

Vimentina e Anticorpos Anti-Vimentina na Doença de Chagas

Vimentin and Anti Vimentin Antibodies in Chagas' Disease

Marilda Savoia Nascimento, Anna Maria Simonsen Stolf, Heitor Franco de Andrade Junior, Ramendra Pati Pandey, Eufrosina Setsu Umezawa

Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP – Brasil

Resumo

Fundamento: A Vimentina é uma proteína estrutural importante da célula, um componente dos filamentos celulares intermediários e imersa no citoplasma. Algumas proteínas bacterianas imitam a Vimentina e anticorpos anti-vimentina ocorrem em doenças cardíacas auto-imunes, como a febre reumática. Neste trabalho, estudamos a distribuição de vimentina em células LLC-MK2 infectadas com *T. Cruzi* e anticorpos anti-vimentina em soros de várias imagens clínicas da doença de Chagas ou tripanossomíases americanas, a fim de elucidar qualquer implicação da vimentina na resposta humoral desta patologia.

Objetivo: padronizamos um teste de imunofluorescência indireta (IFI) para determinar a expressão subcelular em parasitas e células hospedeiras, e ELISA para testar anticorpos anti-vimentina em soros de pacientes chagásicos.

Métodos: analisamos a distribuição de vimentina em células de cultura usando ensaios fluorescentes indiretos, utilizando como controles externos soros anti-*T. Cruzi*, derivados de pacientes com infecção crônica para a identificação de parasitas no mesmo modelo. Após a infecção e o crescimento de amastigotas de *T. Cruzi*, essas células expressam grandes quantidades de vimentina, com forte coloração do citoplasma fora da vacuola parasitófora e alguns padrões de sombreamento das partículas, sugerindo que a vimentina está associada ao citoplasma da célula. Os anticorpos anti-vimentina estavam presentes na maioria das amostras americanas de tripanossomíases, mas estão notavelmente mais presentes em síndromes agudas ou clinicamente definidas (76,9%), especialmente em doenças cardíacas (87,9%). Paradoxalmente, eram relativamente infreqüentes em pacientes infectados assintomáticos (25%), que apresentavam uma reação sorológica claramente positiva aos antígenos parasitas, mas apresentavam baixa freqüência de anticorpos anti-vimentina, semelhante aos controles (2,5%).

Conclusão: Nossos dados atuais revelaram que os anticorpos anti-vimentina induzidos durante a infecção por *T. Cruzi* poderiam ser um marcador de doença ativa no hospedeiro e seus níveis também poderiam justificar o tratamento farmacológico em infecção crônica com tripanossomíase americana, uma vez que um grande grupo de pacientes assintomáticos seria submetido a tratamento com reações adversas freqüentes aos medicamentos disponíveis. Os anticorpos anti-vimentina poderiam ser um marcador de danos nas células do músculo cardíaco, que aparece em pacientes com tripanossomíase americana durante o dano das células musculares ativas. (Arq Bras Cardiol. 2018; [online].ahead print, PP.0-0)

Palavras-chave: Doença de Chagas; Cardiopatias; Trypanossoma Cruzi; Febre Reumática; Vimentina; Anticorpos Monoclonais.

Abstract

Background: Vimentin is a main structural protein of the cell, a component of intermediate cell filaments and immersed in cytoplasm. Vimentin is mimicked by some bacterial proteins and anti-vimentin antibodies occur in autoimmune cardiac disease, as rheumatic fever. In this work we studied vimentin distribution on LLC-MK2 cells infected with *T. cruzi* and anti-vimentin antibodies in sera from several clinical pictures of Chagas' disease or American Trypanosomiasis, in order to elucidate any vimentin involvement in the humoral response of this pathology.

Objective: We standardized an indirect immunofluorescence assay (IFI) to determine sub cellular expression in either parasites and host cells, and ELISA to evaluate anti-vimentin antibodies in sera from chagasic patients.

Methods: We analyzed the distribution of vimentin in culture cells using indirect fluorescent assays, using as external controls anti-*T. cruzi* sera, derived from chronic infected patients for identification of the parasites in the same model. After infection and growth of *T. cruzi* amastigotes, those cells express larger amounts of vimentin, with heavy staining of cytoplasm outside the parasitophorous vacuole and some particle shadowing patterns, suggesting that vimentin are associated with cell cytoplasm. Anti-vimentin antibodies were present in most American trypanosomiasis samples, but notably, they are much more present in acute (76, 9%) or clinical defined syndromes, especially cardiac disease (87, 9%). Paradoxically, they were relatively infrequent in asymptomatic (25%) infected patients, which had a clearly positive serological reaction to parasite antigens, but had low frequency of anti-vimentin antibodies, similar to controls (2,5%).

