

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA – UniCEUB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

TATIANA SHIROMA BORGES FERREIRA

MECANISMOS MOLECULARES ASSOCIADOS AO EFEITO ANTITUMORAL DO
Trypanosoma cruzi

Trabalho de conclusão de curso em formato de artigo elaborado como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina, sob a orientação do professor Dr. Paulo Roberto Martins Queiroz.

BRASÍLIA
2019

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à minha família, em especial aos meus pais, Ana Paula e Sérgio, por todo o apoio e carinho expressos ao longo de todos esses anos. A paciência e o incentivo de vocês foram cruciais para que eu pudesse chegar até aqui. A vocês, minha eterna gratidão.

Agradeço ao meu melhor amigo e companheiro, Dimitri, por sempre ter me dado força e confiança. Nesses últimos dois anos, você trouxe leveza, amor e alegria aos meus dias, tornando a trajetória mais tranquila.

A todos os professores do curso de Biomedicina, meus sinceros agradecimentos a todos os ensinamentos acadêmicos e pessoais. Gostaria de agradecer especialmente ao professor Paulo, meu orientador e uma das minhas maiores fontes de admiração e inspiração, por toda a paciência, atenção e auxílio. Minha curiosidade e paixão pela Biologia Molecular são graças ao senhor. Muito obrigada.

Mecanismos moleculares associados ao efeito antitumoral do *Trypanosoma cruzi*

Tatiana Shiroma Borges Ferreira¹
Paulo Roberto Martins Queiroz²

Resumo

A doença de Chagas é uma doença potencialmente fatal, endêmica na América Latina, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Nos últimos anos, diversos grupos de pesquisas relataram uma relação adversa entre a infecção pelo parasito e alguns cânceres. O câncer é um problema de saúde pública mundial, representando, aproximadamente, 12% das causas de óbito no mundo. Diante disso, o objetivo do trabalho foi descrever os principais mecanismos associados ao efeito antitumoral do *Trypanosoma cruzi*, salientando os fatores relacionados ao estímulo da resposta imune. Trata-se de uma revisão narrativa da literatura, cuja seleção dos artigos foi feita na base PubMed. Diversas evidências científicas indicam que a infecção pelo parasito interfere no crescimento do tumor em animais experimentais, revelando que o parasito e os tumores compartilham proteínas e antígenos similares. Assim, os produtos gerados pelo *T. cruzi* podem representar uma linha de frente para o desenvolvimento de novas estratégias imunoterapêuticas para o câncer.

Palavras-Chave: *Trypanosoma cruzi*. Câncer. Resposta imune. Efeito antitumoral.

Molecular mechanisms associated with the antitumor effect of *Trypanosoma cruzi*

Abstract

Chagas disease is a potentially fatal disease, endemic in Latin America, caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*. In recent years, several research groups have reported an adverse relationship between parasite infection and some cancers. Cancer is a worldwide public health problem, accounting for approximately 12% of the world's causes of death. Therefore, the objective of this study was to describe the main mechanisms associated with the antitumor effect of *Trypanosoma cruzi*, emphasizing the factors related to the stimulation of the immune response. This is a narrative review of literature, whose selection of articles was done in the PubMed database. Several scientific evidences indicates that infection by the parasite interferes with tumor growth in experimental animals, revealing that the parasite and tumors share similar proteins and antigens. Thus, the products generated by *T. cruzi* may represent a front line for the development of new immunotherapeutic strategies for cancer.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*. Cancer. Immune response. Antitumor effect.

¹ Acadêmica de Biomedicina do UniCEUB

² Professor do UniCEUB

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase americana, é uma doença potencialmente fatal causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi*. Endêmica na América Latina, estima-se que 17 milhões de pessoas estão infectadas no mundo todo, ocasionando mais de 10.000 óbitos anualmente (MONCAYO; SILVEIRA, 2017). Os parasitos são transmitidos aos seres humanos através de insetos vetores, cujo principal envolvido é o triatomíneo, popularmente conhecido como barbeiro. Uma vez totalmente confinada à região das Américas, a doença de Chagas se espalhou para outros continentes ao longo do último século devido, principalmente, ao movimento migratório de entrada e saída da América Latina (WHO, 2018).

T. cruzi é um protozoário flagelado pertencente à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae. Possui um DNA nuclear (nDNA) envolto por membranas contendo poros similares às de células eucariotas, mas, sobretudo, caracteriza-se por apresentar uma matriz mitocondrial que contém o cinetoplasto, onde se encontra uma rede de DNA conhecida como DNA do cinetoplasto (kDNA) (TEIXEIRA *et al.*, 2011). *T. cruzi* apresenta três formas evolutivas, onde a forma epimastigota (multiplicativa) é encontrada no triatomíneo. Já nos mamíferos, o parasito difere-se nas formas tripomastigota (infectiva) e amastigota intracelular (multiplicativa) (RASSI *et al.*, 2012).

Nos últimos anos, diferentes grupos de pesquisa relataram uma relação adversa entre algumas infecções por parasitas e cânceres. Em modelos animais, foi demonstrado que certos parasitos, ou seus produtos, foram capazes de inibir o crescimento tumoral (BATMONKH *et al.*, 2006; CHEN *et al.*, 2011). Dados estatísticos a respeito da mortalidade em diferentes países revelaram que, embora o câncer seja a principal causa nos países desenvolvidos, infecções e doenças parasitárias são consideradas as principais causas de óbito nos países subdesenvolvidos (DARANI; YOUSEFI, 2012).

Representando um importante problema de saúde pública mundial, o câncer constitui, aproximadamente, 12% de todas as causas de óbito no mundo, ocasionando mais de seis milhões de mortes anualmente. Estima-se que o número de novos casos aumente de 10 milhões em 2000 para 15 milhões até 2020, dos quais 60% ocorrerão nas partes menos desenvolvidas do mundo (WHO, 2018). O câncer pode ser causado por diversos fatores, podendo ser internos ou externos ao organismo. De todos os casos, 80 a 90% estão relacionados à fatores ambientais como, por exemplo, o cigarro e a exposição excessiva ao sol (INCA, 2018).

O efeito oncoprotetor do *Trypanosoma cruzi* foi demonstrado em alguns tipos de câncer, como o de cólon e de mama (RAMÍREZ-TOLOZA; ABELLO; FERREIRA, 2016; UBILLOS *et al.*, 2016). A inibição do crescimento tumoral pelo parasito está relacionada ao estímulo das respostas imunes contra o câncer. Esta teoria leva em consideração a apresentação de antígenos comuns, estímulo de imunidade inata ou adaptativa ou inibição de angiogênese, sugerindo que múltiplas moléculas e mecanismos parasitários estejam envolvidos na resistência tumoral mediada pela infecção pelo parasito (ZENINA *et al.*, 2008).

T. cruzi possui uma variedade de moléculas capazes de modular o sistema imune, sendo a calreticulina uma delas (TcCRT) (FERREIRA *et al.*, 2004). A TcCRT é altamente homóloga à calreticulina humana (HuCRT), uma molécula extremamente pleiotrópica e conservada, presente em todas as células de organismos superiores, exceto eritrócitos. Suas principais funções estão associadas à modulação de expressão gênica, indução de fagocitose de células apoptóticas, antiangiogênese e inibição de crescimento tumoral (MICHALAK *et al.*, 2009).

Diversos estudos debatem vigorosamente sobre a questão de similaridade entre mucinas superficiais em células de carcinoma e glicoproteínas de superfície presentes no *T. cruzi*. Estruturas tipo mucina são características de numerosos tipos de células tumorais humanas (CAMPO *et al.*, 2014). Neste caso, a variabilidade estrutural dessas moléculas pode resultar em uma alta probabilidade de coincidência entre os alvos imunes dos antígenos de *T. cruzi* e mucinas de células tumorais (OSINAGA, 2007).

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi descrever os principais mecanismos associados ao efeito antitumoral do *Trypanosoma cruzi*, visando compreender os fatores relacionados ao estímulo da resposta imune e apresentar o papel dos produtos do parasito na interação parasito-hospedeiro e no crescimento tumoral.

2. METODOLOGIA

O presente trabalho é uma revisão narrativa da literatura que visa descrever alguns dos mecanismos associados ao efeito antitumoral do *Trypanosoma cruzi*. Esta metodologia, quando comparada à revisão sistemática, é mais aberta e flexível; dificilmente parte de um tema bem delimitado. Os artigos são selecionados de forma arbitrária, fornecendo ao autor informações passíveis a viés de seleção (CORDEIRO *et al.*, 2007).

Neste trabalho, foram descritos e discutidos os mecanismos e fatores associados ao efeito antitumoral do *Trypanosoma cruzi*. As consultas foram feitas na base PubMed por meio

das seguintes palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*, *antitumoral activity*, *cancer* e *immune response*. Para selecionar os artigos, as palavras-chave foram combinadas duas a duas utilizando o operador booleano “and”.

A seleção dos artigos foi feita nos idiomas português e inglês com publicação entre os anos 2003 e 2018, desde que disponibilizados na íntegra e com informações sobre o assunto em questão. Vale ressaltar que artigos datados de antes do período da busca foram igualmente selecionados devido à sua relevância para o trabalho.

