

Artículo Original

Presencia de anticuerpos inducidos por T. Cruzi en pacientes con enfermedad de chagas crónica y su relación con el perfil clínico

Presence of antibodies induced by T. Cruzi in patients with chronic chagas disease and its relationship with the clinical profile antibodies

Luz Peverengo, Luz María Rodeles, Estefanía Prochetto, Daiana Bertona, Alexia Poato, Gabriel Cabrera, Iván Bontempi, Miguel Hernán Vicco, Iván Marcipar

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral (UNL) Santa Fe. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe. Hospital J.B. Iturraspe, Santa Fe (Argentina)

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Recibido el 22 de febrero de 2016

Aceptado después de revisión el

29 de marzo de 2016

Online en www.revistafac.org.ar

Los autores declaran no tener
conflicto de intereses

Palabras clave:

Enfermedad de Chagas
Trypanosoma Cruzi
Autoinmunidad
Triglicéridos
Índice aterogénico

Keywords:

Chagas disease
T. Cruzi
Autoimmunity
Triglycerides
Atherogenic index

RESUMEN

La presencia de anticuerpos inducidos por Trypanosoma Cruzi se relaciona con el perfil clínico de personas con miocardiopatía chagásica crónica.

Materiales y Métodos: Realizamos un trabajo observacional transversal con 177 personas seropositivas a T. Cruzi. En base a la clasificación de Storino et al se conformaron los siguientes grupos: I) 65 individuos con estudios radiológicos, electrocardiográficos y ecocardiográficos normales; II) 65 pacientes con alteraciones electrocardiográficas pero sin insuficiencia cardiaca; y III) 47 personas con insuficiencia cardiaca y/o miocardiopatía dilatada por ecocardiograma transtorácico. Se determinó la escala de Boston para insuficiencia cardiaca y se evaluaron los anticuerpos contra los antígenos ribosomal p2β y B13 mediante ELISA.

Resultados: La muestra se conformó con 91 hombres y 86 mujeres de 52.73±12.32 años. La valoración de la escala de Boston para la predicción de insuficiencia cardiaca sistólica presentó un área debajo de la curva de 85.7% para un criterio de 7 puntos (p=0.026). En relación a los anticuerpos inducidos por T. Cruzi, observamos que el anticuerpo anti-B13 fue mayor en los individuos con fracción de eyección disminuida (p<0.001). La correlación entre anti-B13 y la escala de Boston mostró una fuerte asociación (Spearman's=0.76; p<0.001). Por su parte, anti-p2β, a pesar de no relacionarse a los grupos clínicos de la miocardiopatía chagásica, se correlacionaron inversamente con las concentraciones de triglicéridos y el índice aterogénico. Éste índice fue mayor en los individuos del grupo III.

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que anti-p2β y anti-B13 se relacionan al perfil clínico de las personas con enfermedad de Chagas.

Presence of antibodies induced by T. Cruzi in patients with chronic chagas disease and its relationship with the clinical profile antibodies

ABSTRACT

Presence of T. Cruzi-induced auto-antibodies in patients with chronic Chagas disease and its relationship with the clinical profile.

Aim: To evaluate whether different auto-antibodies were linked with the clinical profile of patients with Chronic Chagas Heart Disease.

Material and Methods: We performed a cross-sectional study in 177 T. Cruzi seropositive patients. They were categorized according to the Chronic Chagas Heart Disease classification provided by Storino et al as follows: I) 65 individuals with normal radiological, ECG and echocardiography studies; II) 65 patients with ECG alterations but without heart failure; and III) 47 patients with heart failure and/or dilated cardiomyopathy by transthoracic echocardiography. The Boston score for heart failure was applied. Antibodies against the ribosomal p2β antigen, and the B13 antigen, were evaluated by ELISA.