Conclusion: Our current data revealed that anti-vimentin antibodies induced during *T. cruzi* infection could be a marker of active disease in the host and its levels could also justify drug therapy in American Trypanosomiasis chronic infection, as a large group of asymptomatic patients would be submitted to treatment with frequent adverse reactions of the available drugs. Anti-vimentin antibodies could be a marker of cardiac muscle cell damage, appearing in American Trypanosomiasis patients during active muscle cell damage. (Arq Bras Cardiol. 2018; [online].ahead print, PP.0-0)

Keywords: Chagas Disease; Heart Diseases; Trypanossoma Cruzi; Rheumatic Fever; Vimentin; Antibodies, Monoclonal.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Marilda Savoia Nascimento •

Av. Senador Vergueiro, 608. CEP 09750-000, Centro, São Bernardo do Campo, São Paulo, SP – Brasil

E-mail: marildasavoia@gmail.com

Artigo recebido em 13/06/2017, revisado em 05/09/2017, aceito em 06/10/2017

DOI: 10.5935/abc.20180038

Introdução

A doença de Chagas ou a tripanossomíase americana é uma infecção parasitária peculiar, uma vez que o *Trypanosoma cruzi* é um parasita intracelular único que causa a presença citoplasmática de formas de amastigota, um evento celular raro na natureza, já que o citoplasma é geralmente livre de parasitas em quase todas as infecções intracelulares.¹ Após sua reprodução, o parasita tem um conjunto de enzimas, como as sialidases, que transferem moléculas da célula hospedeira para a sua superfície, permitindo a evasão celular sem interrupção.² Todos esses processos poderiam alterar o citoesqueleto celular e suas proteínas, provavelmente gerando sinais nas células hospedeiras que alteram a síntese proteica de proteínas estruturais. A vimentina é uma proteína estrutural importante da célula, um componente de filamentos celulares intermediários imersos no citoplasma.³ A vimentina é expressa no músculo cardíaco normal e seus tumores, e os autoanticorpos contra a vimentina são encontrados na rejeição do aloenxerto⁴ ou em modelos cardíacos de rejeição de aloenxerto.⁵ A vimentina é imitada por algumas proteínas bacterianas e anticorpos anti-vimentina são produzidos em doenças cardíacas autoimunes, como a febre reumática.⁶ Neste trabalho, estudamos a distribuição de vimentina em células LLC-MK2 infectadas com *T. cruzi* e anticorpos anti-vimentina em soros de várias imagens clínicas de tripanossomíases americanas, a fim de elucidar qualquer envolvimento da vimentina na resposta humoral dessa patologia.

Métodos

Parasitas e amostras de soro

Os epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* foram cultivados a partir da cepa Y rotineiramente mantida em nosso laboratório em meio de cultura de Infusión de Hígado y Triptosa (IHT) suplementada com 10% de soro de vitelo fetal. Os tripomastigotas de *T. Cruzi* foram obtidos a partir de sobrenadantes de cultura de células LLC-MK2 previamente infectadas. O anticorpo monoclonal Anti-Vimentina de rato (V6630) e a vimentina da lente bovina foram obtidos comercialmente (Sigma Aldrich, Saint Louis, Missouri, EUA). Soro de um paciente com tripanossomíase americana cardíaca crônica foi usado como anticorpo anti-*T. cruzi*. Foram utilizados soros humanos de pacientes com Tripanossomíase americana e controles do biorepositório de pacientes com *T. cruzi*, ESUmezawa, Lab. Protozoology, foram recuperadas amostras de E.S. Umezawa, Lab. Protozoology IMTSP, serologicamente caracterizadas em testes sorológicos TESA específicos e publicadas anteriormente em vários artigos, compreendendo 26 soros de doença aguda, 33 de doença cardíaca isolada, 17 de doença digestiva isolada, 20 sem doença clínica (doença assintomática) e 40 soros de pacientes fora da área endêmica. Todos os dados clínicos foram mantidos pelo médico assistente e não estão disponíveis para este estudo.

