

LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN LA INFECCIÓN AGUDA CON *TRYPANOSOMA CRUZI*

RITA L. CARDONI

Instituto Nacional de Parasitología Dr. M. Fatala Chabén (INP), Buenos Aires

Resumen La etapa aguda de las infecciones con *Trypanosoma cruzi* asociadas a altas parasitemias, se caracteriza por la presencia de infiltrados inflamatorios en varios tejidos, incluyendo el corazón y músculo esquelético, así como por el incremento de la producción de mediadores inflamatorios. Al mismo tiempo ocurre una activación generalizada de células fagocíticas que estaría relacionada tanto con los procesos inflamatorios como con la resistencia a la infección. Esta es una breve revisión sobre los mediadores inflamatorios que se producen *in vivo* y su relación con el daño tisular y con la respuesta inmune TH1.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*, mediadores inflamatorios, TH1

El *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la Enfermedad de Chagas, afecta a 16-18 millones de personas en una amplia área endémica¹ con gran densidad de población. En la Argentina, la alta prevalencia de la infección constituye un serio problema sanitario¹. Paradójicamente, esto se debe a que el *T. cruzi* ha evolucionado hasta establecer una buena relación con su huésped, como lo indican la baja proporción de las personas infectadas que presenta sintomatología clínica y el alto número de individuos crónicamente infectados, lo que dificulta el control de esta epidemia^{1, 2}. Los síntomas clínicos están relacionados con la reacción inflamatoria inducida por la infección, que puede producir graves alteraciones funcionales en varios órganos, principalmente en el miocardio. La respuesta inflamatoria es una parte importante de la defensa a microorganismos, pero ya que está íntimamente relacionada con la respuesta inmune efectora, está también implicada en manifestaciones de agresión tisular. En relación con este papel dual de la respuesta inflamatoria, se realizó una breve revisión acer-

ca de los mediadores inflamatorios producidos *in vivo* en la infección murina con *T. cruzi*. Los aspectos histopatológicos de la infección han sido descritos ampliamente^{3, 4}. En la etapa aguda, la presencia de infiltrados inflamatorios tisulares, que sería la etapa final de la reacción inflamatoria, depende de la presencia del timo⁵. Sin embargo, el tratamiento experimental con anticuerpos anti-linfocitos T CD4⁺ y/o CD8⁺ (marcadores de diferenciación 4 y 8), aunque en algunos casos la disminuye, no impide la aparición de las lesiones tisulares^{6, 7}.

El comienzo, curso y desenlace de la infección humana es muy variable. Esta variación se limita, en los modelos experimentales, utilizando cepas de ratones y parásitos definidas. De este modo, cada modelo experimental refleja una parte del amplio espectro con que se presenta la infección natural. Así, la mayoría de las infecciones en cepas de ratones susceptibles que desarrollan altos niveles de parasitemia en la etapa aguda, seguida del control de la infección, sería el cuadro que podría homologarse al observado en niños con Chagas agudo y a los cuales se refiere esta revisión. Estos fueron los modelos más estudiados y en los que se basan la mayor parte de nuestros conocimientos, tanto del mecanismo efector de defensa contra la infección como de la respuesta inflamatoria.

Recibido: 16-I-1996

Aceptado: 12-XI-1996

Dirección postal: Dra. Rita Cardoni, INP, Av. Paseo Colón 568, 1063 Buenos Aires, Argentina

Mecanismos efectores

Prácticamente todos los mecanismos inmunes efectores conocidos han sido asociados con la resistencia a la infección con *T. cruzi*^{8, 9}. En la fase aguda de la infección, se desarrolla una respuesta defensiva muy eficiente que involucra principalmente la activación de células fagocíticas¹⁰, la producción de interferón γ (IFN- γ)^{11, 12} y la generación de anticuerpos específicos¹³ con la cual colaboran los linfocitos T CD4⁺¹⁴. También las células CD8⁺ y NK («natural killer» o citotóxicas espontáneas) ejercen un efecto protector en la infección, que podría deberse a su capacidad citotóxica y/o a su capacidad de producir IFN- γ ^{14, 15}.

En los animales infectados, el incremento del número y de la actividad de células fagocíticas^{13, 16}, se acompaña del incremento de su capacidad tripanocida tanto *in vitro*^{17, 18} como *in vivo*³. La Tabla 1 incluye las actividades de los macrófagos incrementadas en la infección que podrían afectar en diferente proporción la destrucción intracelular del parásito.

In vitro, las células fagocíticas pueden destruir al parásito por medio de las especies reactivas del oxígeno³³ y del nitrógeno^{34, 35}, capaces de ejercer un rápido efecto tripanocida. Las especies reactivas del oxígeno comprenden principalmente al anión superóxido (O_2^-), al peróxido de hidrógeno (H_2O_2), al radical hidroxilo ($HO^\bullet$) y al oxíge-

no simple (1O_2), mientras que las del nitrógeno incluyen al óxido nítrico ($NO^\bullet$), así como al anión peroxinitrito (NO_3^-), que resulta de la interacción entre el $NO^\bullet$ y el anión superóxido^{36, 37, 38}. Aunque las especies de mayor capacidad oxidativa, y por ende de menor vida media, serían las de mayor importancia biológica, ellas son evaluadas por medida de compuestos de menor reactividad y mayor vida media. Así, generalmente se miden nitritos (NO_2^-) para evaluar a las especies reactivas del nitrógeno y al superóxido y/o peróxido de hidrógeno para evaluar a las del oxígeno³⁷. Además, puede medirse a un conjunto de especies reactivas por oxidación de un intermediario en los ensayos de quimioluminiscencia³⁶.