Results: The sample was composed of 91 males and 86 females aged 52.73 ± 12.32 years. The assessment of the Boston score for the prediction of systolic heart failure yielded an area under the curve of 85.7% with a 7-point score criterion ($p=0.026$). In respect to the autoantibodies induced by T. Cruzi, we observed that antibodies against B13 antigen were higher in individuals with reduced ejection fraction ($p<0.001$). The correlation analysis between anti-B13 and the Boston were performed showing a strong association (Spearman's $s=0.76$; $p<0.001$). In regard to anti-p2 β antibodies, although they were not related to the clinical stage of Chronic Chagas Heart Disease, they correlated inversely with triglycerides concentrations and with the Atherogenic Index. This index was higher in Chronic Chagas Heart Disease III individuals.

Conclusions: Our results suggest that anti-p2 β and anti-B13 are related to the clinical profile of individuals with Chagas disease.

INTRODUCCIÓN

La miocardiopatía chagásica crónica (MCC), la manifestación más frecuente de la tripanosomiasis crónica, lleva a la miocardiopatía dilatada con insuficiencia cardíaca. Esta complicación es la principal causa de morbimortalidad de las personas con enfermedad de Chagas^{1,2}. La infección por *Trypanosoma Cruzi* induce las respuestas inmunológicas celular y humoral, que constituyen mecanismos patológicos inter-relacionados que participarían del desarrollo de afección cardíaca, digestiva o ambas en el curso de la enfermedad³⁻⁵.

Dentro de la respuesta humoral se remarca la importancia de los auto-anticuerpos anti-B13 y anti-p2 β , inducidos por mecanismos de mimetismo molecular entre proteínas del hospedero y el parásito. Se ha observado en modelos experimentales y en estudios con humanos que ambos estarían relacionados con el desarrollo de lesiones en el tejido cardíaco⁶. El anticuerpo anti-B13 estimularía respuesta celular contra la miosina cardíaca; previamente nuestro grupo ha observado que los niveles de anti-B13 se encontraban particularmente incrementados en pacientes con enfermedad de Chagas con insuficiencia cardíaca sistólica⁷⁻⁹. En lo que respecta a anti-p2 β , éste presenta reacción cruzada contra el receptor adrenérgico $\beta 1$ ($\beta 1$ -RA) promoviendo incremento del efecto cronotrópico a nivel miocárdico y la apoptosis de los miocitos¹⁰⁻¹³. En consideración de que el efecto agonista de los receptores $\beta 1$, además de estar involucrado en el efecto cronotrópico e inotrópico de la respuesta cardíaca, participa en la regulación de los niveles de triglicéridos (TG)¹⁴⁻¹⁷, anti-p2 β podría inducir alteraciones de las concentraciones de TG. La combinación de TG elevados y bajos niveles de HDL-C se relacionan a dislipidemia aterogénica constituyendo un factor de riesgo relevante de eventos cardiovasculares y enfermedad vascular periférica^{18,19}. La relación TG/HDL-C, denominado índice aterogénico (IA), se correlaciona con la presencia de enfermedad coronaria, hipertensión arterial y síndrome metabólico¹⁹⁻²¹. Estudios en modelos experimentales murinos sugieren que la infección por T. Cruzi induce enfermedad coronaria y aterosclerosis^{22,23} pero la evidencia en humanos sobre el IA en MCC es escasa.

En este contexto, el objetivo del presente trabajo es valorar la relación potencial de la presencia de anti-p2 β y anti-B13 con el perfil clínico de los sujetos con MCC.