3. DESENVOLVIMENTO

3.1 Doença de Chagas

A doença de Chagas, descrita pela primeira vez em 1909 por Carlos Chagas, afeta aproximadamente 17 milhões de pessoas no mundo todo e causa 12.500 mortes ao ano; 41.200 novos casos são relatados anualmente na América Latina (MONCAYO; SILVEIRA, 2017). Um considerável contingente da população infectada migrou das áreas rurais para os centros urbanos de países endêmicos, levando à urbanização da doença para diversos países (SCHMUNIS; YADON, 2010).

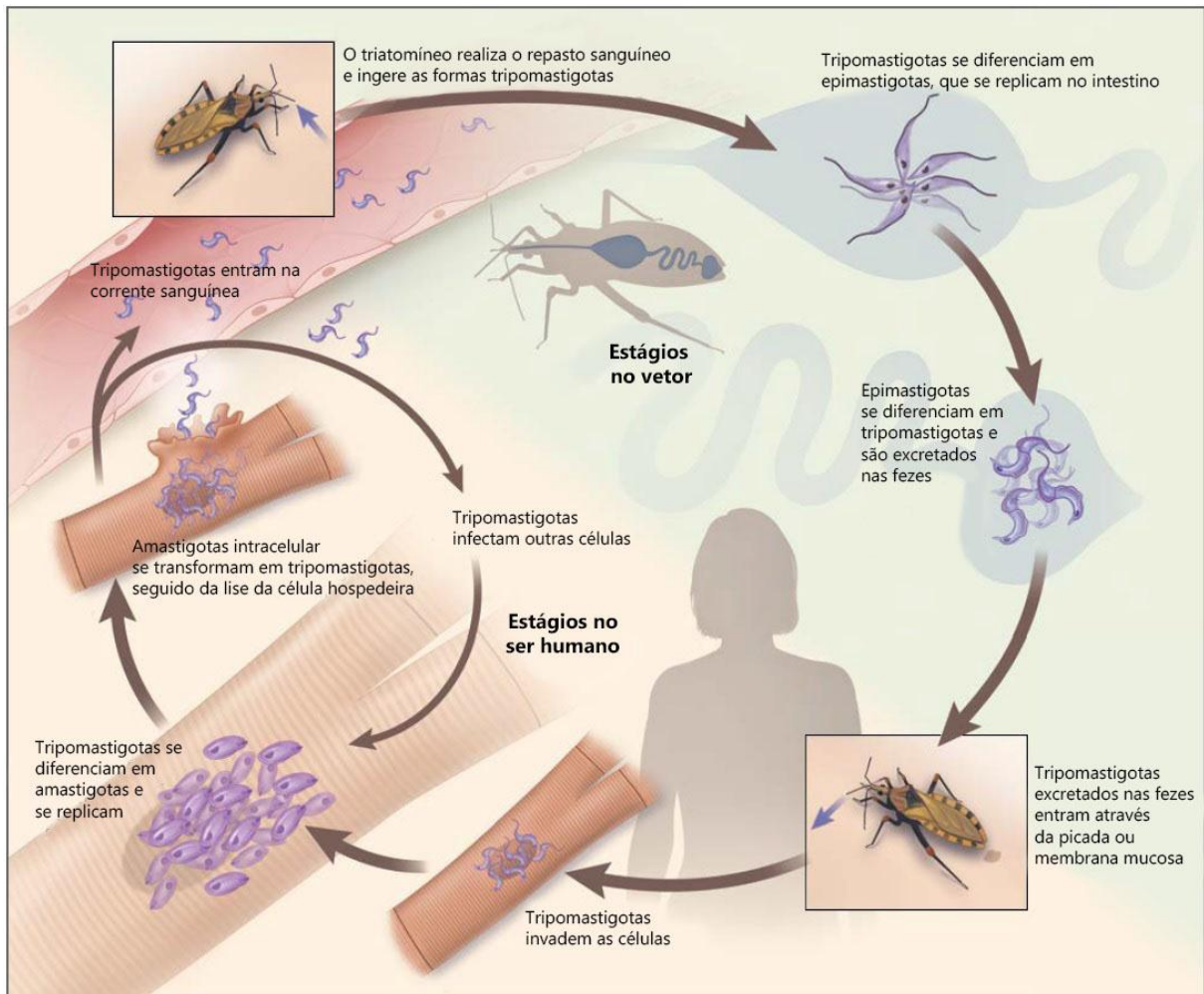
O agente etiológico da doença de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, é um parasita protozoário que adquire formas flageladas no sangue periférico e fluidos biológicos e formas multiplicativas (não-flageladas) nos tecidos de animais infectados e humanos (SHIKANAI-YASUDA; CARVALHO, 2012). Os vetores biológicos são insetos domésticos e silvestres da subfamília Triatominae; os mais frequentes são *Triatoma infestans* e *T. brasiliensis*. Tais insetos são encontrados, principalmente, na região das Américas, onde uma grande variedade de mamíferos atua como hospedeiro reservatório (COURA, 2010).

Os parasitos são transmitidos quando as fezes infectadas do inseto vetor são inoculadas através de um local de picada ou de uma membrana mucosa intacta do hospedeiro (figura 1). A transmissão vetorial é limitada à área das Américas. Outras possíveis vias de infecção – tanto em áreas endêmicas quanto não endêmicas – incluem transfusão sanguínea, transplante de órgãos e medula óssea, transmissão congênita e, por via oral, através da ingestão de bebidas e alimentos contaminados (RASSI *et al.*, 2012).

Após a transmissão, o período de incubação é de 1 a 2 semanas. A fase aguda é marcada pela parasitemia detectável por microscopia. Os sintomas geralmente são leves e inespecíficos, podendo incluir febre, mal-estar, hepatoesplenomegalia e linfocitose atípica.

Em casos raros, um nódulo cutâneo (chagoma) ou edema palpebral indolor (sinal de Romaña) pode indicar o local da inoculação. Na maioria das vezes, as infecções agudas não são detectadas (BERN *et al.*, 2011).

Figura 1: Esquema representativo do ciclo de vida do protozoário *Trypanosoma cruzi* tanto no *T. infestans* quanto em humanos.



Fonte: Adaptado de BERN, 2015.

Nas pessoas que sobrevivem à fase aguda, a resposta imune mediada por células controla a replicação do parasito, os sintomas somem espontaneamente e a parasitemia desaparece em 4 a 8 semanas. Então, os indivíduos passam para a fase crônica da infecção, caracterizada pela “síndrome dos megas” (megacárdio, megaesôfago e megacólon). A cardiomiopatia chagásica é a complicação mais grave, envolvendo as câmaras cardíacas e danos ao sistema de condução. A doença esofágica varia de distúrbios de motilidade assintomáticos a megaesôfago grave, com sintomas como disfagia e refluxo. O megacólon se

caracteriza pela constipação prolongada. O endurecimento das fezes leva a um espessamento e dilatação do cólon sigmóide e reto, causando dor e desconforto (BERN, 2015; TEIXEIRA *et al.*, 2011).

A evolução da patogênese da doença de Chagas não é totalmente compreendida, uma vez que teorias de persistência parasitária e autoimunidade não conseguiram elucidar completamente seus mecanismos. Diversos estudos mostram que a persistência da sintomatologia e o desenvolvimento de lesões autoimunes podem ser resultados de algum tipo de transferência gênica lateral do parasito para o hospedeiro (TEIXEIRA *et al.*, 1994; NITZ *et al.*, 2004; HECHT *et al.*, 2010).

A sobrevida durante a fase aguda requer uma resposta inflamatória envolvendo células imunes inatas e macrófagos ativados por interferon- γ e fator de necrose tumoral α , e na fase crônica, a imunidade mediada por células T mantém a replicação do parasito sob controle (MACHADO *et al.*, 2012). Entretanto, a incapacidade de regular negativamente a resposta inflamatória, mantida pela persistência do parasito e influenciada por fatores do hospedeiro e do parasito, parece desempenhar um papel predominante na patogênese (DUTRA *et al.*, 2014).