En el huésped infectado, el control del número de parásitos depende principalmente de la activación de la sintetasa de óxido nítrico de macrófagos inducible por IFN- γ (iNOS), y del consecuente incremento de la producción de $NO^\bullet$ ^{25, 26}. En presencia de IFN- γ , la coestimulación de macrófagos por otros mediadores, como el factor necrosante de tumores α (TNF- α)^{34, 39} y el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF)³¹, produce un incremento adicional de la producción de $NO^\bullet$ y de la destrucción intracelular de los parásitos.

Respuesta TH1/TH2 y la reacción inflamatoria

La respuesta inmune adquirida a infecciones puede ser TH1 o TH2, de acuerdo al perfil de citoquinas que se producen preferentemente. La respuesta TH1 se caracteriza principalmente por la liberación de IFN- γ , interleuquina 2 (IL-2) y linfoxina (o TNF- β), mientras que la IL-4, junto con la IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13, están asociadas con la respuesta TH2⁴⁰. Otras citoquinas, como la IL-3, el GM-CSF y el TNF- α pueden ser producidas tanto por células TH1 como TH2. Las respuestas TH1 y TH2 fueron caracterizadas para linfocitos T CD4⁺, tanto murinos como humanos, pero otras células también contribuyen con la producción de citoquinas TH1 y TH2. Así, las células NK y los linfocitos T CD8⁺ son importantes productores de IFN- γ , mientras que la IL-4 e IL-10 puede provenir de células B, mastocitos y macrófagos. De esta forma, aun en los ratones con Inmunodeficiencia Combinada Severa (SCID),

TABLA 1.- Actividades de macrófagos murinos que se incrementan durante la infección aguda con *Trypanosoma cruzi*

— Tripanostática ¹⁹ y tripanocida ¹⁷
— Fagocítica no específica <i>in vitro</i> ¹⁹ e <i>in vivo</i> ²⁰
— Expresión de moléculas de Clase II del Complejo Principal de Histocompatibilidad (Ia) ²¹
— Peroxidasas ^{13, 16}
— Dispersión en superficies de vidrio ^{7, 19}
— Liberación de:
Especies reactivas del oxígeno ^{7, 22, 23, 24} y del nitrógeno ^{25, 26}
Interleuquinas 1 y 10 (IL-1 e IL-10) ^{27, 28}
Factor necrosante de tumores (TNF) ²⁹
Factor estimulador de la formación de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) ^{30, 31}
Activador del plasminógeno ³²

donde no hay desarrollo de linfocitos T por un defecto en la recombinación genética de los receptores de antígeno⁴¹, puede desarrollarse una respuesta TH1 con producción de IFN- γ ²⁸. Varios factores intervienen para que se inicie preferencialmente uno u otro tipo de respuesta siendo de particular importancia la IL-12, producida por células fagocíticas, para la inducción de la respuesta TH1, y la IL-4, proveniente principalmente de mastocitos, para la respuesta TH2⁴². Las células TH1 están relacionadas con las reacciones inflamatorias mediadas por células, mientras que las TH2 se asocian con una fuerte respuesta de anticuerpos y respuestas alérgicas⁴⁰.

Las citoquinas producidas por células TH1 y TH2 son mutuamente inhibitorias para la diferenciación y las funciones efectoras del fenotipo recíproco y, en algunas infecciones, esta regulación cruzada ocasiona el predominio de una u otra respuesta⁴⁰.

En este contexto, en la etapa aguda de las infecciones con *T. cruzi* en el huésped susceptible se observa globalmente una respuesta TH1 con producción de IL-12⁴³ y de altas concentraciones de IFN- γ ¹¹. Enmarcan a esta respuesta una activación generalizada de células fagocíticas, que parece estar relacionada tanto con el proceso inflamatorio como con la resistencia a la infección, y la aparición de infiltrados inflamatorios en varios tejidos.

La producción de IFN- γ ^{11, 24} estimulada por la IL-12⁴³ sería el evento pivotal en el incremento de la producción de mediadores inflamatorios que ocurre en la infección aguda por *T. cruzi*. El efecto protector de esta respuesta se inhibe con la administración de anticuerpos anti-IL-12 o anti-IFN- γ ⁴³. Aunque el efecto más notable del IFN- γ es sobre las células fagocíticas, también incrementa la expresión de moléculas de superficie de Clase I y II codificadas por el complejo principal de histocompatibilidad (MHC), así como de moléculas de adhesión intercelular, en una gran variedad de tipos celulares^{41, 44, 45, 46}. De esta forma, el incremento en la expresión de la molécula de adhesión intercelular ICAM-1⁴⁷ en la infección experimental podría ser, otra consecuencia de los altos niveles de IFN- γ . Estos cambios en la superficie celular serían la base sobre la cual se forman los infiltrados inflamatorios tisulares.