Expressão e morfologia do antígeno

Todos os testes morfológicos foram realizados em um microscópio epifluorescente Zeiss Axioplan com filtros de fluoresceína. Para a detecção do antígeno, fixamos

células de controle LLC-MK2, células LLC-MK2 infectadas com *T. cruzi* e epimastigotas de *T. Cruzi* e impregnamos a superfície celular com Triton X-100⁷ com anticorpos anti Vimentin ou anti *T. cruzi* como é descrito em outra parte. Após este passo, os anticorpos ligados foram revelados com um conjugado de fluoresceína adequado, lavados cuidadosamente e montados em glicerina para observação. Os campos representativos foram digitalizados no campo de alta potência com uma câmera Canon.

TESA e ELISA vimentina

O antígeno excretado secretado de tripomastigotas de *T. cruzi* foi obtido como descrito em outra parte.⁸ TESA (1/80) e Vimentina (0,06 ug / ml) em carbonato 0,05 M pH 9,6 foram adsorvidos durante a noite aos poços de placas ELISA de 96 poços (Corning Inc. New York, EUA). Após a lavagem e bloqueio com PBS Tween 20, 0,05% mais 5% de leite ou 0,5% de BSA, incubaram-se diluições adequadas de soro (1/50 vimentina e 1/200 TESA) durante uma hora. Após lavagens adicionais, se adicionou diluição adequada do conjugado de peroxidase durante mais uma hora, se lavou e ligou o conjugado desenvolvido durante 1 h com ortofenilenodiamina e peróxido de hidrogênio. Após 30 minutos a 37°C, a reação foi parada com HC1 4N e a absorvência de 492 nm foi determinada num leitor de microplacas (Multiskan-Titertek II).

Análise estatística

Todos os dados quantitativos, como O.D. ELISA, foram analisados usando ANOVA após o teste Levene para verificação de variância, com comparações intragrupo pelo teste de Bonferroni, se houver uniformidade de variâncias. Na ausência dessa homogeneidade, os dados foram analisados por testes de Kruskal-Wallis com pós-testes de Dunns. Optamos pela representação gráfica de dados individuais em trama de pontos com associação de média e SEM para comparação. A análise qualitativa, como frequência de soros positivos no grupo, foi feita por testes exatos de Fisher em duas análises de grupo. Também incluímos 95% de intervalo de confiança da proporção estimada. A diferença significativa foi considerada quando a probabilidade de igualdade ($H_1 = H_0$) foi inferior a 0,05 ($p \leq 0,05$), utilizando análise de duas colunas e potência superior a 90%. Utilizamos o pacote estatístico GraphPad Prism 7.0 para todas as análises estatísticas e plotagem.

Resultados

Analisamos a distribuição de Vimentina em células de cultura usando ensaios de fluorescência indireta como descrito em Métodos, utilizando como controle externo soros de anti-*T. Cruzi*, derivado a partir de pacientes com infecção crônica por identificação dos parasitas no mesmo modelo, como pode ser visto na Figura 1. As células LLC-MK2, a célula hospedeira utilizada para o crescimento intracelular de *T. Cruzi*, apresentaram coloração citoplasmática discreta e uniforme na maioria das células (Figura 1A). Essas células não são reativas aos anticorpos anti-*T. cruzi*, sem qualquer coloração (Figura 1B). Após a infecção e o crescimento de amastigotas de *T. Cruzi*, essas células expressam quantidades elevadas de vimentina, com forte coloração de citoplasma