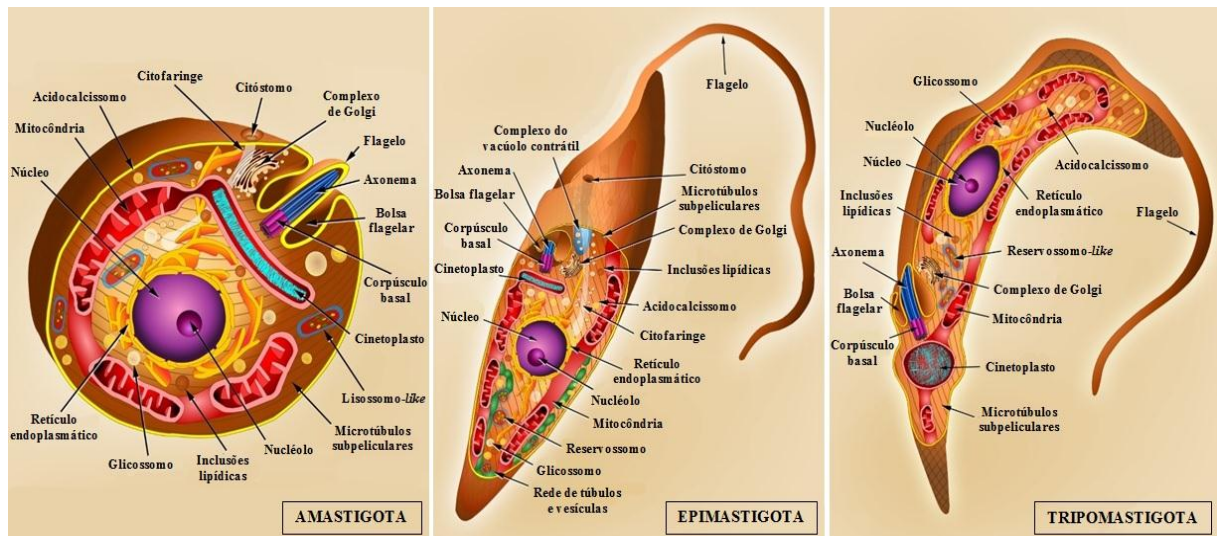
3.2 *Trypanosoma cruzi*

O agente etiológico da doença de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, é um protozoário flagelado de grande importância médica e veterinária pertencente à família Trypanosomatidae, ordem Kinetoplastida. Possui um ciclo de vida complexo envolvendo hospedeiros mamíferos e insetos vetores onde, nesses últimos, se difere em epimastigota (forma multiplicativa) e tripomastigota (forma infectante para o hospedeiro vertebrado). Nos mamíferos, são encontradas as formas amastigota intracelular (multiplicativa) e tripomastigota (figura 2) (TEIXEIRA *et al.*, 2006).

T. cruzi armazena DNA genômico – DNA nuclear (nDNA) – em um núcleo envolto por membranas contendo poros similares às de células eucariotas. Durante a divisão celular, a membrana nuclear mantém suas estruturas típicas, mas a cromatina se dispersa e os microtúbulos intranucleares se tornam aparentes em associação com placas densas correspondentes aos cromossomos (CAMPBELL; STURM, 2009). O genoma do parasito codifica mais de 20.000 proteínas distintas, porém apenas 2.784 foram identificadas por análises espectrofotométricas, representando, aproximadamente, 10% do proteoma previsto (ATWOOD *et al.*, 2005).

O parasito se caracteriza, principalmente, por apresentar o cinetoplasto, uma estrutura localizada na região anterior da mitocôndria que percorre toda a sua extensão. O cinetoplasto do *T. cruzi* é uma estrutura discóide, localizado no interior da matriz mitocondrial, ao qual está fisicamente ligado por um conjunto de filamentos. Tal arranjo é semelhante a uma rede, composta por uma grande quantidade de DNA extranuclear denominado DNA do cinetoplasto (kDNA) (TEIXEIRA *et al.*, 2011).

Figura 2: Representação esquemática das formas do *Trypanosoma cruzi*.



Fonte: Adaptado de TEIXEIRA *et al.*, 2012.

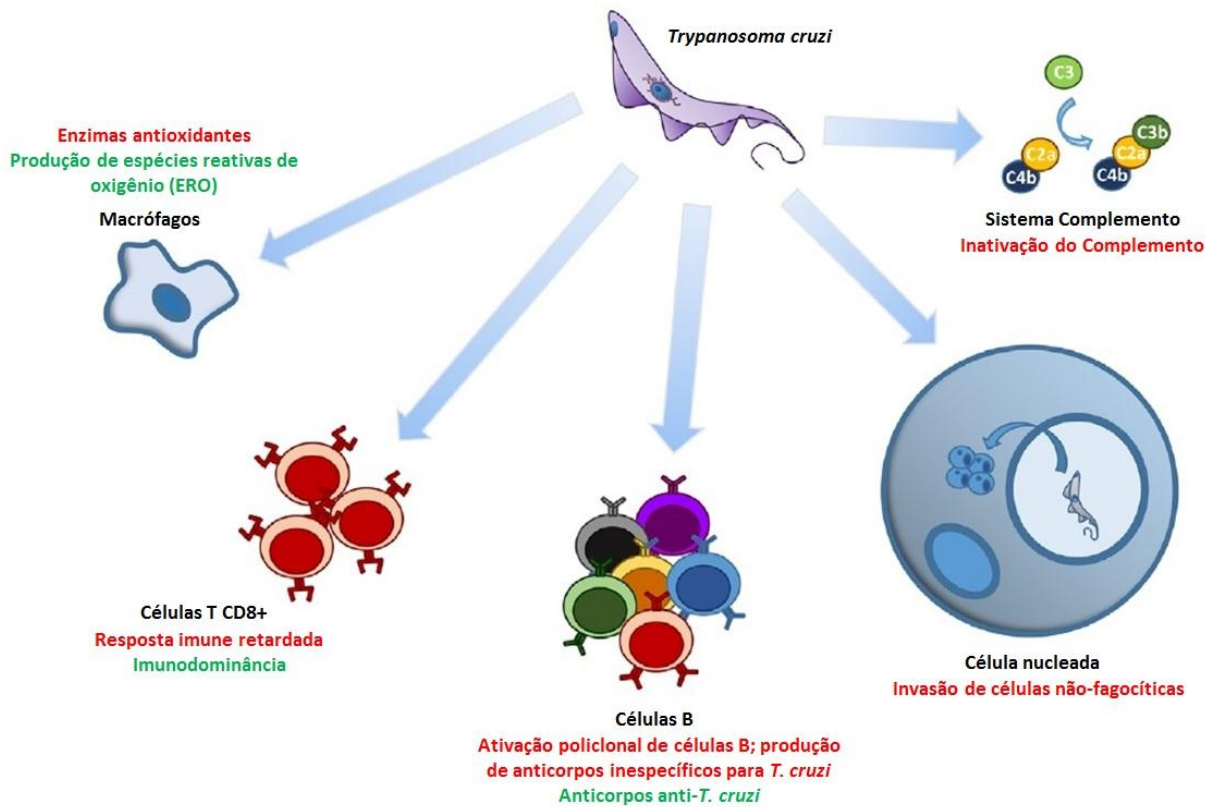
O kDNA compreende 15 a 30% do DNA celular total e é composto por dois tipos de anéis de DNA: maxicírculos e minicírculos. Cada minicírculo consiste em quatro regiões constantes intercaladas por sequências variáveis (HECHT *et al.*, 2010). Blocos de sequências constantes de minicírculos (CSB) são locais específicos para replicação, transcrição e recombinação, bem como pontos para transferência lateral de sequências de kDNA para o núcleo da célula hospedeira (SIMÕES-BARBOSA *et al.*, 2006).

T. cruzi é um protozoário intracelular obrigatório que apresenta um complexo mecanismo de invasão celular. Geralmente, infecta macrófagos locais, fibroblastos e tecido muscular (HEMMIGE; TANOWITZ; SETHI, 2012). No entanto, diversos estudos experimentais demonstraram um tropismo moderado do parasito por células cancerígenas em hospedeiros portadores de tumor. Dentro da célula hospedeira, após vários ciclos de divisão, os amastigotas e tripomastigotas lisam a membrana celular, liberando todo o conteúdo citoplasmático no espaço extracelular e expondo-os ao sistema imunológico do hospedeiro.

Nestas condições, uma reação contra antígenos de células cancerígenas análogas pode ser produzida (KALLINIKOVA *et al.*, 2001).

Ao longo de sua evolução, o parasito desenvolveu diversos mecanismos para escapar do sistema imune inato e adaptativo do hospedeiro (figura 3). Um deles é a indução de um estado imunossupressor, descrito tanto na fase aguda da infecção experimental como na infecção humana pelo *T. cruzi*. Esta condição é caracterizada por anergia de linfócitos T, bem como ativação policlonal de células B com produção de anticorpos de baixa afinidade contra o *T. cruzi*. Assim, a inibição da imunidade do hospedeiro observada durante a fase aguda é um caminho essencial para a persistência do parasito e o consequente estabelecimento da fase crônica (OLADIRAN; BELOSEVIC, 2012; NARDY *et al.*, 2016).

Figura 3: Esquema representando os principais mecanismos envolvidos na sobrevivência e controle do *T. cruzi* durante a fase inicial da infecção.



Legenda: Mecanismos associados ao controle da carga parasitária estão destacados em verde, enquanto aqueles envolvidos na modulação parasitária do sistema imune do hospedeiro e/ou com o aumento da carga parasitária estão destacados em vermelho.

Fonte: Adaptado de CARDOSO; REIS-CUNHA; BARTHOLOMEU, 2016.

O protozoário interage com moléculas específicas presentes nas células hospedeiras e na matriz extracelular. As glicoproteínas fundem-se com a membrana plasmática como

proteínas associadas à membrana extracelular, com adesão, sinalização parácrina, enzimas superficiais e funções de diferenciação celular (TEIXEIRA *et al.*, 2011). Aproximadamente 50% do genoma do *T. cruzi* codifica uma diversidade de proteínas de superfície, dentre elas, calreticulina (RAMÍREZ *et al.*, 2012), proteases, mucinas e proteínas associadas às mucinas (EL-SAYED *et al.*, 2005).