MATERIALES Y MÉTODOS

Realizamos un trabajo transeccional correlacional causal incluyendo 177 sujetos con serología positiva para T. Cruzi acorde a las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud. A todos los participantes del estudio se les realizó valoración clínica cardiológica y se conformaron 3 grupos acorde a la clasificación de Storino et al⁷: a) Individuos con estudios radiológicos, electrocardiográficos y ecocardiográficos normales (MCC I); b) Pacientes con alteraciones electrocardiográficas pero sin insuficiencia cardíaca (MCC II); y c) Personas con insuficiencia cardíaca y/o miocardiopatía dilatada mediante ecocardiograma transtorácico (MCC III). Los estudios ecocardiográficos se realizaron acorde al procedimiento sugerido por Acquatella H²⁴, mediante modo-M, bidimensional y ultrasonografía Doppler. Los criterios diagnósticos de miocardiopatía dilatada fueron disminución de la fracción de eyección ventricular izquierda $<45\%$ y/o acortamiento fraccional $<25\%$ con dilatación del ventrículo izquierdo definido como diámetro a fin de diástole $\geq 117\%$ del valor predictivo corregido por edad y superficie corporal. Insuficiencia cardíaca sistólica y diastólica fueron definidas acorde a las guías para el diagnóstico y tratamiento de la insuficiencia cardíaca aguda y crónica de la Sociedad Europea de Cardiología²⁵.

Los criterios de exclusión fueron: a- antecedente de enfermedad coronaria o entidades nosológicas consideradas equivalentes de enfermedad coronaria siendo diabetes o enfermedad vascular periférica; b- antecedente de otra enfermedad cardíaca; c- afecciones sistémicas; y d- tratamiento previo o actual anti-T. Cruzi o con fármacos inmunosupresores.

El estudio fue aprobado por los respectivos Comités de Bioética de las instituciones intervinientes. Se obtuvo consentimiento escrito de todos los participantes.

A pesar de que existen diversas escalas para la predicción de insuficiencia cardíaca, ninguna de ellas ha sido evaluada en personas con enfermedad de Chagas. En consideración de que la escala de Boston presenta muy Buena eficacia para el diagnóstico de insuficiencia cardíaca severa en el context de otras patologías, se aplicó a todos los participantes del estudio. Los sujetos fueron clasificados acorde al resultado de la escala en "poco probable" (≤ 4 puntos), "posible" (5 a 7 puntos), y "definitivo" (8 a 12 puntos)²⁶⁻²⁸.

Por otra parte se evaluó el perfil lipídico incluyendo colesterol total, HDL-c, LDL-c y TG por los métodos estándares, y se calculó el índice aterogénico (IA) mediante el logaritmo de la relación TG/HDL-C¹⁹⁻²¹. Finalmente, los anticuerpos inducidos por T. Cruzi fueron determinados por inmunoensayo (ELISA), estableciéndose el índice de la densidad óptica de anticuerpos en relación a los controles negativos (IDON), siendo negativo si el mismo era ≤ 1 ⁷.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el paquete estadístico MedCalc versión 12.2.1. La normalidad de la distribución de las variables continuas fue analizada mediante el método de Kolmogorov-Smirnov. Los datos se expresan como media \pm SD (desvío estándar) o mediana y rango intercuartil (25-75). Las pruebas estadísticas Chi-cuadrado o exacto de Fisher's se emplearon para la valoración de asociación entre variables categóricas, mientras que T de student para variables independientes o ANOVA de una vía (post-hoc Student-Newman-Keuls) se utilizaron para la comparación de medias. También se determinó el coeficiente de correlación de Pearson para dos variables y R2 ajustado. Se analizaron las curvas ROC el IDON de cada anticuerpo y la escala de Boston en relación a insuficiencia cardiaca. Cuando correspondiera se emplearon pruebas no paramétricas. Un valor de $p < 0.05$ fue considerado significativo.

RESULTADOS

Población

La muestra se conformó con 91 hombres y 86 mujeres de 52.73 ± 12.32 años. Acorde a la clasificación mencionada previamente, 65, 65 y 47 individuos fueron agrupados en MCC I, MCC II y MCC III respectivamente. Las personas de MCC III fueron mayores en comparación a los otros grupos [ANOVA F-ratio=8,860; $p < 0.001$ (Student-Newman-Keuls $p < 0.05$)]. No hubo diferencia de la distribución de sexo entre los grupos.