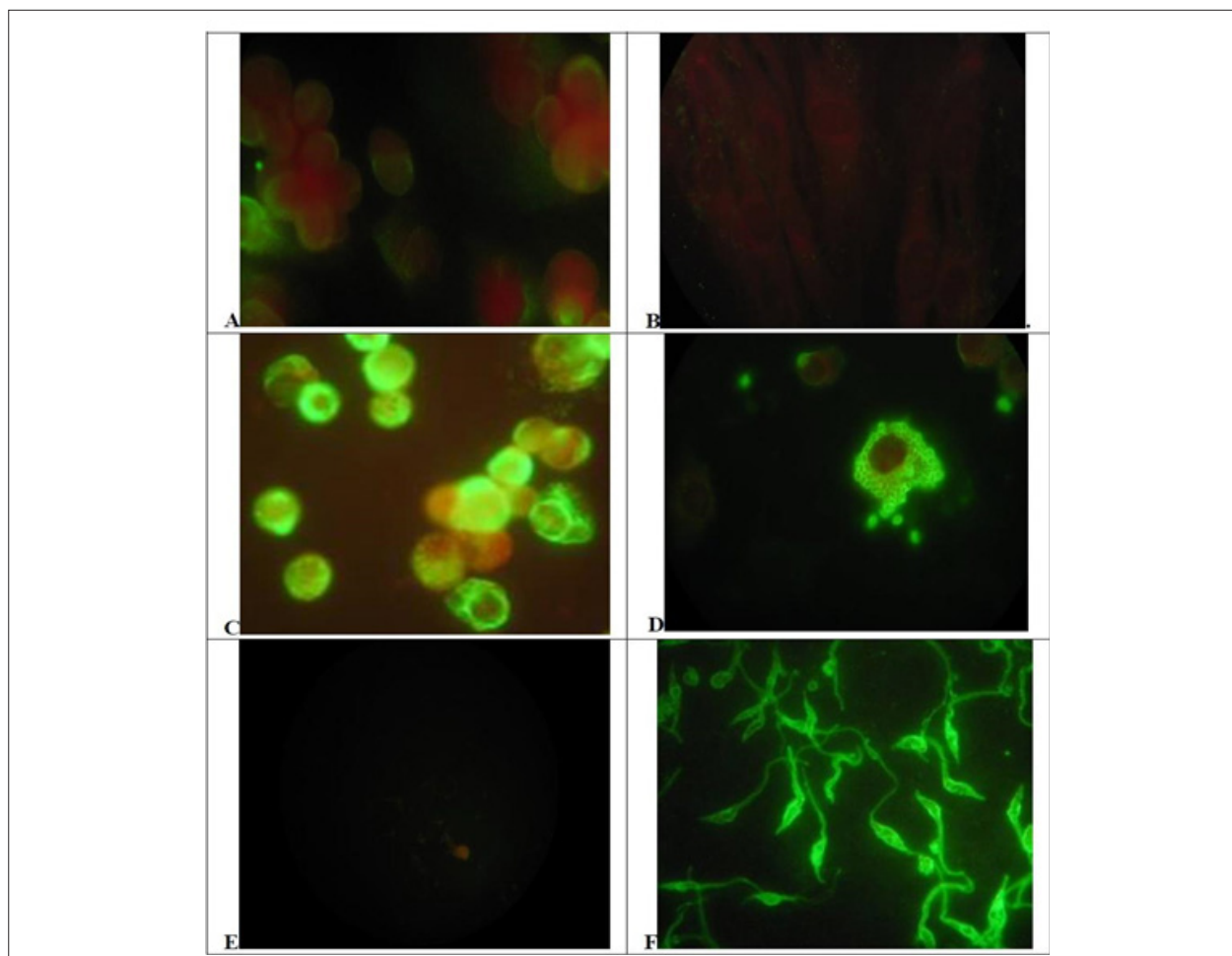


Figura 1 – Distribuição do antígeno de Vimentina ou *Trypanosoma cruzi* em células de controle ou infectadas e parasitas. A e B) células LLC MK2 não infectadas reagiram a anti-vimentina abs (A) ou anti-*T. cruzi* abs (B). C e D) Células MK2 infectadas. Células LLC MK2 infectadas com *T. cruzi* reagiram a anti-vimentina abs (C) ou anti-*T. cruzi* abs (D). E e F) Formas de cultura *in vitro* de promastigotas *T. cruzi* reagiram a anti-vimentina abs (E) ou anti-*T. cruzi* abs (F). As células, células infectadas ou formas parasitas foram reagidas com mAb anti-vimentina ou soro de Chagas cronicamente infectado e reveladas com um conjugado adequado (x1000) (ver Métodos).

fora do vacúolo parasitóforo e algumas partículas com padrões de sombreamento, sugerindo que a vimentina está associada com o citoplasma da célula (Figura 1C). A vimentina poderia envolver parasitas citoplasmáticos não corados, mas não foi observada coloração específica de parasitas. Estes parasitas foram facilmente identificados por anticorpos anti-*T. Cruzii* mostrando um padrão morfológico típico no citoplasma de células infectadas (Figura 1D). Não se observou qualquer coloração destes parasitas mAbs anti-vimentina, demonstrando a ausência de mimetismo antigênico, para os amastigotas (Figura 1C) e os parasitas extracelulares (Figura 1E). Estes parasitas extracelulares são fortemente corados por anticorpos de *T. Cruzii*, bem como por amastigotas intracelulares (Figura 1F).