Además, aumenta la producción de TNF²⁹, de la IL-1²⁷ y de especies reactivas del oxígeno^{7, 22, 24}

y del nitrógeno^{25, 26}. La gran activación de macrófagos y la respuesta inflamatoria que contribuye a la destrucción del parásito podría estar relacionada con el daño en miocardio y otros tejidos observado en la fase aguda. El TNF es un buen ejemplo de mediadores inflamatorios que, como las dos caras de una misma moneda, están relacionados con el daño tisular⁴⁸ y con la resistencia a la infección⁴⁹. La liberación de óxido nítrico no parece contribuir a la formación de infiltrados inflamatorios, que también ocurre cuando se inhibe su producción⁵⁰. Sin embargo, la generación de especies reactivas del oxígeno podría inducir daño tisular, análogamente a lo que se observa en otras patologías⁵¹. Este incremento de la producción de especies reactivas altamente oxidantes ocurre *in vivo* en la infección con *T. cruzi*, como lo refleja el aumento de los niveles plasmáticos de nitritos²⁶ así como de malondialdehído, un producto de la peroxidación lipídica generado por el stress oxidativo⁵².

Varios de los mediadores inflamatorios que aumentan durante la infección, listados en la Tabla 2, pueden provenir de la activación de células fagocíticas y/o de otras fuentes. Generalmente, la producción de estos mediadores es un

TABLA 2.— Incremento de producción de mediadores inflamatorios *in vivo* en la infección aguda experimental con *Trypanosoma cruzi*

Citoquinas:

- Interferón - γ (IFN- γ)^{11, 12, 24}
- Factor necrosante de tumores (TNF)²⁹
- Interleuquinas 1 y 6 (IL-1 e IL-6)^{27, 53, 54}
- Factor de transformación del crecimiento β (TGF- β)⁵⁵
- Factor estimulante de la formación de colonias (CSF)³⁰

Especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno:

- Peróxido de hidrógeno (H₂O₂)^{7, 24}
- Radicales libres^{22, 23}
- Nitritos^{25, 26}

Metabolitos del ácido araquidónico:

- Actividad plaquetaria⁵⁶
- Tromboxano B₂ en plasma⁵⁷

Proteínas de fase aguda:

- α -macroglobulina⁵⁸
- Amiloide P sérico (SAP)^{53, 58, 59}
- C₃⁵⁹

Activador del plasminógeno³²

proceso en cascada, resultado de interacciones celulares, por lo que es posible que haya un incremento de otros, además de los ya estudiados. La IL-1, IL-6 y el TNF contribuyen a incrementar las reacciones inflamatorias por estimulación de la liberación de proteínas de fase aguda en hepatocitos. En la etapa aguda de la infección aumentan los niveles de C3, de α -macro-globulina⁵⁸ y de amiloide P sérico^{53, 58, 59}, que es en el ratón la proteína homóloga a la proteína C-reactiva.

En la etapa aguda aumentan la agregación y la adherencia a células endoteliales de las plaquetas, así como la producción de metabolitos del ácido araquidónico^{56, 57}. También se observó un incremento de los niveles plasmáticos de tromboxano B₂, inducido por la infección, y de la producción de prostaciclina PGI₂ en células endoteliales infectadas *in vitro*⁵⁷. El incremento de la actividad plaquetaria podría contribuir al daño cardíaco, al producir espasmo y/o oclusión de la microcirculación coronaria⁶⁰.

Los metabolitos del ácido araquidónico, así como otros mediadores inflamatorios, podrían estar afectando la respuesta inmune, en particular la producción de IFN- γ . El factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el ácido araquidónico y sus productos derivados de la lipoxigenasa (leucotrienos B₄, C₄ y E₄) son capaces de inducir la producción de IFN- γ en células T^{61, 62} y podría contribuir de esta forma a potenciar la respuesta TH1.

Control de la respuesta

En los ratones susceptibles, el nivel de producción de algunos mediadores inflamatorios parece tener una relación directa con el número de parásitos en el organismo, siendo este el caso del IFN- γ ¹¹, el TNF²⁹, la IL-6⁵³ y las especies reactivas del oxígeno^{22, 48} y del nitrógeno^{25, 26}; cuando el huésped logra controlar la infección aguda disminuye tanto la producción de IFN- γ como la respuesta TH1. Además, se ha encontrado que la intensidad de los infiltrados inflamatorios tisulares, que sería el evento final de la respuesta, está relacionada con el parasitismo⁶ sugiriendo que factores activadores de los parásitos están directa o indirectamente relacionados con los eventos que desencadenan la respuesta inflamatoria. Análo-

gamente a lo observado en otras infecciones intracelulares, los parásitos podrían estimular la producción de IL-12 en las células fagocíticas infectadas⁴¹.

Al control debido a la menor estimulación por la disminución en el número de parásitos, se sumaría el control fisiológico de la respuesta, en el que podrían intervenir tanto la respuesta TH2 como la autorregulación de la respuesta TH1 por los mismos mediadores inflamatorios asociados a ella.

