyopathy? *Am J Pathol* 1984; 116: 9-20.
  57. Ferrans VJ, Milei J, Tomita Y, Storino RA - Basement membrane thickening in cardiac myocytes and capillaries in chronic Chagas' disease. *Am J Cardiol* 1988; 61: 1137-40.
  58. Sanchez JA, Milei J, Yu Z-X, Storins R, Wenthold R, Ferrans VJ - Immunohistochemical localization of laminin in the hearts of patients with chronic chagasic cardiomyopathy: relationship of thickening of basement membranes. *Am Heart J* 1993; 126: 1392-401.
  59. Williams JR, Kilo C - Capillary basement membranes in diabetes. *Diabetes* 1983; 32(Suppl 2): 96-100.
  60. Mc Fadden PM, Berenson GS - Basement membrane changes in myocardial and skeletal muscle capillaries in myxedema. *Circulation* 1972; 45: 808-14.
  61. Tomita Y - A histo-pathological study of the myocardial lesions in KK mice. With special reference to its causative factors and prevention of deteriorating the disease condition. *J Nippon Med School* 1984; 51: 601-14.
  62. Factor SM, Minase T, Bhan R, Wolinsky H, Sonnenblick EH - Hypertensive diabetic cardiomyopathy in the rat: ultrastructural features. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1983; 398: 305-17.
  63. Bonadonna G, Lechi C, Corradini P, Sinigaglia D, Togni PD, Mirosława G - Verapamil inhibits platelet aggregation by a calcium independent mechanism. *Thromb Haemost* 1986; 56: 308-10.
  64. Morris SA, Weiss LM, Factor S, Bilezikian JP, Tanowitz HB, Wittner M - Verapamil ameliorates clinical, pathological and biochemical manifestations of experimental chagasic cardiomyopathy in mice. *J Am Coll Cardiol* 1989; 14: 782-9.
  65. Tanowitz HB, Burns ER, Sinha KA et al - Enhanced platelet adherence and aggregation in Chagas' disease: a potential pathogenic mechanism for cardiomyopathy. *Am J Trop Med Hyg* 1990; 43: 274-81.

66. Hagar JM, Tubau JF, Rahimtoola SH - Chagas' heart disease in the USA: thallium abnormalities mimic coronary artery disease. *Circulation* 1991; 84(suppl): II-631.
67. Marin-Neto JA, Marzullo P, Marcassa C et al - Myocardial perfusion abnormalities in chronic Chagas' disease as detected by thallium-201 scintigraphy. *Am J Cardiol* 1992; 69: 780-4.
68. Mengel JO, Rossi MA - Chronic chagasic myocarditis pathogenesis: dependence on autoimmune and microvascular factors. *Am Heart J* 1992; 124: 1052-7.
69. Pratt CM, Yepsen SC, Bloom MGK, Taylor AA, Young JB, Quiñones MA - Evaluation of metoprolol in suppressing complex ventricular arrhythmias. *Am J Cardiol* 1983; 52: 73-9.
70. Ferrario CM - The renin-angiotensin system: importance in physiology and pathology. *J Cardiovasc Pharmacol* 1990; 15(Suppl 3): S1-S5.
71. Schelling P, Fischer H, Ganten D - Angiotensin and cell growth: a link to cardiovascular hypertrophy? *J Hypertens* 1991; 9: 3-15.
72. Fantone JC, Schrier D, Weingarten B - Inhibition of vascular permeability changes in rats by captopril. *J Clin Invest* 1982; 69: 1207-11.
73. Ward WF, Molteni A, Ts'ao C-H - Radiation-induced endothelial dysfunction and fibrosis in rat lung: modification of the angiotensin converting enzyme inhibitor C1242817. *Radiat Res* 1989; 117: 342-50.
74. Nagai M, Arino T, Tsuchiya M, Takeda N, Nagano M - The inhibitory effects of captopril on the growth of various cultured cells (abstract). *J Mol Cell Cardiol* 1992; 24(Suppl I): 244.
75. Rossi MA, Peres LC - Effect of captopril on the prevention and regression of myocardial cell hypertrophy and interstitial fibrosis in pressure overload cardiac hypertrophy. *Am Heart J* 1992; 124: 700-9.
76. Weinstock JV, Ehrinpreis MN, Boros DL, Gee JB - Effect of SQ14225, an inhibitor of angiotensin I converting enzyme, on the granulomatous response to *Schistosoma mansoni* eggs in mice. *J Clin Invest* 1981; 67: 931-6.
77. Martin MFR, McKenna F, Bind HA, Surraill KE, Dixon JS, Wright V - Captopril: a new treatment for rheumatoid arthritis? *Lancet* 1984; 1: 1325-7.
78. Smart YC, Gillies AHB, Waga SW, Carney SL, Smith AJ, Burton RC - Effects of captopril on circulating T lymphocyte subsets. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1987; 25: 389-91.
79. Rezkalla S, Kloner RA, Khatib G, Khatib R - Effect of delayed captopril therapy on left ventricular mass and myonecrosis during acute coxsackievirus murine myocarditis. *Am Heart J* 1990; 120: 1377-81.
80. Chopra M, Scott N, McMurray J et al - Captopril: a free radical scavenger. *Br J Clin Pharmacol*. 1989; 27: 396-9.
81. Bocchi EA, Bellotti G, Uip D et al - Long-term follow-up after heart transplantation in Chagas' disease. *Transplant Proc* 1993; 25: 1329-30.
82. Sinagra A, Riarte A, Lauricella M, Segura EL - Reactivation of chronic T. cruzi infection after immunosuppressive treatment by cyclosporine A and betametason. *Transplantation* 1993; 55: 1431-4.