Del total de la muestra 53 pacientes tenían hipertensión arterial esencial (11, 20 y 22 casos pertenecientes a MCC I, MCC II y MCC III, respectivamente); todos ellos bajo tratamiento farmacológico (inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, bloqueantes- $\beta 1$ cardio selectivos, o ambos). La proporción de individuos con hipertensión fue menor en el grupo MCC I [$\chi^2=9.2$, $p=0.001$]. Los niveles de presión arterial sistólica y diastólica en MCC I fueron significativamente menores que los observados en los otros grupos [ANOVA F-ratio=15.73 y 8.3 respectivamente, $p < 0.01$ (Student-Newman-Keuls $p < 0.05$)]. Pacientes con MCC I y II se encontraban en tratamiento con un solo fármaco (13 con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y 18 con $\beta 1$ -bloqueantes cardio selectivos). Todos los casos MCC III con hipertensión arterial recibían tratamiento combinado de enalapril más β antagonista (atenolol o bisoprolol).

Alteraciones electrocardiográficas

Los hallazgos electrocardiográficos de mayor frecuencia

entre el grupo MCC II y III fueron hemibloqueo anterior izquierdo asociado con bloqueo completo de rama derecha (n=42), fibrilación auricular (n=19), bloqueo completo de rama derecha (n=14) y extra sístoles ventriculares (n=7). Por el otro lado, 23 de los 53 pacientes con hipertensión mostraron índice de Sokolow mayor a 35 mV. Finalmente 5 personas en tratamiento con bisoprolol presentaron complejo QRS prolongado.

Hallazgos ecocardiográficos

Del total de pacientes con alteraciones ecocardiográficas, 17 presentaron aneurisma apical del ventrículo izquierdo. De las personas del grupo MCC II, 9 individuos tenían hipoquinesia septoapical sin repercusión diastólica y/o sistólica, y 11 sujetos presentaron hipertrofia ventricular concéntrica. Por su parte, dentro de las personas del grupo III, 32 de ellos tenían miocardiopatía dilatada global con fracción de eyección disminuida, 7 hipertrofia ventricular concéntrica con relajación ventricular izquierda anormal. Finalmente, 8 pacientes mostraron aumento de cavidades auriculares con relajación anormal del ventrículo izquierdo con insuficiencia cardiaca diastólica.

Determinación de la escala de Boston

La media de puntos de la escala de Boston fue de 4 puntos (rango 0 a 12). La mayoría de los pacientes del grupo MCC III presentaron una escala mayor a la mediana ($p < 0.001$), a diferencia de los sujetos del grupo MCC II. En lo que concierne a la estratificación de la escala de Boston, prácticamente todos los individuos con insuficiencia cardiaca sistólica se clasificaron como "definitivos".

Procedimos a realizar una curva ROC para la predicción de insuficiencia cardiaca sistólica determinada por ecocardiograma como fuera referido previamente en materiales y métodos. El área debajo de la curva fue de 85.7% para un punto de corte de 7 puntos ($p=0.026$), con sensibilidad de 67.19 % (95%IC 31.92-85.3), y especificidad de 78.42 % (95%IC 62.17-87.39), *Figura 1*.

Valoración de anticuerpos

El 98.3% y 96.6% de las personas estudiadas presentaron valores positivos de anti-p2 β y anti-B13, respectivamente. Los sujetos cuyo IDON fuera negativo correspondían al grupo MCC I. El nivel de anticuerpos no se relacionó a la edad o sexo. Anti-p2 β no mostró asociación con los diferentes grupos de MCC.