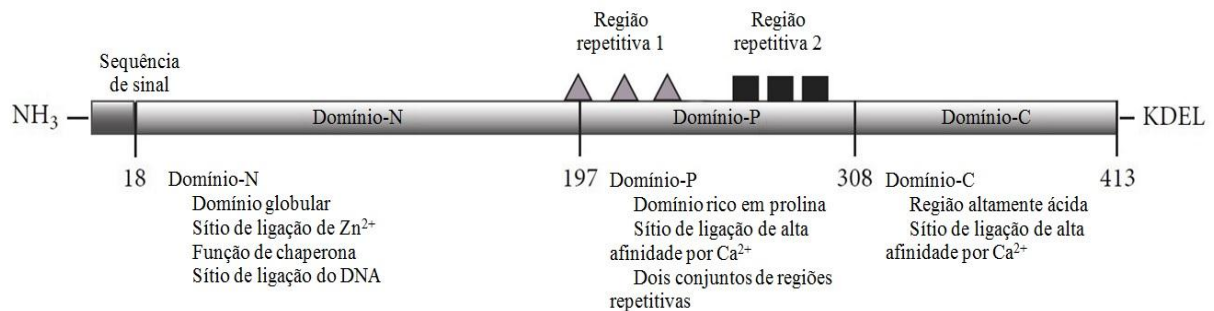
3.3 Calreticulina

A calreticulina (CRT) é uma chaperona pleiotrópica – com uma ampla variedade de ações biológicas – e evolutivamente conservada, contida no retículo endoplasmático (RE). A proteína é encontrada em todas as células nucleadas, na superfície celular e no meio extracelular; participando na regulação da homeostase do cálcio e no dobramento de novas glicoproteínas (MICHALAK *et al.*, 2009). A CRT atua na modulação da expressão gênica, fagocitose de células apoptóticas e inibe a ativação do sistema complemento. Além disso, pode inibir a proliferação celular, angiogênese e crescimento tumoral (AGUILAR-GUZMÁN *et al.*, 2014; FERREIRA *et al.*, 2004).

A CRT possui suas funções distribuídas em três diferentes domínios da molécula: terminal N-globular (N), domínio rico em prolina (P) e terminal C ácido (figura 4). Um domínio S, dentro de N e P, se liga ao componente C1 do sistema complemento, impedindo o início da via clássica de ativação (RAMÍREZ-TOLOZA *et al.*, 2015). A calreticulina e o seu fragmento N-terminal ligam-se à laminina, com propriedades antiangiogênicas *in vitro* e *in vivo*, inibindo o crescimento em vários modelos tumorais. A vasostatina, um fragmento do terminal-N, é um potente inibidor endógeno da angiogênese e supressor do crescimento tumoral. Atua, também, inibindo a proliferação e induzindo a apoptose celular (CAI *et al.*, 2008; SHU *et al.*, 2014).

A correlação entre os níveis de expressão da calreticulina e a tumorigênese tem sido bastante estudada em vários tipos de câncer, onde a maioria das pesquisas indicou que os tecidos tumorais expressam níveis significativamente mais altos de CRT em comparação com os tecidos normais (ZAMANIAN *et al.*, 2013). Um estudo mostrou que a concentração de CRT urinária tem uma tendência a aumentar em tumores de alto grau. Tal achado indica que o aumento da expressão de CRT pode desempenhar um papel crucial durante a progressão do câncer (KAGEYAMA *et al.*, 2009).

Figura 4: Esquema representativo da estrutura da calreticulina e as respectivas funções de seus domínios.



Fonte: Adaptado de LU; WENG; LEE, 2015.

A calreticulina, quando exposta na superfície celular, representa um importante papel na destruição de células cancerígenas, induzindo a resposta imune e facilitando a fagocitose das mesmas (WIERSMA *et al.*, 2015). A CRT é considerada como um sinal pró-fagocítico para múltiplos cânceres humanos, e essa função é interrompida por um sinal antifagocítico CD47. Diversos estudos descreveram um sinal aumentado de CD47 em quantidades elevadas de CRT nas superfícies das células cancerígenas, evitando a fagocitose pelo sistema imunológico (figura 5) (GARDAI *et al.*, 2005; CHAO *et al.*, 2010).

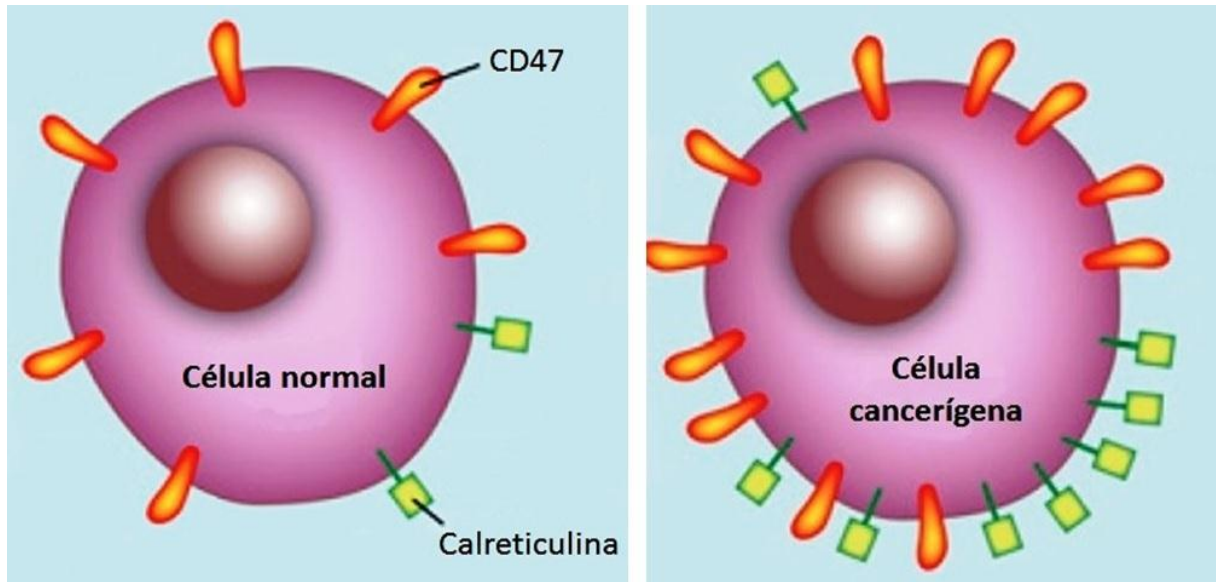
Trypanosoma cruzi pode utilizar sua própria calreticulina (TcCRT), um suposto marcador universal de apoptose celular, em uma estratégia de “mimetismo apoptótico” para gerar sinais pró-fagocíticos (isto é, através da captura de C1 na área de emergência do flagelo), facilitando a invasão de células hospedeiras (OBEID *et al.*, 2007). Baixos níveis de anticorpos anti-TcCRT foram identificados em pacientes infectados pelo *T. cruzi*, revelando a capacidade imunogênica da proteína (RAMÍREZ-TOLOZA *et al.*, 2015).

Entre os mamíferos, as CRTs são, aproximadamente, 95% idênticas na sequência de aminoácidos, restringindo assim a imunogenicidade da chaperona. Por outro lado, apesar da distância evolutiva, a TcCRT compartilha 50% da homologia geral da sequência com a CRT, sendo mais capaz de gerar epítomos imunogênicos na superfície de tumores de mamíferos. Além disso, o terminal N-globular, responsável por propriedades antiangiogênicas, e as características estruturais do domínio-P também compartilham homologias de estrutura, revelando assim a possibilidade de semelhanças funcionais (RAMÍREZ *et al.*, 2011).

Semelhante à CRT, a TcCRT inibe o sistema complemento interagindo com C1, o primeiro componente da via clássica. A proteína é translocada do RE para a área de emergência do flagelo, onde C1 é recrutado e inibido na primeira etapa de ativação do complemento (FERREIRA *et al.*, 2004). A inibição de C1 é uma estratégia significativa de

evasão do sistema complemento, sendo um fator de virulência na interação parasito-hospedeiro (VALCK *et al.*, 2010).

Figura 5: Representação esquemática do aumento da expressão de calreticulina e do sinal CD47 em tecidos tumorais.