Si bien la respuesta es predominantemente TH1, también se produce un incremento de la producción de citoquinas TH2, como la IL-4⁶³, la IL-6⁵³ y la IL-10²⁸, así como de IgE^{64, 65}. En algunos casos, los niveles de IL-4 e IL-10 son muy altos en las etapas iniciales y se acompañan de un incremento de la susceptibilidad a la infección con *T. cruzi*, aparentemente causada por una inhibición de la activación de macrófagos^{28, 66}. Sin embargo, los estudios de la producción *in situ* de citoquinas revelaron que la resistencia se asocia a la rapidez con que comienza la producción de citoquinas TH1, ya que las citoquinas TH2 se producen también en los ratones resistentes⁶⁷. A diferencia de lo observado en Leishmaniasis, donde la producción de IL-10 inhibe a la de IFN- γ ⁶⁸, en la infección con *T. cruzi* la presencia de IL-10 no inhibe la producción de IFN- γ ²⁸. Esto podría estar relacionado con la diferencia en la fuente de IFN- γ en ambas infecciones. Tanto en los individuos normales como en los infectados con *Leishmania major*, los principales productores del IFN- γ y de IL-10 son los linfocitos T CD4⁺⁶⁸. En cambio, en la infección con *T. cruzi*, el IFN- γ proviene principalmente de células Thy⁺CD4⁺CD8⁺¹¹ y NK^{28, 69}, mientras que la IL-10, aunque es producida por linfocitos T y B, inicialmente proviene de macrófagos²⁸. La regulación de la población TH1 por la TH2 ha sido estudiada para las poblaciones de linfocitos T CD4⁺, pero no se conoce claramente cómo la respuesta TH2 podría llegar a inhibir a una respuesta TH1 en la que no intervienen predominantemente los linfocitos T, como ocurre en la infección con *T. cruzi*. En esta peculiar reacción inflamatoria, donde el eje central pasaría más por la producción de IFN- γ que por los linfocitos T CD4⁺, los infiltrados inflamatorios tisulares aunque son timo-dependientes⁵, también están presentes en ratones deficientes de linfocitos T CD4⁺ y/o CD8⁺^{6, 7}.

El factor de transformación del crecimiento β (TGF- β) es un inhibidor de la reacción inflamatoria inducida durante la respuesta TH1 que promueve la reparación celular⁷⁰. Sus niveles aumentan durante la infección⁵⁵, y podría proteger al huésped de la respuesta inflamatoria prolongada⁶⁹. Asimismo, los glucocorticoides, que regulan los niveles de IL-1⁷¹, y cuyos niveles aumentan en la infección con *T. cruzi*⁷², podrían llevar a cabo parte del control fisiológico de la respuesta TH1.

Tanto los antígenos de *T. cruzi*, como las inmunoglobulinas G provenientes de ratones infectados inducen un incremento de la producción de prostaglandina E₂ (PGE₂) en linfocitos normales^{73, 74}. Además, algunos resultados preliminares indican que las células fagocíticas activadas serían otra fuente de liberación de PGE₂ durante la infección⁷⁵. La PGE₂ es un inhibidor de la producción de IL-12⁷⁶, así como de citoquinas TH1⁷⁷, por lo cual podría jugar un papel en el control de la respuesta TH1.

Por otro lado, los mediadores inflamatorios, podrían estar relacionados con las alteraciones de la respuesta inmune observadas en la infección con *T. cruzi*, en particular con la inhibición de la respuesta proliferativa T y de la producción de IL-2⁷⁸, en la cual están implicadas las prostaglandinas⁷⁹. Además de las prostaglandinas^{80, 81}, la proliferación linfocitaria puede ser inhibida por otros mediadores inflamatorios producidos durante la infección, como el TGF- β ⁷⁰, el peróxido de hidrógeno⁸⁰, el óxido nítrico^{82, 83} y las proteínas de fase aguda⁵⁹.

Conclusiones

En su conjunto, estos hallazgos sugieren que en la infección aguda con *T. cruzi* se desarrolla una muy eficiente respuesta inmune efectora, predominantemente TH1, enmarcada en la reacción inflamatoria inducida por la infección. El elemento central de esta respuesta sería la estimulación de las células productoras de IFN- γ por la IL-12. El IFN- γ , que proviene principalmente de células Thy⁺CD4⁺CD8⁺ y NK, está implicado tanto en la resistencia a la infección como en la reacción inflamatoria. En la mayoría de los casos la autorregulación fisiológica de la respuesta TH1 llevaría al establecimiento de un duradero equilibrio huésped-parásito. En base a lo que actualmente

conocemos, este control sería llevado a cabo más por la disminución de los parásitos y por los mediadores asociados a la respuesta TH1 que a la respuesta TH2. Sin embargo, en algunos casos la liberación de mediadores inflamatorios podría tener serias consecuencias en la inducción y/o amplificación del daño tisular. Esto podría deberse tanto a diferencias en el tipo de respuesta evocada como a fallas en su regulación.