Autoanticorpos anti-vimentina

Procuramos anticorpos anti-vimentina em soros humanos de controles ou pacientes com tripanossomíase americana. Nossa amostra foi composta de pacientes com formas

clínicas bem definidas, conforme descrito em Métodos. O ELISA Vimentina foi preparado com proteína comercial e a ligação do anticorpo foi revelada por conjugados comerciais. A padronização foi fácil, pois os controles foram adequadamente negativos, permitindo uma definição de corte adequada. Nós também testamos todas as amostras em um ensaio ELISA de alta especificidade, o TESA, o qual usa um antígeno secretado excretado em fase sólida, com alta reatividade em todas as formas clínicas de tripanossomíases americanas. Esses ensaios podem ser vistos na Figura 2. Nós demonstramos claramente que todos os pacientes em nossa amostra de tripanossomíase americana reagiram muito bem no teste TESA, sem amostras falso positivas ou duvidosas nos grupos controle. Todas as formas clínicas apresentaram uma reatividade similar para os antígenos parasitas, incluindo aqueles com infecção assintomática. Os anticorpos anti-vimentina estavam presentes na maioria das amostras de tripanossomíases americanas, mas eles estão notavelmente mais presentes em síndromes agudas ou definidas clinicamente (76,9%), especialmente

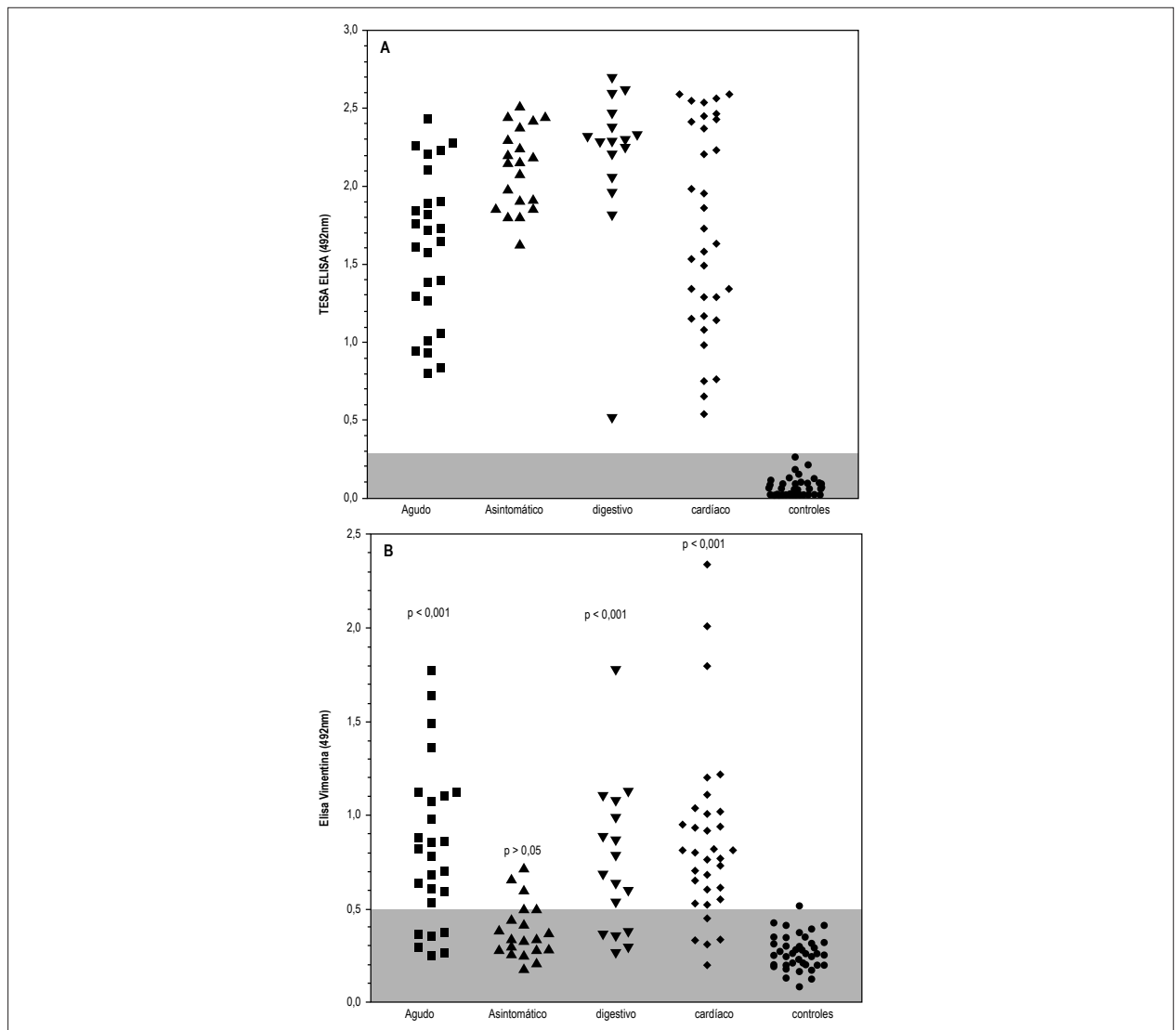


Figura 2 – Perfil de reatividade dos soros de pacientes com diferentes formas clínicas de doença de Chagas por ELISA com antígenos *T. Cruzi* TESA (A) e vimentina comercial (B). Os grupos foram comparados com a ANOVA com testes posteriores de Bonferroni.

doenças cardíacas (87,9%) e formas digestivas em 70,5%. Paradoxalmente, eram relativamente infrequentes em pacientes infectados assintomáticos (25%), que apresentavam uma reação sorológica claramente positiva aos antígenos parasitas, mas apresentavam baixa frequência de anticorpos anti-vimentina, semelhante aos controles (2,5%), $p > 0,05$, teste ANOVA de Bonferroni) ou frequência de amostras positivas (Tabela 1) com conclusões semelhantes. A principal reatividade desses autoanticorpos parece ser mais intensa em doença cardíaca ativa ou aguda, que foi associada