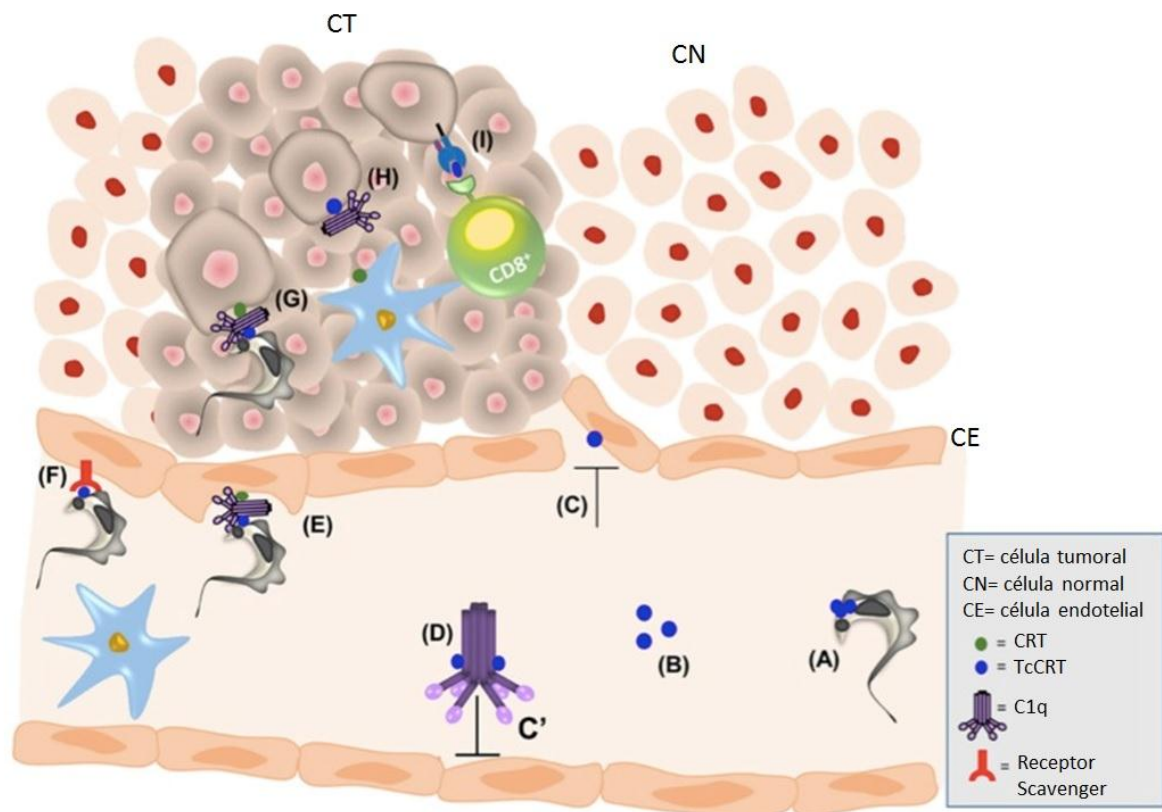
Fonte: Adaptado de URANUE, 2013.

A CRT também é um receptor de membrana para C1, o qual pode ligar a TcCRT na superfície do parasita com a CRT presente na célula hospedeira. A sinapse TcCRT/C1/CRT representa uma importante estratégia de mimetismo molecular, a qual é utilizada de forma semelhante por células apoptóticas a serem fagocitadas (OBEID *et al.*, 2007a). A infectividade parasitária mediada por TcCRT/C1 correlaciona-se com aumentos significativos de RNAm de TcCRT durante os estágios iniciais de infecção (FERREIRA *et al.*, 2005; RAMÍREZ *et al.*, 2011).

Uma vez na circulação, *T. cruzi* é capaz de invadir rapidamente as células endoteliais (CE). A TcCRT se adere à essas células, mediando a internalização do parasito e inibição do crescimento tumoral. Esse contato TcCRT/CE pode ser mediado por C1 ou por ligação direta aos receptores *scavenger* (RS). A afinidade da proteína por estruturas colagenosas é uma possível explicação para sua ligação ao C1 humano e aos RS (FERREIRA *et al.*, 2004). Ambas as vias podem levar à antiangiogênese e gerar um ambiente estressante, onde as células tumorais irão exteriorizar sua CRT, gerando assim um sítio de ligação para C1, seguido por fagocitose destes complexos por células dendríticas (OBEID *et al.*, 2007b).

Nos linfonodos regionais, essas células dendríticas apresentarão peptídeos antigênicos derivados da TcCRT, ativando os linfócitos T citotóxicos, entre outras possibilidades. O fato das células tumorais apresentarem de forma cruzada os peptídeos derivados da TcCRT endocitada para as células T citotóxicas ainda é uma questão de pesquisa. As células T citotóxicas ativadas devem então retornar ao local do tumor e agir contra as células tumorais neoplásicas (RAMÍREZ-TOLOZA *et al.*, 2015). Essas atividades nas células tumorais devem ser favorecidas pelo tropismo do parasito por esses tecidos (figura 6) (KALLINIKOVA *et al.*, 2001).

Figura 6: O efeito antitumoral do *T. cruzi* pode ser explicado pela TcCRT.



Legenda: TcCRT é exposta na superfície do parasito (A) e secretada (B). TcCRT inibe a angiogênese (C) e inativa o componente C1 (D). Sinapse trimolecular formada por CRT/C1q/TcCRT (E). TcCRT é reconhecida pelos receptores scavenger nas CE (F). Complexo CRT/C1q/TcCRT promove a infectividade do *T. cruzi* em CTs (G). TcCRT pode mediar a indução de uma resposta imune antitumoral (H). C1 será reconhecido pela CRT presente em uma APC, seguida pela internalização desse complexo. Ativação de linfócitos T citotóxicos (I).
Fonte: Adaptado de RAMÍREZ-TOLOZA *et al.*, 2016.

O efeito antitumoral do extrato de *T. cruzi* foi reproduzido em modelo murino, revelando que a TcCRT recombinante (rTcCRT) possui importantes atividades antiangiogênicas e antitumorais *in vivo*. Nesse estudo, a imunização com anticorpos

específicos contra a rTcCRT neutralizou o efeito antitumoral do parasito, evidenciando que a proteína é capaz de mediar esse efeito (RAMÍREZ-TOLOZA; ABELLO; FERREIRA, 2016).

A TcCRT e seu domínio N (N-TcCRT) foram estudados em diferentes montagens experimentais em mamíferos, incluindo o *Homo sapiens*. Desta maneira, ambos os complexos inibiram o crescimento capilar *ex vivo* em anéis aórticos de *Rattus rattus*, morfogênese e proliferação em células endoteliais do cordão umbilical humano, bem como angiogênese *in vivo* em *Gallus gallus* (MOLINA *et al.*, 2005). A capacidade antitumoral *in vivo* da infecção pelo *T. cruzi* é paralela à inoculação do rTcCRT, com inibição de 60-70% de um adenocarcinoma mamário murino multirresistente ao metotrexato. Em termos molares, a TcCRT é globalmente mais eficaz que a CRT (LÓPEZ *et al.*, 2010).

Talvez, os efeitos antiangiogênicos da TcCRT reflitam uma adaptação evolutiva do parasito para proteger a integridade do hospedeiro e, como consequência necessária, a sua própria (FERREIRA *et al.*, 2005). Concomitantemente, ao diminuir a angiogênese, o acesso de células imunocompetentes aos locais do parasito pode ser prejudicado, bem como consequentes respostas inflamatórias subsequentes. Ambos os casos podem gerar possíveis benefícios para o *T. cruzi*, embora a segunda estratégia também pudesse beneficiar o hospedeiro da reatividade imune exagerada (RAMÍREZ-TOLOZA *et al.*, 2015).

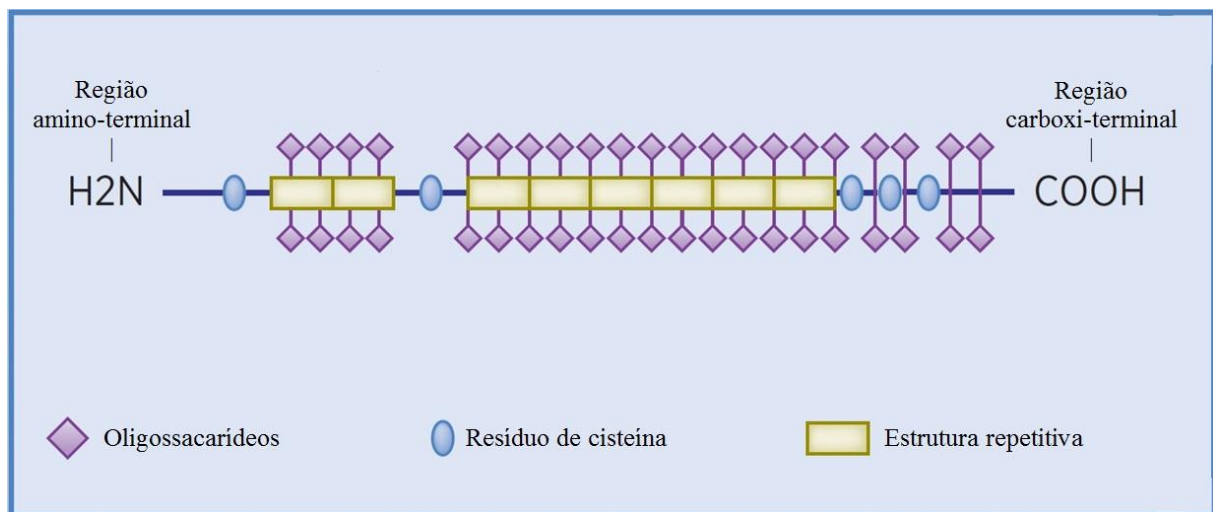
Recentemente, a expressão da CRT foi correlacionada a um prognóstico favorável do câncer. Sua elevada expressão nas células tumorais tem sido associada a uma alta infiltração de células dendríticas maduras e subgrupos de células T de memória, sugerindo que a CRT desencadeia a ativação de uma resposta imune adaptativa no microambiente tumoral. Assim, a TcCRT expressa e secretada pelo parasito também pode ser importante nesse aspecto (FUCIKOVA *et al.*, 2016).