Este incremento de la producción de mediadores inflamatorios que intervienen en diferente grado en la resistencia a la infección y en el desarrollo de procesos inflamatorios, dejaría abierta la posibilidad de disminuir selectivamente la producción de alguno de ellos para impedir el daño tisular sin disminuir la resistencia a la infección. Para ello sería interesante la exploración del efecto de las drogas utilizadas en el tratamiento de procesos inflamatorios no infecciosos, campo en el que existe un amplio desarrollo. Un buen intento en este sentido fue el realizado por Andrade y col. quienes, utilizando el suplemento del corticoide Betametasona en el cuadro agudo de la Enfermedad de Chagas, lograron mejorar los efectos del tratamiento tripanocida con Nifurtimox⁸⁴.

Los estudios sobre liberación de mediadores inflamatorios en enfermedades parasitarias son muy limitados. La intención de esta revisión es la de ayudar a observar esta cara tan poco considerada de las infecciones parasitarias y contribuir a estimular el estudio de la producción de mediadores inflamatorios en relación con el daño tisular y con la modulación de la respuesta protectora.

Summary

Inflammatory response to acute Trypanosoma cruzi infection

The acute stage of *Trypanosoma cruzi* infections related to high parasitemia is characterized by the presence of inflammatory infiltrates in several tissues, including the heart and skeletal muscle, as well as by an increased production of inflammatory mediators, such as gamma-interferon (IFN- γ), tumor necrosis factor (TNF), interleukin-1 (IL-1) and oxygen and nitrogen reactive intermediates. The activation of phagocytic cells seems to be closely related to both the inflammatory process and host resistance to the infection. Herein, the inflammatory mediators pro-

duced *in vivo* and their relationship with the tissue damage and TH1 immune response are reviewed.

Bibliografía

- Schmuñis GA. La tripanosomiasis americana como problema de salud pública. En: La enfermedad de Chagas y el sistema nervioso. Organización Panamericana de la Salud. Washington, 1994; 3-31.
- Wisnivesky-Colli C, Ruiz AM, Gurtler RE, et al. Dynamics of transmission of *Trypanosoma cruzi* in a rural area of Argentina. IV Serologic, parasitologic and electrocardiographic study of the human population. *Medicina (Buenos Aires)* 1989; 49: 341-50.
- Taliaferro WH, Pizzi T. Connective tissue reactions in normal and immunized mice to a reticulotropic strain of *Trypanosoma cruzi*. *J Inf Dis* 1955; 96: 199-226.
- Andrade ZA, de Andrade SG. Patología. En: Brener Z, Andrade Z (eds). *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979; 199-248.
- Gonçalves da Costa SC, Lagrange PH, Hurtrel B, Kerr I, Alencar A. Role of T lymphocytes in the resistance and immunopathology of experimental Chagas' disease. *Ann Inst Pasteur Immunol* 1984; 135C: 317-32.
- Tarleton RL, Sun J, Zhang L, Postan M. Depletion of T-cell subpopulations results in exacerbation of myocarditis and parasitism in experimental Chagas' disease. *Inf Immun* 1994; 62: 1820-9.
- Ruso M, Starobinas N, Minoprio P, Coutinho A, Jaskowicz MH. Parasitic load increases and myocardial inflammation decreases in *Trypanosoma cruzi*-infected mice after inactivation of helper T cells. *Ann Inst Pasteur Immunol* 1988; 139: 225-36.
- Tarleton RL. Pathology of American trypanosomiasis. In: Warren KS (ed). *Immunology and molecular biology of parasitic infections*. London: Blackwell 1993; 64-71.
- Cardoni RL. Alteraciones de la respuesta inmune en la infección aguda con *Trypanosoma cruzi*. En: Milei J, Storino R (eds). *Enfermedad de Chagas*. Buenos Aires: Mosby/Doyma, 1994; 87-102.