Anti-B13 e Insuficiencia Cardiaca

En línea con resultados previos⁷, la comparación de anti-B13 entre los diferentes grupos de MCC, mostró que las personas del grupo MCC III presentaron mayores valores de IDON anti-B13 (F ratio 75.9; $p < 0.001$), a predominio de los sujetos con insuficiencia cardiaca sistólica ($p < 0.001$). La curva ROC de IDON anti-B13 en relación a insuficiencia cardiaca sistólica (*Figure 2*) arrojó un área debajo de la curva de 88.91% ($p < 0.001$) para el valor de anti-B13 de 5.961,

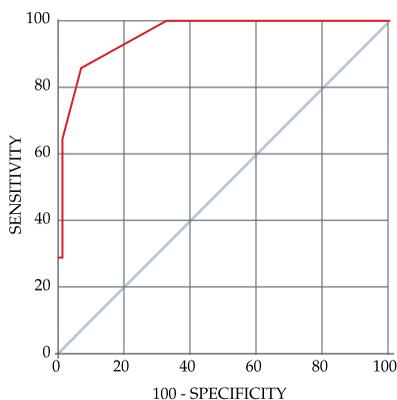


FIGURA 1.

Curva ROC de la escala de Boston para la predicción de insuficiencia cardíaca sistólica determinada por ecocardiograma, con un área debajo de la curva de 85.7% para un criterio de 7 puntos ($p=0.026$), 67.19 % sensibilidad (95%IC 31.92-85.3), y 78.42% especificidad (95%IC 62.17-87.39).

con una sensibilidad de 93.76% (95%IC: 68.44-98.59), y especificidad de 77.35% (95%IC: 63.49-94.03). La comparación de las curvas ROC de anti-B13 y de la escala de Boston no mostró diferencias estadísticamente significativas. Incluso, se observe una fuerte asociación entre ambos métodos (Spearman's $\rho=0.76$; $p<0.001$).

Anti-p2 y perfil lipídico

El perfil lipídico de las personas con enfermedad de Chagas fue: colesterol total 4.1 ± 0.43 mmol/L, HDL-c 1.03 ± 0.07 mmol/L, TG 1.22 ± 0.13 mmol/L y LDL-c 2.69 ± 0.27 mmol/L. El IA se calculó mediante el logaritmo de la relación TG/HDL-C y su media \pm SD fue 0.17 ± 0.07 . Como se mencionara previamente, la activación de β_1 -RA lleva a la disminución de la concentración de TG sérico. En nuestra serie el IDON anti-p2 β se correlacionó inversamente con los valores de TG ($r=-0.212$; R_2 ajustada=0.045; $p=0.005$), y del IA ($r=-0.214$; R_2 ajustado=0.046; $p=0.004$). No hubo correlación entre anti-p2 β y colesterol total, HDL-c y LDL-c. Por otro lado, considerando que los β_1 bloqueantes pueden interrumpir la unión entre anti-p2 β y β_1 -RA^{29,30}, los pacientes con MCC fueron valorados de la siguiente forma: a. sin tratamiento con β_1 bloqueantes ($n=134$), y b. con tratamiento monoterápico de β_1 bloqueantes ($n=40$). Los sujetos sin β_1 bloqueantes continuaron mostrando correlación negativa, inclusive de mayor magnitud, entre anti-p2 β y TG sérico ($r=-0.55$; R_2 ajustado=0.30; $p<0.001$), y con el IA ($r=-0.59$; R_2 ajustado=0.35; $p<0.001$).

Para valorar si los diferentes grupos de MCC presentaron relación particular entre el perfil lipídico y el IA, los sujetos con excepción de los tratados con β_1 bloqueantes, fueron agrupados como se describiera en materiales y métodos, es decir: MCC I, MCC II y MCC III. En éste último los valores de TG fueron mayores y el IA se asoció con la severidad de la enfermedad, considerando que fue mayor a 0.22 (ANOVA F-ratio=7.28; $p<0.001$, Student-Newman-Keuls $p<0.05$).