3.4 Mucinas

A mucina é uma família de proteínas de elevada massa molecular, fortemente O-glicosiladas. São constituídas por regiões proteicas amino e carboxi-terminais com uma grande região central formada por repetições em tandem de número variável (VNTR – “*variable number of tandem repeats*”). Essas VNTRs são ricas em prolina, serina e treonina, ligadas a oligossacarídeos (figura 7) (HOLLINGSWORTH; SWANSON, 2004). A maioria dos glicanos do núcleo da mucina são oligossacarídeos compostos de N-acetil galactosamina (GalNAc), N-acetilglucosamina (GlcNAc), galactose (Gal) e ácido neuramínico (ácido siálico) (RAO; JANAKIRAM; MOHAMMED, 2017).

Ácidos siálicos (AcS) são uma família de monossacarídeos de nove carbonos presentes na superfície de todas as células de mamíferos, conferindo diversas atividades biológicas às glicoproteínas e glicolipídeos, como a promoção de interações célula-célula ou mascaramento de sítios de reconhecimento devido à sua carga negativa. Os AcS atuam como receptores de reconhecimento para diversos patógenos, incluindo vírus, bactérias e parasitas (NARDY *et al.*, 2016).

Figura 7: Representação esquemática da estrutura genérica da mucina.



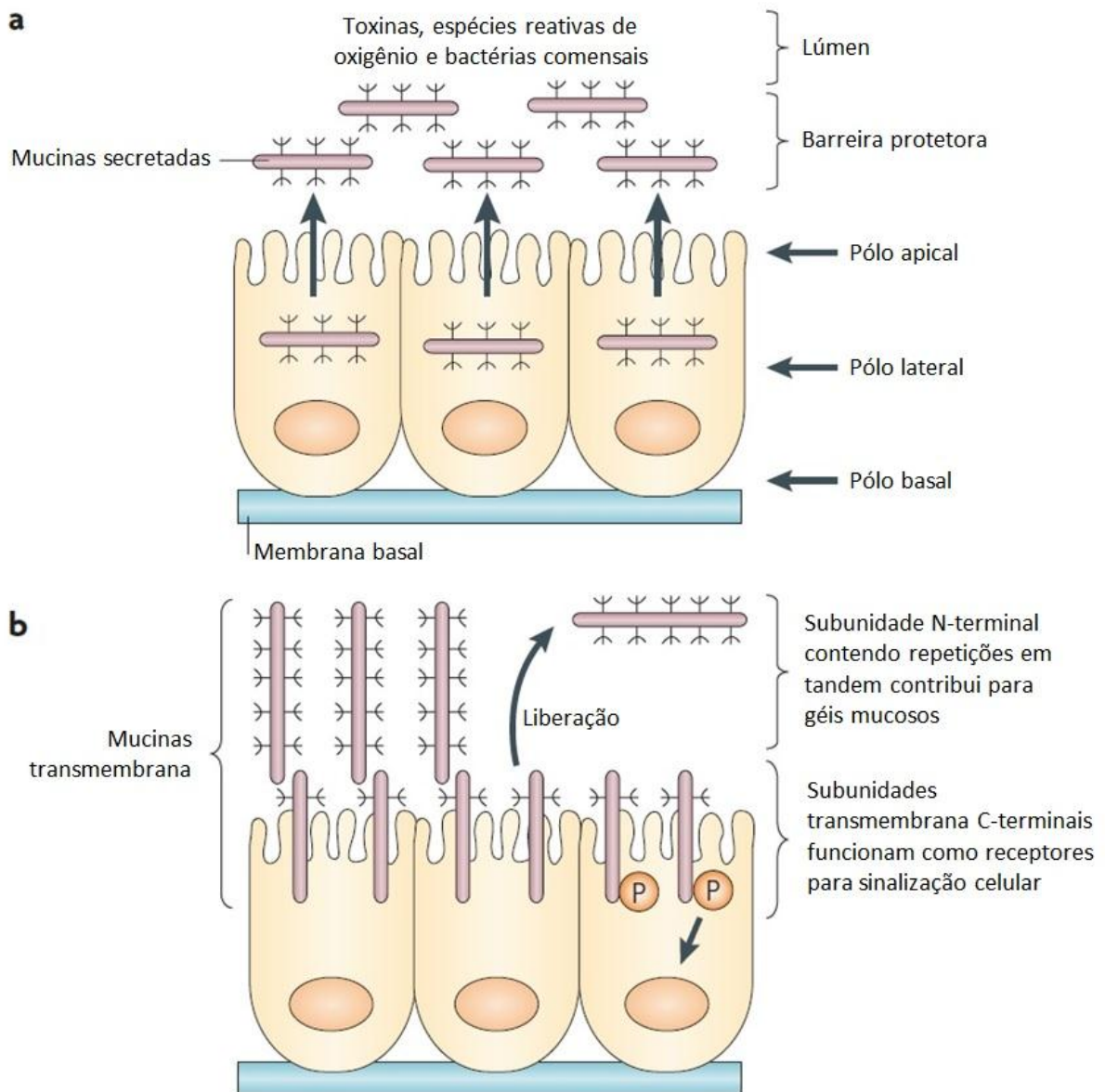
Fonte: Adaptado de RAO; JANAKIRAM; MOHAMMED, 2017.

A família de mucina humana (MUC) consiste em membros – designados MUC1 a MUC21 – que foram subclassificados em formas secretadas e transmembranas. As mucinas secretadas (por exemplo, MUC2, MUC5 e MUC6) formam uma barreira mucosa de gel, protegendo as células epiteliais que revestem os tratos respiratório e gastrointestinal e formando as superfícies ductais de órgãos como o fígado, a mama, pâncreas e rim (figura 8a). As mucinas transmembranas (por exemplo, MUC1, MUC4 e MUC13) desempenham papéis importantes nas interações celulares, na sinalização celular e nos processos biológicos (figura 8b) (KUFE, 2009).

Em geral, essas glicoproteínas baseiam-se em padrões conservados, apresentando oito diferentes combinações. No entanto, em casos de ocorrência de processos biossintéticos anormais ou metabolismo desregulado, os processos alterados de glicosilação das mucinas são frequentemente associados à resposta inflamatória e vários tipos de câncer (OSINAGA, 2007). As grandes glicoproteínas são abundantemente expressas nas células tumorais, no microambiente e nas células tumorais circulantes de pacientes em estágio avançado da

doença. Devido ao seu padrão específico de expressão durante a progressão do tumor, as mucinas permanecem sob intensa investigação como biomarcadores (PASZEK *et al.*, 2014).

Figura 8: Esquema representando a formação de barreiras físicas formadas por mucinas secretadas e transmembrana.



Fonte: Adaptado de KUFFE, 2009.

As mucinas foram identificadas como componentes significativos do glicocálix em vários tumores (TSUBOI *et al.*, 2011). Os O-glicanos truncados, que incluem os antígenos Tn, STn e Thomsen-Friedenreich (TF ou antígeno T), são expostos nas células tumorais, nas quais sua expressão abundante e aberrante lhes confere a classificação de antígenos de carboidratos associados ao tumor (TACA – “*tumor-associated carbohydrate antigens*”), com

propriedades funcionais de adesão, invasão e metástase (SLOVIN *et al.*, 2005). As estruturas TACA podem ser apresentadas pelo complexo principal de histocompatibilidade (MHC) e processadas por células T, provocando respostas imunes específicas (GAIDZIK *et al.*, 2013).

As mucinas encontradas no *Trypanosoma cruzi* mostram algumas diferenças marcantes em comparação àquelas encontradas em mamíferos. Estas se referem principalmente ao padrão de glicosilação peptídica, no qual os resíduos de treonina (Thr) ou serina (Ser) são ligados a unidades de N-acetilglucosamina (α GlcNAc), substituídos por galactose nas posições 4 e 6, em vez de N-acetilgalactosamina (α GalNAc), substituídos por Gal nas posições 3 e 6, como encontradas em mucinas de mamíferos (BUSCAGLIA *et al.*, 2006; LEDERKREMER *et al.*, 2009). Este núcleo α GlcNAc-Ser/Thr não é expresso em humanos, podendo representar um fator imunogênico que poderia ser explorado para estratégias imunoterapêuticas e diagnósticas (ASHMUS *et al.*, 2013).