- Nogueira N, Ellis J, Chaplan S, Cohn Z. *Trypanosoma cruzi*: *in vivo* and *in vitro* correlation between T-cell activation and susceptibility in inbred strains of mice. *Exp Parasitol* 1981; 51: 325-32.
- Nabors GS, Tarleton RL. Differential control of IFN- γ and IL-2 production during *Trypanosoma cruzi* infection. *J Immunol* 1991; 146: 3591-8.
- Plata F, García-Pons F, Wietzerbin J. Immune resistance to *Trypanosoma cruzi*: synergy of specific antibodies and recombinant interferon gamma *in vivo*. *Ann Inst Pasteur Immunol* 1987; 138: 397-408.
- Tarleton RL, Kuhn RE. Changes in cell population and immunoglobulin-producing cells in the spleen of mice infected with *Trypanosoma cruzi*: Correlation with parasite-specific antibody response. *Cell Immunol* 1983; 80: 392-404.
- Rottenberg ME, Cardoni RL, Andersson R, Segura EL, Örn A. Role of helper/inducer cells as well as natural killer cells in resistance to *Trypanosoma cruzi* infection. *Scand J Immunol* 1988; 28: 573-82.
- Tarleton RL. Depletion of CD8⁺ T cells increases susceptibility and reverses vaccine-induced immunity in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *J Immunol* 1990; 144: 717-24.
- Wirth JJ, Kierszenbaum F. Variations in expression of markers by populations of adherent cells from *Trypanosoma cruzi*-infected mice. *J Protozool* 1984; 31: 147-51.
- Hoff R. Killing *in vitro* of *Trypanosoma cruzi* by macrophages from mice immunized with *T. cruzi* or BCG, and absence of cross-immunity on challenge *in vivo*. *J Exp Med* 1975; 142: 299-311.
- McCabe RE, Remington JS, Araujo FG. *In vivo* and *in vitro* effects of cyclosporin A on *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34: 861-5.
- Nogueira N, Gordon S, Cohn Z. *Trypanosoma cruzi*: Modification of macrophage function during infection. *J Exp Med* 1977; 146: 157-71.
- Clinton BA, Ortiz-Ortiz L, Garcia W, Martínez T, Capin R. *Trypanosoma cruzi*: Early immune response in infected mice. *Exp Parasitol* 1975; 37: 417-25.
- Behbehani K, Pan SC, Unanue ER. Marked increase of Ia-bearing macrophages during *Trypanosoma cruzi* infection. *Clin Immunol Immunopath* 1981; 19: 190-5.
- Cardoni RL, Rottenberg ME, Segura EL. Increased production of reactive oxygen species by cells from mice acutely infected with *Trypanosoma cruzi*. *Cell Immunol* 1990; 128: 11-21.
- Celentano AM, González Cappa SM. Induction of macrophage activation and opsonizing antibodies by *Trypanosoma cruzi* subpopulations. *Par Immunol* 1992; 14: 155-67.
- Borges MM, Vassao R, Andrade SG, Pereira CA, Kloetzel JK. Interferon-gamma levels during the course of *Trypanosoma cruzi* infection of *Calomys callosus* (*Rodentia Cricetidae*) and Swiss mice. *Parasitol Res* 1995; 81: 498-504.
- Petray P, Rottengerg ME, Grinstein S, Örn A. Release of nitric oxide during the experimental infection with *Trypanosoma cruzi*. *Par Immunol* 1994; 16: 193-9.
- Vespa GNR, Cunha FQ, Silva JS. Nitric oxide is involved in control of *Trypanosoma cruzi*-induced parasitemia and directly kills the parasite *in vitro*. *Inf Immun* 1994; 62: 5177-82.
- Tarleton RL. *Trypanosoma cruzi*-induced suppression of IL-2 production. I Evidence for the presence of IL-2-producing cells. *J Immunol* 1988; 140: 2763-8.
- Reed SG, Brownell CE, Russo DM, Silva JS, Grabstein KH, Morrissey PJ. IL-10 mediates susceptibility to *Trypanosoma cruzi* infection. *J Immunol* 1994; 153: 3135-40.
- Tarleton RL. Tumor necrosis factor (cachectin) production during experimental Chagas disease. *Clin Exp Immunol* 1988; 73: 186-90.
- Takasu N, Nighimura T, Masuko T, Kato K,