a grande carga parasitária e resposta inflamatória mais do que a doença digestiva ou assintomática. A proporção de soro reativo também foi mostrada na Tabela 1, assumindo que o valor de corte é estimado como definido nos métodos. A reatividade ELISA anti-vimentina dos soros de pacientes com doença clínica ativa para qualquer origem teve maior frequência do que em pacientes sem doença ativa ou controles não infectados. Os dados foram comparados

principalmente com ativos ou indeterminados sem formas clínicas de doença de Chagas mostrando uma diferença maior como era esperado com alta diferença estatística ($p < 0,01$) e também foi demonstrado por um intervalo de confiança de 95% da proporção.

A Tabela 1 Resume os dados obtidos na Figura 2 e fornece índices positivos de ELISA com Vimentina comercial, mostrando que a porcentagem de soro positivo dos grupos de pacientes crônicos com manifestações clínicas da doença de Chagas e o grupo de pacientes da fase aguda foi maior que o observado no grupo indeterminado de pacientes chagásicos.

O índice positivo dos soros dos pacientes na fase aguda foi de 76,9% com 20 soros positivos dos 26 analisados. Na porcentagem positiva, o grupo digestivo crônico foi de 70,5% com 12 positivos nos 17 pacientes analisados, os pacientes cardíacos tiveram uma porcentagem positiva de

Tabela 1 – Porcentagem de positividade de soro com diferentes formas clínicas de doença de Chagas para o antígeno Vimentin na reação ELISA

Forma clínica	Amostras (n)	Positivos (n)	Negativos (n)	Positividade (%)	95% I.C. (p vs w/o Chagas)	V p Indeterminado
Aguda	26	20	6	76,9	53-87 (p < 0,001)	p < 0,001
Cardíaca	33	29	4	87,8	67-93 (p < 0,001)	p < 0,001
Digestiva	17	12	5	25	42-84 (p < 0,001)	p < 0,01
Simtômática	76	61	15	80,2	70-88 (p < 0,001)	p < 0,001
Indeterminada	20	5	15	70,5	5-44 (p < 0,05)	
Chagas Total	96	66	30	68,5	52-75 (p < 0,001)	
Sem Chagas	40	1	39	2,5	1-4%	

*Test exato de Fisher

87,9% com 29 soros positivos dos 23 analisados e no grupo de pacientes indeterminados, o índice foi de 25% com 5 pontos positivos dos 20 analisados. A positividade dos soros não chagásicos foi de 2,5% ou apenas um soro positivo em 40 analisados.