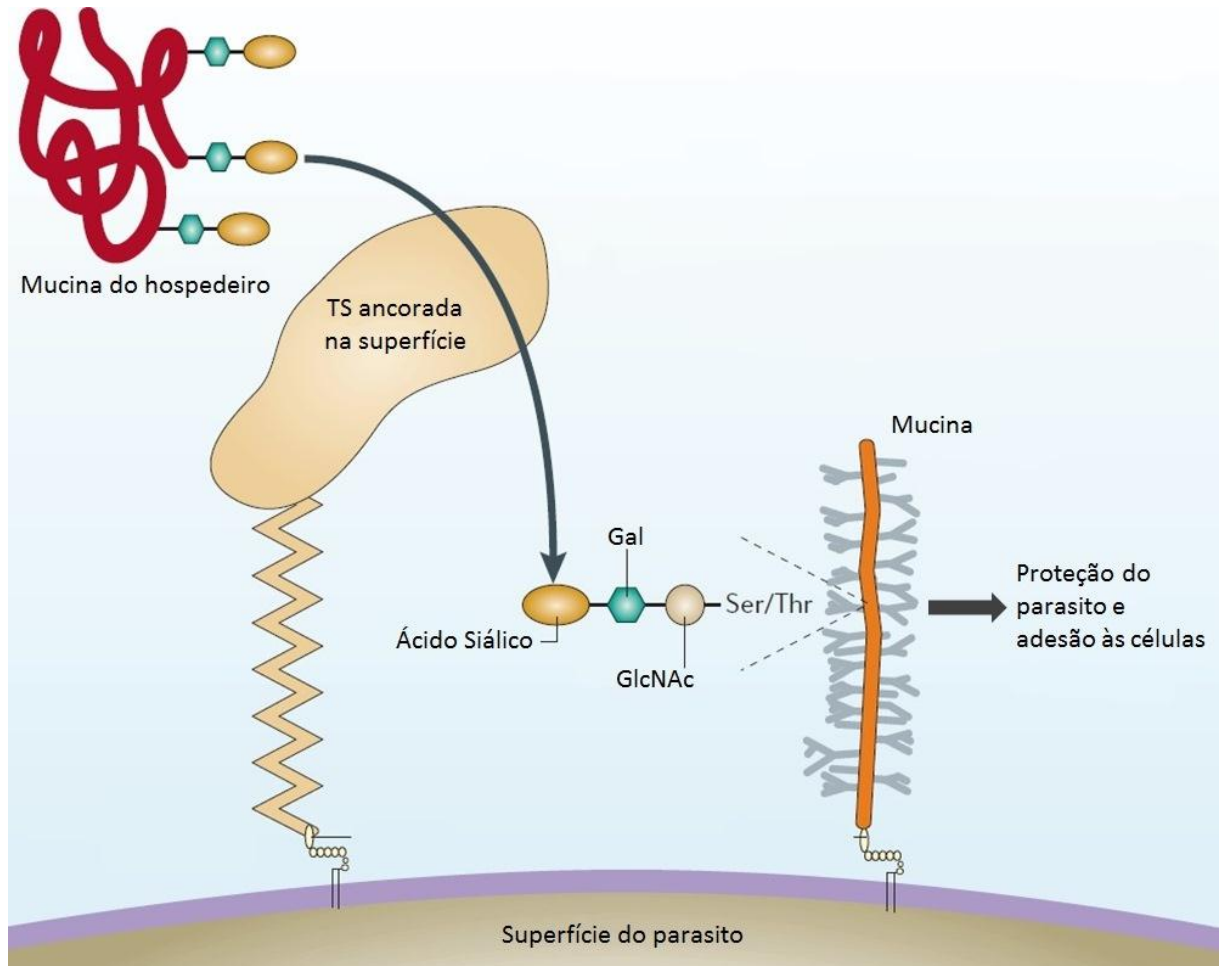
Diferente dos mamíferos, *T. cruzi* é incapaz de sintetizar o ácido siálico porém, requer este açúcar para sobreviver no inseto vetor e/ou no hospedeiro vertebrado. Para superar essa limitação, o parasito expressa uma enzima única, a *trans*-sialidase (TcTS), uma sialidase modificada capaz de transferir resíduos de ácido siálico de mucinas do hospedeiro para as mucinas presentes em sua superfície (figura 9). Além de estarem envolvidas na invasão de células hospedeiras, as mucinas também são capazes de mascarar a presença do parasito da resposta imune do hospedeiro, conferindo resistência ao sistema complemento e protegendo contra a lise mediada por anticorpos (CAMPO *et al.*, 2014; NARDY *et al.*, 2016).

Os antígenos associados ao tumor, como Tn e STn, também são expressos pelo *T. cruzi*, podendo ser imunogênicos na infecção pelo parasito (OSINAGA, 2007). De fato, camundongos na fase crônica da infecção que foram tratados com 1,2-dimetil-hidrazina (DMH), uma substância conhecida por sua capacidade de induzir câncer de cólon (no qual os antígenos Tn e STn são expressos), tiveram taxas de malignidade menores que os animais expostos ao DMH sem contato prévio com o parasito. Assim, a infecção pelo *T. cruzi* pode induzir uma resposta imune de reação cruzada via MHC contra antígenos tumorais previamente expressos no parasito (OLIVEIRA *et al.*, 2001).

Da mesma maneira, o modelo de carcinogênese mamária em ratos, induzida por N-nitroso-N-metiluréia (NMU), demonstrou que a imunização com extratos de *T. cruzi* reduz significativamente o desenvolvimento do tumor. A infecção pelo parasito induz a citotoxicidade celular, com ativação de células T CD4+ e CD8+ e anticorpos de reação cruzada contra células cancerígenas, proporcionando efeitos antitumorais através de

mecanismos envolvendo citotoxicidade celular mediada por células dependentes de anticorpos (ADCC) (UBILLOS *et al.*, 2016).

Figura 9: Representação esquemática da atividade da *trans*-sialidase no *T. cruzi*.



Fonte: Adaptado de BUSCAGLIA *et al.*, 2006.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O efeito antitumoral induzido pela infecção do *T. cruzi* está atribuído ao estímulo de respostas imunes inatas e adaptativas contra o câncer. Essencialmente, essa teoria leva em consideração o ciclo intracelular do *T. cruzi* em mamíferos e a ativação do sistema imunológico mediante liberação de antígenos celulares de células cancerígenas no espaço extracelular, fazendo com que as formas imaturas do parasito atuem como adjuvantes.

Da mesma forma, se o parasito e os tumores compartilham proteínas e antígenos similares, a produção de anticorpos contra o parasita também pode provocar uma resposta imune cruzada contra células cancerígenas, tornando essa associação um importante modelo

para estudos imunoterapêuticos. Ademais, vale ressaltar que as proteínas e antígenos de superfície do *T. cruzi* são mais imunogênicos que aqueles presentes em células humanas, uma vez que apresentam diferenças estruturais.

Diversas evidências científicas indicam que a infecção pelo parasito interfere no desenvolvimento de câncer de cólon e de mama em animais experimentais, revelando que, de fato, a infecção pelo *T. cruzi* se correlaciona com o aumento da resistência à tumores. Com base nisso, os produtos gerados pelo *T. cruzi* podem representar uma linha de frente para o desenvolvimento de novas estratégias imunoterapêuticas e diagnósticas direcionadas para a infecção pelo parasito e alguns tipos de tumor.

5. REFERÊNCIAS

AGUILAR-GUZMÁN, L. *et al.* Human survivin and *Trypanosoma cruzi* calreticulin act in synergy against a murine melanoma in vivo. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 4, e95457, apr. 2014.

ASHMUS, R. A. *et al.* Potential use of synthetic α -galactosyl-containing glycotopes of the parasite *Trypanosoma cruzi* as diagnostic antigens for Chagas disease. **Organic and Biomolecular Chemistry**, Cambridge, v. 11, n. 34, p. 5579-5583, sep. 2013.

ATWOOD, J. A. *et al.* The *Trypanosoma cruzi* proteome. **Science**, Washington, v. 309, n. 5733, p. 473-476, jul. 2005.

BATMONKH, Z. *et al.* In Vivo Anticancer Activity of Lysates from *Trypanosoma Cruzi* of Different Genetic Groups. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, New York, v. 142, n. 4, p. 454-457, oct. 2006.

BERN, C. Chagas' Disease. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 373, n. 5, p. 456-466, jul. 2015.

BERN, C. *et al.* Acute and Congenital Chagas Disease. **Advances in Parasitology**, London, v. 75, p. 19-47, 2011.

BUSCAGLIA, C. A. *et al.* *Trypanosoma cruzi* surface mucins: host-dependent coat diversity. **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 4, n. 3, p. 229-236, mar. 2006.

CAI, K. X. *et al.* Suppression of lung tumor growth and metastasis in mice by adeno-associated virus-mediated expression of vasostatin. **Clinical Cancer Research**, Denville, v. 14, n. 3, p. 939-949, feb. 2008.

CAMPBELL, D. A.; STURM, N. R. *Trypanosoma cruzi* nuclear DNA and its correlation with the parasite lifecycle. **Emerging Chagas disease**, New York, n. 1, p. 70-82, 2009.

CAMPO, V. L. *et al.* Antibodies against mucin-based glycopeptides affect *Trypanosoma cruzi* cell invasion and tumor cell viability. **Chembiochem: a European Journal of Chemical Biology**, Weinheim, v. 15, n. 10, p. 1495-1507, jul. 2014.

CARDOSO, M. S.; REIS-CUNHA, J. L.; BARTHOLOMEU, D. C. Evasion of the Immune Response by *Trypanosoma cruzi* during Acute Infection. **Frontiers in Immunology**, Lausanne, v. 6, n. 659, doi: 10.3389/fimmu.2015.00659, jan. 2016.