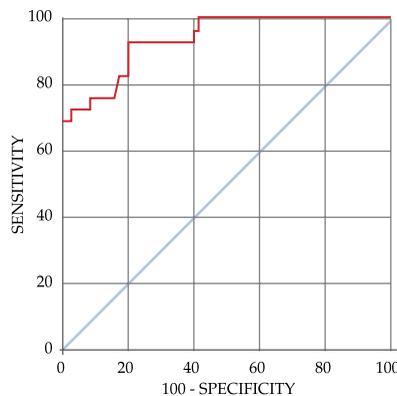


FIGURA 2.

La curva ROC de IDON anti-B13 en relación con la insuficiencia cardíaca sistólica proporcionó un área bajo la curva de 88.91% ($p<0.001$) para un IDON anti-B13 de 5.961, con un 93.76% de sensibilidad (95% IC: 68.44-98.59), y 77.35% de especificidad (95% IC: 63.49-94.03).

DISCUSIÓN

Se ha sugerido que la respuesta autoinmune inducida por T. Cruzi jugaría un rol importante en la patogenia de la enfermedad de Chagas. De todos los anticuerpos estudiados hasta el momento, anti-p2 β y anti-B13 han sido asociados a lesiones miocárdicas^{12,31}. La miocardiopatía chagásica crónica es la manifestación más común de la enfermedad de Chagas^{1,2}, promoviendo el desarrollo de miocardiopatía dilatada asociada a insuficiencia cardíaca, una de las principales causas de morbimortalidad de las personas con Chagas. Insuficiencia cardíaca es uno de los síndromes clínicos que genera la mayor tasa de hospitalización y muerte en todo el mundo. Es por eso, que diferentes sociedades médicas han establecido guías para mejorar su diagnóstico y tratamiento temprano³². Sin embargo, en lo que respecta a insuficiencia cardíaca en el contexto de la enfermedad de Chagas, hay pocos estudios clínicos sobre su abordaje terapéutico. En lo que nos respecta, este es el primer trabajo en el cual se valora la escala de Boston para insuficiencia cardíaca en sujetos con enfermedad de Chagas. Este instrumento clínico ha sido desarrollado y validado para la predicción de insuficiencia cardíaca, presentando una sensibilidad del 50% y especificidad del 78%²⁶⁻²⁸. En nuestra serie, observamos que tiene una mayor eficacia para la detección de insuficiencia cardíaca sistólica en personas con enfermedad de Chagas.

En relación a la determinación de autoanticuerpos, en observaciones previas hemos descripto que anti-B13 se encontraba presente en todos los sujetos con MCC siendo mayor en el grupo MCC III, particularmente en aquellos con insuficiencia cardíaca sistólica⁷. En el presente estudio, con un mayor tamaño muestral de sujetos seropositivos para T. Cruzi, confirmamos los hallazgos previos. La buena correlación entre la escala de Boston y el IDON anti-B13 también nos orienta al potencial uso de ambos métodos para la predicción de la disminución de la fracción de eyección en personas con enfermedad de Chagas.

Por su parte, anti-p2 β se une a β 1-RA e induce respueste agonista que es completamente bloqueada por el antagonista selectivo β 1 bisoprolol²⁹⁻³⁰. Diversos estudios han reportado el rol de las catecolaminas en el estímulo de la cascada lipolítica mediada por el estímulo agonista β 1-RA, induciendo la reducción de los niveles séricos de TG¹⁴⁻¹⁷. Tanto el incremento de TG como la disminución de HDL-c, se asocian a riesgo cardiovascular. Inclusive, el logaritmo de la relación TG/HDL-c es un fuerte predictor de aterosclerosis, enfermedad coronaria e infarto agudo de miocardio¹⁹⁻²¹. En el presente trabajo observamos que a valores elevados de IDON anti-p2 β , menor concentración sérica de TG e IA. Considerando que los fármacos β 1 bloqueantes se asocian al incremento de TG y disminución de HDL-c^{33,34}, hemos comparado los niveles séricos del perfil lipídico y del IA en sujetos hipertensos en tratamiento con β 1-bloqueantes cardio selectivos y sin éste tratamiento. Este último grupo presento niveles disminuidos de anti-p2 β , TG e IA respecto a los pacientes tratados con β 1-RA bloqueantes. La correlación inversa entre anti-p2 β y TG observada en MCC no tratados puede deberse al efecto agonista de anti-p2 β en los receptores adrenérgicos β 1, induciendo la cascada lipolítica y la reducción de TG.