Discussão

Esta infecção intracitoplasmática resultou em expressão alterada de proteínas fibrilares celulares, como a vimentina, como mostramos claramente na imunofluorescência de células infectadas. Esta produção alterada de vimentina é desprovida de associação com o parasita, a qual não possui reatividade com anticorpos anti-vimentina de qualquer forma. A vimentina é importante para a entrada de vírus específicos, outro possível patógeno citoplasmático e é utilizado pelo vírus da febre aftosa (VFA) para o crescimento de vírus dentro das células.⁹

A infecção viral altera a arquitetura da célula hospedeira de forma semelhante, como o parvovírus em ratos,¹⁰ mas outros agentes patogênicos também afetam a distribuição de vimentina em células infectadas, com uma distribuição perivacuolar semelhante, como nas infecções por Salmonella.¹¹ Estudos proteômicos em modelos experimentais da infecção por *T. cruzi* mostrou níveis plasmáticos de vimentina relacionados à gravidade da doença,¹² que podem oferecer filamentos intracelulares de resposta imune para a produção de anticorpos. Estes dados eram esperados, uma vez que os autoanticorpos da vimentina poderiam estar relacionados à exposição ao antígeno durante a infecção ativa, conforme proposto em modelos experimentais de infecção por *T. cruzi*.¹² Várias outras doenças imunes que interagem com células musculares cardíacas também apresentaram anticorpos anti-vimentina. Os modelos murinos de miocardite viral apresentaram esses anticorpos¹³ assim como também pacientes com febre reumática pós-estreptocócica.¹⁴ A miocardite não infecciosa, como em pacientes com doença arterial coronária¹⁵ e receptores de transplantes renais ou cardíacos¹⁶ também mostrou os anticorpos resultantes de qualquer exposição ao antígeno, sem levar em conta a origem

do dano às células do músculo cardíaco. Nossos dados foram semelhantes a esses achados e os anticorpos anti-vimentina induzidos durante a infecção por *T. cruzi* podem ser um marcador de doença ativa no hospedeiro e seus níveis também podem justificar o tratamento farmacológico em infecção crônica com tripanossomíase americana, já que um grande grupo de pacientes assintomáticos ou indeterminados seriam submetidos a tratamento com frequentes reações adversas aos medicamentos disponíveis. Os anticorpos anti-vimentina podem ser um marcador de danos às células do músculo cardíaco, aparecendo em pacientes com tripanossomíase americana durante o dano das células musculares ativas.

Conclusões

Nossos dados revelaram que os anticorpos anti-vimentina induzidos durante a atividade da infecção por *T. Cruzii* poderiam ser um marcador de doença ativa no hospedeiro, apesar da ausência de comprometimento clínico óbvio. Este ensaio também pode ser um teste de seguimento não-invasivo durante o tratamento farmacológico na doença de Chagas ou na tripanossomíase americana. Este teste poderia permitir a seleção de potenciais pacientes ativos para terapia e também fornecer um marcador de atividade da doença após a terapia, impedindo que um grande grupo de pacientes assintomáticos sem doença ativa seja submetido ao tratamento com reações adversas frequentes. Os anticorpos anti-vimentina podem ser um marcador da afecção inflamatória das células do músculo cardíaco apresentadas por pacientes com tripanossomíase americana com dano celular ativo e devem ser analisados em outras condições inflamatórias do músculo cardíaco, como a miocardite viral.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Nascimento MS, Stolf AMS, Umezawa ES; Obtenção de dados: Nascimento MS, Stolf MAS; Análise e interpretação dos dados: Nascimento MS, Stolf AMS, Andrade Junior HF, Pandey RP, Umezawa ES; Análise estatística: Nascimento MS, Andrade Junior HF; Obtenção de

financiamento: Nascimento MS, Umezawa ES; Redação do manuscrito: Nascimento MS, Stolf AMS, Pandey RP; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Nascimento MS, Andrade Junior HF, Pandey RP.

Potencial conflito de interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo foi financiado pelo FMUSP.

Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de Mestrado de Marilda Savoia Nascimento pela Universidade de São Paulo.

Aprovação ética e consentimento informado

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo sob o número de protocolo 0564/08. Todos os procedimentos envolvidos nesse estudo estão de acordo com a Declaração de Helsinki de 1975, atualizada em 2013. O consentimento informado foi obtido de todos os participantes incluídos no estudo.