- Hashimoto Y. Increase in colony stimulation factor (CSF) in serum and augmentation of CSF responsiveness of lymphoid mononuclear cells by acute *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *Tohoku J Exp Med* 1990; 160: 67-79.
31. Olivares Fontt E, Vray B. Relationship between granulocyte macrophage-colony stimulating factor, tumour necrosis factor- α and *Trypanosoma cruzi* infection of murine macrophages. *Par Immunol* 1995; 17: 135-41.
 32. Nogueira N, Gordon S, Cohn Z. *Trypanosoma cruzi*: The immunological induction of macrophage plasminogen activator requires thymus-derived lymphocytes. *J Exp Med* 1977; 146: 172-83.
 33. Tanaka Y, Tanowitz H, Bloom BR. Growth of *Trypanosoma cruzi* in a cloned macrophage cell line and in a variant defective in oxygen metabolism. *Inf Immun* 1983; 41: 1322-31.
 34. Muñoz Fernández MA, Fernández MA, Fresno M. Synergism between tumor necrosis factor- α and interferon- γ on macrophage activation for the killing of intracellular *Trypanosoma cruzi* through a nitric oxide-dependent mechanism. *Eur J Immunol* 1992; 22: 301-7.
 35. Gazzinelli RT, Oswald IP, Hieny S, James SL, Sher A. The microbicidal activity of interferon- γ treated macrophages against *Trypanosoma cruzi* involves an L-arginine-dependent, nitric oxide-mediated mechanism inhibitable by interleukin-10 and transforming growth factor- β . *Eur J Immunol* 1992; 22: 2501-6.
 36. Cadenas E, Varsavsky AI, Boveris A, Chance B. Low level chemiluminescence of the cytochrome c-catalyzed decomposition of hydrogen peroxide. *FEBS Lett* 1980; 113: 141-4.
 37. Ding AH, Nathan CF, Stuehr DJ. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. *J Immunol* 1988; 141: 2407-12.
 38. Denicola A, Rubbo H, Rodríguez D, Radi R. Peroxynitrite-mediated cytotoxicity to *Trypanosoma cruzi*. *Arch Biochem Biophys* 1993; 304: 279-86.
 39. Silva JS, Vespa GNR, Cardoso MAG, Aliberti JCS, 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. *Inf Immun* 1995; 63: 4862-7.
 40. Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today* 1996; 17: 138-46.
 41. Janeway Jr CA, Travers P. En: Immunobiology. The immune system in health and disease. 2ª Edición. Singapore: Stamford Press, 1996; 6:4, A:9 y 9:28.
 42. Chensue SW, Ruth JH, Warmington K, Lincoln P, Kunkel SL. *In vivo* regulation of macrophage IL-12 production during type 1 and type 2 cytokine-mediated granuloma formation. *J Immunol* 1995; 155: 3546-51.
 43. Hunter CA, Slifer T, Araujo F. Interleukin-12-mediated resistance to *Trypanosoma cruzi* is dependent on Tumor necrosis factor alpha and gamma interferon. *Inf Immun* 1996; 64: 2381-6.
 44. Hertl M, Neckers LM, Katz SI. Inhibition of interferon-gamma-induced intercellular adhesion molecule-1 expression on human keratinocytes by phosphorothioate antisense oligodeoxynucleotides is the consequence of antisense-specific and antisense-non-specific effects. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 813-8.
 45. Gold R, Tokya KV, Hartung HP. Synergistic effect of IFN-gamma and TNF-alpha on expression of immune molecules and antigen presentation by Schwann cells. *Cell Immunol* 1995; 165: 65-70.
 46. Shrikant P, Weber E, Jilling T, Benveniste EN. Intercellular adhesion molecule-1 gene expression by glial cells. Differential mechanisms of inhibition by IL-10 and IL-6. *J Immunol* 1995; 155: 1489-501.
 47. Laucella S, Salcedo R, Castaños-Velez E, et al. Increased expression and secretion of ICAM-1 during experimental infection with *Trypanosoma cruzi*. *Par Immunol* 1995; 18: 227-39.
 48. Ruso M, Starobinas N, Dos-Santos RR, Minoprio P, Eisen H, Jaskowicz MH. Susceptible mice present higher macrophage activation than resistant mice during infections with myotropic strains of *Trypanosoma cruzi*. *Par Immunol* 1989; 11: 385-95.
 49. Black CM, Israelski DM, Suzuki Y, Remington JS. Effect of recombinant tumor necrosis factor on acute infection in mice with *Toxoplasma gondii* or *Trypanosoma cruzi*. *Immunology* 1989; 68: 570-4.
 50. Petray P, Castaños-Velez E, Grinstein S, Örn A, Rottenberg ME. Role of nitric oxide in resistance and histopathology during experimental infection with *Trypanosoma cruzi*. *Immunol Lett* 1995; 47: 121-6.
 51. Flaherty JT. Myocardial injury mediated by oxygen free radicals. *Amer J Med* 1991; 91 Suppl 3C: 79-85.
 52. Palhares PES, Fontana Jr P, Schaffer GMV, Marcondes NSS, Vergara M. Tissue damage markers in experimental Chagas' disease. *Br J Med Biol Res* 1988; 21: 957-9.
 53. Truysens C, Angelo-Barrios A, Torrico F, Van Damme J, Heremans H, Carlier Y. Interleukin-6 (IL-6) production in mice infected with *Trypanosoma cruzi*: effect of its paradoxical increase by anti-IL-6 monoclonal antibody treatment on infection and acute-phase and humoral immune responses. *Inf Immun* 1994; 62: 692-6.
 54. Tanowitz HB, Gumprecht JP, Spurr D, et al. Cytokine gene expression of endothelial cells infected with *Trypanosoma cruzi*. *J Inf Dis* 1992; 166: 598-603.
 55. Silva JS, Twarzik DR, Reed SG. Regulation of *Trypanosoma cruzi* infections *in vitro* and *in vivo* by transforming growth factor β (TGF- β). *J Exp Med* 1991; 174: 539-45.
 56. Rossi MA, Gonçalves S, Do Santos RR. Experimental *Trypanosoma cruzi* cardiomyopathy in BALB/c mice. The potential role of intravascular platelet aggregation in its genesis. *Amer J Pathol* 1984; 114: 209-16.
 57. Tanowitz HB, Burns ER, Sinha AK, et al. Enhanced platelet adherence and aggregation in Chagas'