Limitaciones

El presente trabajo se realizó en un solo centro con un tamaño muestral relativamente reducido. Estudios prospectivos multicéntricos serían de utilidad para ratificar o rectificar nuestras observaciones.

CONCLUSIONES

los anticuerpos inducidos por T. Cruzi guardan relación con el perfil clínico de las personas con enfermedad de Chagas, por un lado, la relación de anti-p2 β con el nivel de triglicéridos y el índice aterogénico; y por el otro, anti-B13 con el grupo MCC III e insuficiencia cardiaca.

BIBLIOGRAFÍA

- Malik LH, Singh GD, Amsterdam EA. Chagas Heart Disease: An Update. *Am J Med* **2015**; 128 (11): 1251. e7-9. [PMID: 26052027; doi: 10.1016/j.amjmed.2015.04.036].
- Bern C. Chagas' Disease. *N Engl J Med* **2015**; 373 (5): 456-66. [PMID: 26535524; doi: 10.1056/NEJMc1510996#SA2].
- Bonney KM, Engman DM. Autoimmune pathogenesis of Chagas heart disease: looking back, looking ahead. *Am J Pathol* **2015**; 185 (6): 1537-47. [PMID: 25857229; doi: 10.1016/j.ajpath.2014.12.023].
- Marin-Neto JA, Rassi A Jr. Update on Chagas heart disease on the first centenary of its discovery. *Rev Esp Cardiol* **2009**; 62 (11): 1211-6. [PMID: 19889330].
- Gironés N, Fresno M. Etiology of Chagas disease myocarditis: autoimmunity, parasite persistence, or both? *Trends Parasitol* **2003**; 19 (1): 19-22. [PMID: 12488221].
- Cunha-Neto E, Teixeira PC, Nogueira LG, et al. Autoimmunity. *Adv Parasitol* **2011**; 76: 129-52. [PMID: 21884890; doi: 10.1016/B978-0-12-385895-5.00006-2].
- Vicco MH, Ferini F, Rodeles L, et al. Assessment of cross-reactive host-pathogen antibodies in patients with different stages of chronic chagas disease. *Rev Esp Cardiol* **2013**; 66 (10): 791-96. [PMID: 24; doi: 10.1016/j.rec.2013.05.028].
- Cunha-Neto E, Coelho V, Guilherme L, et al. Autoimmunity in Chagas' disease. Identification of cardiac myosin-B13 Trypanosoma Cruzi protein cross-reactive T cell clones in heart lesions of a chronic Chagas' cardiomyopathy patient. *J Clin Invest* **1996**; 98 (8): 1709-12. [PMID: 8878420].
- Abel LC, Kalil J, Cunha Neto E. Molecular mimicry between cardiac myosin and Trypanosoma Cruzi antigen B13: identification of a B13-driven human T cell clone that recognizes cardiac myosin. *Braz J Med Biol Res* **1997**; 30 (11): 1305-8. [PMID: 9532238].
- Cremaschi G, Fernandez M, Gorelik G, et al. Modulatory effects on myocardial physiology induced by an anti- monoclonal antibody involve recognition of major antigenic epitopes from β -adrenergic and M-muscarinic cholinergic receptors without requiring receptor cross-linking. *J Neuroimmunol* **2004**; 153 (1-2): 99-107. [PMID: 15265668].
- Joensen L, Borda E, Kohout T, et al. Trypanosoma Cruzi antigen that interacts with the β 1-adrenergic receptor and modifies myocardial contractile activity. *Mol Biochem Parasitol* **2003**; 127 (2): 169-177. [PMID: 12672526].
- Levy GV, Tasso LM, Longhi SA, et al. Antibodies against the Trypanosoma Cruzi ribosomal P proteins induce apoptosis in HL-1 cardiac cells. *Int J Parasitol* **2011**; 41 (6): 635-44. [PMID: 21255576; doi: 10.1016/j.ijpara.2010.12.010].