Referências

1. Calvet CM, Melo TG, Garzoni LR, Oliveira FO Jr, Neto DT, N S L M, et al. Current understanding of the *Trypanosoma cruzi*-cardiomyocyte interaction. *Front Immunol*. 2012 Oct 30;3:327. doi: 10.3389/fimmu.2012.00327.
2. Freire-de-Lima L, Fonseca LM, Oeltmann T, Mendonça-Previato L, Previanto JO. The trans-sialidase, the major *Trypanosoma cruzi* virulence factor: three decades of studies. *Glycobiology*. 2015;25(11):1142-9. doi: 10.1093/glycob/cwv057.
3. Lowery J, Kuczumski ER, Herrmann H, Goldman RD. 2015. Intermediate filaments play a pivotal role in regulating cell architecture and function. *J Biol Chem*. 2015;290(28):17145-53. doi: 10.1074/jbc.R115.640359.
4. Mahesh B, Leong HS, McCormack A, Sarathchandra P, Holder A, Rose ML. Autoantibodies to vimentin cause accelerated rejection of cardiac allografts. *Am J Pathol*. 2007;170(4):1415-27. doi: 10.2353/ajpath.2007.060728.
5. Azimzadeh AM, Pfeiffer S, Wu GS, Schröder C, Zhou H, Zorn GL 3rd, et al. Humoral immunity to vimentin is associated with cardiac allograft injury in nonhuman primates. *Am J Transplant*. 2005;5(10):2349-59. doi: 10.1111/j.1600-6143.2005.01022.x.
6. Delunardo F, Scalzi V, Capozzi A, Camerini S, Misasi R, Pierdominici M, et al. Streptococcal-vimentin cross-reactive antibodies induce microvascular cardiac endothelial pro-inflammatory phenotype in rheumatic heart disease. *Clin Exp Immunol*. 2013;173(3):419-29. doi: 10.1111/cei.12135.
7. Kaverina I, Rottner K, Small JV. Targeting, capture, and stabilization of microtubules at early focal adhesions. *J Cell Biol*. 1998;142(1):181-90. PMID: 9660872.
8. Umezawa ES, Nascimento MS, Stolf AM. Enzyme-linked immunosorbent assay with *Trypanosoma cruzi* excreted-secreted antigens (TESA-ELISA) for serodiagnosis of acute and chronic Chagas disease. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2001;39(3):169-76. PMID: 11337184.
9. Gladue DP, O'Donnell V, Baker-Branstetter R, Holinka LG, Pacheco JM, Fernández Sainz I, et al. Foot-and-mouth disease virus modulates cellular vimentin for virus survival. *J Virol*. 2013;87(12):6794-803. doi: 10.1128/JVI.00448-13
10. Nüesch JP, Lachmann S, Rommelaere J. Selective alterations of the host cell architecture upon infection with parvovirus minute virus of mice. *Virology*. 2005;331(1):159-74. doi: 10.1016/j.virol.2004.10.019.
11. Finlay BB, Ruschkowski S, Dedhar S. Cytoskeletal rearrangements accompanying salmonella entry into epithelial cells. *J Cell Sci*. 1991;99(Pt 2):283-96. PMID: 1909337.
12. Wen JJ, Garg NJ. Proteome expression and carbonylation changes during *Trypanosoma cruzi* infection and Chagas disease in rats. *Mol Cell Proteomics*. 2012;11(4):M111.010918. doi: 10.1074/mcp.M111.010918.
13. Sato Y, Matsumori A, Sasayama S. Autoantibodies against vimentin in a murine model of myocarditis. *Autoimmunity*. 1994; 18(2):145-8. PMID: 7742476.
14. Guilherme L, Kalil J. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: cellular mechanisms leading autoimmune reactivity and disease. *J Clin Immunol*. 2010;30(1):17-23. doi: 10.1007/s10875-009-9332-6.
15. Nikkari ST, Solakivi T, Sisto T, Jaakkola O. Antibodies to cytoskeletal proteins in sera of patients with angiographically assessed coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 1993;98(1):11-6. PMID: 8457245.
16. Banan B, Xu Z, Gunasekaran M, Mohanakumar T. Role of alloimmunity and autoimmunity in allograft rejection. *Clinical Transplant*. 2013;325-32. PMID: 25095525.



Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da licença de atribuição pelo Creative Commons