- disease: a potencial pathogenic mechanism for cardiomyopathy. *Am J Trop Med Hyg* 1990; 43: 274-81.
58. Luz MR, van Leuven F, Araújo-Jorge TC. Heterogeneity of the plasma levels of two acute-phase proteins in mice from inbred strains infected with *Trypanosoma cruzi*. *Parasitol Res* 1994; 80: 439-41.
59. Scharfstein J, Barcinski MA, León LL. Induction of the acute-phase protein serum amyloid P in experimental Chagas' disease. *Inf Immun* 1982; 35: 46-51.
60. Morris SA, Tanowitz HB, Wittner M, Bilizikian JP. Pathophysiological insights into the cardiomyopathy of Chagas' Disease. *Circulation* 1990; 82: 1900-9.
61. Johnson HM, Russell JK, Torres BA. Structural basis for arachidonic acid second messenger signal in gamma-interferon induction. *Ann N Y Acad Sc* 1988; 524: 208-17.
62. Farrar WL, Humes JL. The role of arachidonic acid metabolism in the activities of interleukin 1 and 2. *J Immunol* 1985; 135: 1153-9.
63. Hoft DF, Lynch RG, Kirchhoff LV. Kinetic analysis of antigen-specific immune responses in resistant and susceptible mice during infection with *Trypanosoma cruzi*. *J Immunol* 1993; 151: 7038-47.
64. Martin UO, Afchain D, Cesbron JY, Arias E, Capron A. Inmunoglobulina E y enfermedad de Chagas. *Medicina (Buenos Aires)* 1986; 46: 262-6.
65. Nakhle MC, Menezes MC, Irulegui I. Eosinophil levels in the acute phase of experimental Chagas' disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1989; 31: 384-91.
66. Silva JS, Morrissey PJ, Grabstein KH, Mohler KM, Anderson D, Reed SG. Interleukin 10 and interferon γ regulation of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *J Exp Med* 1992; 175: 169-74.
67. Zhang L, Tarleton RL. Characterization of cytokine production in murine *Trypanosoma cruzi* infection by *in situ* immunocytochemistry: lack of association between susceptibility and type 2 cytokine production. *Eur J Immunol* 1996; 26: 102-9.
68. Heinzel FP, Sadick MD, Mutha SS, Locksley RM. Production of interferon γ , interleukin 2, interleukin 4, and interleukin 10 by CD4⁺ lymphocytes *in vivo* during healing and progressive murine leishmaniasis. *Proc Nat Acad Sc USA* 1991; 88: 7011-5.
69. 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. *Inf Immun* 1996; 64: 128-34.
70. Wahl SM, McCartney-Francis N, Mergenhagen SE. Inflammatory and immunomodulatory roles of TGF- β . *Immunol Today* 1989; 10: 258-61.
71. Rivier C, Vale W. Stimulatory effect of interleukin-1 on adrenocorticotropin secretion in the rat: is it modulated by prostaglandins? *Endocrinology* 1991; 129: 384-8.
72. Leite de Moraes MC, Joskowicz MH, Le Boulenger F, Savino W, Dardenne M, Lepault F. Studies on the thymus in Chagas' disease. II. Thymocyte subsets fluctuations in *Trypanosoma cruzi*-infected mice: Relationship to stress. *Scand J Immunol* 1991; 33: 267-75.
73. Gorelik G, Genaro AM, Borda EL, González Cappa SM, Sterin-Borda L. Antibodies bind and activate β adrenergic and cholinergic lymphocyte receptors in Chagas' disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 55: 221-36.
74. Borda E, Sterin-Borda L, Pascual JO, et al. *Trypanosoma cruzi* attachment to lymphocyte muscarinic cholinergic and beta adrenergic receptors modulates intracellular signal transduction. *Mol Bioch Parasitol* 1991; 47: 91-100.
75. Beccaglia G, Antúnez MI, Cardoni RL. Modulación de la producción de prostaglandinas durante la infección aguda con *Trypanosoma cruzi*. *Medicina (Buenos Aires)* 1993; 53 Supl. II: 128.
76. Van der Pouw Kraan Tc, Boeije LC, Smeenk RJ, Wijdenes J, Aarden LA. Prostaglandin-E2 is a potent inhibitor of human interleukin 12 production. *J Exp Med* 1995; 181: 775-9.
77. Belt M, Fox BS. Prostaglandin E₂ inhibits production of Th1 lymphokines but not of Th2 lymphokines. *J Immunol* 1991; 146: 108-13.
78. Harel-Bellan A, Joskowicz M, Fradelizi D, Eisen H. Modification of T-cell proliferation and IL-2 production in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *Proc Nat Acad Sc USA* 1983; 80: 3466-9.
79. Castes M, Panagiotopoulos A, Mosca W. Demonstration of an indomethacin-sensitive mechanism regulating immune reactivity in Chagas' disease patients. *Immunopharmacol* 1986; 12: 203-12.
80. Metzger Z, Hoffeld JT, Oppenheim JJ. Macrophage-mediated suppression. I Evidence for participation of both hydrogen peroxide and prostaglandins in suppression of murine lymphocyte proliferation. *J Immunol* 1980; 124: 983-8.
81. Chouaib S, Chatenoud L, Klatzmann D, Fradelizi D. The mechanisms of inhibition of human IL-2 production. II PGE₂ induction of suppressor T lymphocytes. *J Immunol* 1984; 132: 1851-7.
82. Rockett KA, Awburn MM, Rockett EJ, Cowden WB, Clark IA. Possible role of nitric oxide in malarial immunosuppression. *Par Immunol* 1994; 16: 243-9.
83. Taylor Robinson AW, Liew FY, Severn A, et al. Regulation of the immune response by nitric oxide differentially produced by T-helper type-1 and T-helper type-2 cells. *Eur J Immunol* 1994; 24: 980-4.
84. Andrade SG, Marcedo V. Tratamento combinado da doença de Chagas com Bayer 2502 e corticoide (Estudo experimental e clinico). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1973; 15: 421-30.