- Vicco MH, Pujato N, Bontempi I, et al. Increased levels of anti-p2 β antibodies and decreased cardiac involvement in patients with progressive chronic Chagas heart disease undergoing β 1 selective antagonist treatment. *Can J Cardiol* **2014**; 30 (3): 332-7. [PMID: 24370375; doi: 10.1016/j.cjca.2013.09.017].
- Wahrenberg H, Arner P, Engfeldt P, et al. Long-term beta 1-selective adrenergic blockade and adrenergic receptors in human subcutaneous adipocytes. *Acta Med Scand* **1985**; 217 (5): 539-46. [PMID: 2992235].
- Hoffstedt J, Arner P, Hellers G, et al. Variation in adrenergic regulation of lipolysis between omental and subcutaneous adipocytes from obese and non-obese men. *J Lipid Res* **1997**; 38 (4): 795-804. [PMID: 9144094].
- Langin D. Adipose tissue lipolysis as a metabolic pathway to define pharmacological strategies against obesity and the metabolic syndrome. *Pharmacol Res* **2006**; 53 (6): 482-91. [PMID: 16644234].
- Jaworski K, Sarkadi-Nagy E, Duncan RE, et al. Regulation of triglyceride metabolism. IV. Hormonal regulation of lipolysis in adipose tissue. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **2007**; 293 (1): G1-4. [PMID: 17218471].
- Adhyaru BB, Jacobson TA. New cholesterol guidelines for the management of atherosclerotic cardiovascular disease risk: a comparison of the 2013 American College of Cardiology/American Heart Association cholesterol guidelines with the 2014 National Lipid Association recommendations for patient-centered management of dyslipidemia. *Cardiol Clin* **2015**; 33 (2): 181-96. [PMID: 25939292; doi: 10.1016/j.ccl.2015.02.001].
- Onat A, Can G, Kaya H, et al. "Atherogenic index of plasma" (log10 triglyceride/high-density lipoprotein-cholesterol) predicts high blood pressure, diabetes, and vascular events. *J Clin Lipidol* **2010**; 4 (2): 89-98. [PMID: 21122635; doi: 10.1016/j.jacl.2010.02.005].
- Dobiášová M, Frohlich J, Sedová M, et al. Cholesterol esterification and atherogenic index of plasma correlate with lipoprotein size and findings on coronary angiography. *J Lipid Res* **2011**; 52 (3): 566-71. [PMID: 21224290; doi: 10.1194/jlr.P011668].
- Sniderman A, McQueen M, Contois J, et al. Why is non-high-density lipoprotein cholesterol a better marker of the risk of vascular disease than low-density lipoprotein cholesterol? *J Clin Lipidol* **2010**; 4 (3): 152-5. [PMID: 21122647; doi: 10.1016/j.jacl.2010.03.005].
- Tanowitz HB, Jelicks LA, Machado FS, et al. Adipose tissue, diabetes and Chagas disease. *Adv Parasitol* **2011**; 76: 235-50. [PMID: 21884894; doi: 10.1016/B978-0-12-385895-5.00010-4].
- Prado CM, Jelicks LA, Weiss LM, et al. The vasculature in chagas disease. *Adv Parasitol* **2011**; 76: 83-99. [PMID: 21884888; doi: 10.1016/B978-0-12-385895-5.00004-9].
- Acquatella H. Echocardiography in Chagas heart disease. *Circulation* **2007**; 115 (9): 1124-31. [PMID: 17339570].