CHAO, M. P. *et al.* Calreticulin is the dominant pro-phagocytic signal on multiple human cancers and is counterbalanced by CD47. **Science Translational Medicine**, Washington, v. 2, n. 63, 63ra94, dec. 2010.

CHEN, L. *et al.* Antitumor Effect of Malaria Parasite Infection in a Murine Lewis Lung Cancer Model through Induction of Innate and Adaptive Immunity. **PLoS One**, San Francisco, v. 6, n. 9, e24407, sep. 2011.

CORDEIRO, A. M. *et al.* Revisão Sistemática: Uma Revisão Narrativa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 6, p. 428-431, dez. 2007.

COURA, J. R. Chagas disease: a new worldwide challenge. **Nature**, Basingstoke, v. 465, n. 7301, p. S6-S7, jun. 2010.

DARANI, H. Y.; YOUSEFI, M. Parasites and cancers: parasites antigens as possible targets for cancer immunotherapy. **Future oncology**, London, v. 8, n. 12, p. 1529-1535, dec. 2012.

DUTRA, W. O. *et al.* Immunoregulatory networks in human Chagas disease. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 36, n. 8, p. 377-387, aug. 2014.

EL-SAYED, N. M. *et al.* The genome sequence of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas disease. **Science**, Washington, v. 309, n. 5733, p. 409-415, jul. 2005.

FERREIRA, V. *et al.* Does *Trypanosoma cruzi* calreticulin modulate the complement system and angiogenesis? **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 21, n. 4, p. 169-174, apr. 2005.

FERREIRA, V. *et al.* The Classical Activation Pathway of the Human Complement System Is Specifically Inhibited by Calreticulin from *Trypanosoma Cruzi*. **The Journal of Immunology**, Bethesda, v. 172, n. 5, p. 3042-3050, mar. 2004.

FUCIKOVA, J. *et al.* Calreticulin Expression in Human Non-Small Cell Lung Cancers Correlates with Increased Accumulation of Antitumor Immune Cells and Favorable Prognosis. **Cancer Research**, Baltimore, v. 76, n. 7, p. 1746-1756, apr. 2016.

GAIDZIK, N. *et al.* The development of synthetic antitumor vaccines from mucin glycopeptide antigens. **Chemical Society Reviews**, Letchworth, v. 42, n. 10, p. 4421-4442, may 2013.

GARDAI, S. J. *et al.* Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte. **Cell**, Cambridge, v. 123, n. 2, p. 321-334, oct. 2005.

HECHT, M. M. *et al.* Inheritance of DNA Transferred from American Trypanosomes to Human Hosts. **PLoS One**, San Francisco, v. 5, n. 2, e9181, feb. 2010.

HEMMIGE, V.; TANOWITZ, H.; SETHI, A. *Trypanosoma cruzi* infection: a review with emphasis on cutaneous manifestations. **International Journal of Dermatology**, Oxford, v. 51, n. 5, p. 501-508, may 2012.

HOLLINGSWORTH, M. A.; SWANSON, B. J. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. **Nature Reviews Cancer**, London, v. 4, n. 1, p. 45-60, jan. 2004.

INCA (Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva) 2018. **O que é o câncer?** Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>. Acesso em: 27 set. 2018.

KAGEYAMA, S. *et al.* Urinary calreticulin in the diagnosis of bladder urothelial carcinoma. **International Journal of Urology**, New York, v. 16, n. 5, p. 481-486, may 2009.

KALLINIKOVA, V. D. *et al.* Anticancer properties of flagellate protozoan *Trypanosoma cruzi* Chagas. **Proceedings Russian Academy of Science**, Moskva, v. 3, p. 299-311, jun. 2001.

KUFE, D. W. Mucins in cancer: function, prognosis and therapy. **Nature Reviews Cancer**, London, v. 9, n. 12, p. 874-885, dec. 2009.

LEDERKREMER, R. M. *et al.* Glycobiology of *Trypanosoma cruzi*. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**, Amsterdam, v. 62, p. 311-366, 2009.

LÓPEZ, N. C. *et al.* Antiangiogenic and antitumor effects of *Trypanosoma cruzi* Calreticulin. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 4, n. 7, e730, jul. 2010.

LU, Y. C.; WENG, W. C.; LEE, H. Functional roles of calreticulin in cancer biology. **BioMed Research International**, New York, v. 2015, 526524, mar. 2015.

MACHADO, F. S. *et al.* Current Understanding of Immunity to *Trypanosoma cruzi* Infection and Pathogenesis of Chagas Disease. **Seminars in Immunopathology**, Berlin, v. 34, n. 6, p. 753-770, nov. 2012.

MICHALAK, M. *et al.* Calreticulin, a multi-process calcium-buffering chaperone of the endoplasmic reticulum. **The Biochemical Journal**, London, v. 417, n. 3, p. 651-666, feb. 2009.

MOLINA, M. C. *et al.* An in vivo role for *Trypanosoma cruzi* calreticulin in antiangiogenesis. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdam, v. 140, n. 2, p. 133-140, apr. 2005.

MONCAYO, Á.; SILVEIRA, A. C. Current epidemiological trends of Chagas disease in Latin America and future challenges: epidemiology, surveillance, and health policies. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 1, p. 17-30, jul. 2017.

NARDY, A. F. *et al.* Role of *Trypanosoma cruzi* Trans-sialidase on the Escape from Host Immune Surveillance. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 7, n. 348, doi: 10.3389/fmicb.2016.00348, mar. 2016.

NITZ, N. *et al.* Heritable Integration of kDNA Minicircle Sequences from *Trypanosoma cruzi* into the Avian Genome: Insights into Human Chagas Disease. **Cell**, Cambridge, v. 118, n. 2, p. 175-186, jul. 2004.

OBEID, M. *et al.* Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. **Nature Medicine**, New York, v. 13, n. 1, p. 54-61, jan. 2007a.

OBEID, M. *et al.* Ecto-calreticulin in immunogenic chemotherapy. **Immunological Reviews**, Oxford, v. 220, p. 22-34, dec. 2007b.

OLADIRAN, A.; BELOSEVIC, M. Immune evasion strategies of trypanosomes: a review. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 98, n. 2, p. 284-292, apr. 2012.

OLIVEIRA, E. C. *et al.* Chronic *Trypanosoma cruzi* infection associated with low incidence of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in rats. **Carcinogenesis**, Oxford, v. 22, n. 5, p. 737-740, may 2001.

OSINAGA, E. Expression of Cancer-associated Simple Mucin-type *O*-glycosylated Antigens in Parasites. **International Union of Biochemistry and Molecular Biology**, London, v. 59, n. 4, p. 269-273, may 2007.

PASZEK, M. J. *et al.* The cancer glycocalyx mechanically primes integrin-mediated growth and survival. **Nature**, London, v. 511, n. 7509, p. 319-325, jul. 2014.

RAMÍREZ-TOLOZA, G. *et al.* Is it all that bad when living with an intracellular protozoan? The role of *Trypanosoma cruzi* calreticulin in angiogenesis and tumor growth. **Frontiers in Oncology**, Lausanne, v. 4, n. 382, doi: 10.3389/fonc.2014.00382, jan. 2015.

RAMÍREZ-TOLOZA, G.; ABELLO, P.; FERREIRA, A. Is the Antitumor Property of *Trypanosoma cruzi* Infection Mediated by Its Calreticulin? **Frontiers in Immunology**, Lausanne, v. 7, art. 268, jul. 2016.

RAMÍREZ, G. *et al.* Extracellular *Trypanosoma cruzi* calreticulin in the host-parasite interplay. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 27, n. 3, p. 115-122, mar. 2011.

RAMÍREZ, G. *et al.* Roles of *Trypanosoma cruzi* calreticulin in parasite-host interactions and in tumor growth. **Molecular Immunology**, Oxford, v. 52, n. 3, p. 133-140, oct. 2012.

RAMÍREZ, G. *et al.* *Trypanosoma cruzi* calreticulin: a novel virulence factor that binds complement C1 on the parasite surface and promotes infectivity. **Immunobiology**, Amsterdam, v. 216, n. 2, p. 265-273, feb. 2011.

RAO, C. V.; JANAKIRAM, N. B.; MOHAMMED, A. Molecular Pathways: Mucins and Drug Delivery in Cancer. **Clinical Cancer Research**, Denville, v. 23, n. 6, p. 1373-1378, mar. 2017.

RASSI, A. *et al.* American Trypanosomiasis (Chagas Disease). **Infectious Disease Clinics of North America**, Philadelphia, v. 26, n. 2, p. 275-291, jun. 2012.

SCHMUNIS, G. A.; YADON, Z. E. Chagas disease: A Latin American health problem becoming a world health problem. **Acta Tropica**, Amsterdam, v. 115, n. 1, p. 14-21, aug. 2010.

SHIKANAI-YASUDA, M. A.; CARVALHO, N. B. Oral Transmission of Chagas Disease. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 54, n. 6, p. 845-852, mar. 2012.

SHU, Q. *et al.* Vasostatin inhibits VEGF-induced endothelial cell proliferation, tube formation and induces cell apoptosis under oxygen deprivation. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 15, n. 4, p. 6019-6030, apr. 2014.

SIMÕES-BARBOSA, A. *et al.* Hitchhiking *Trypanosoma cruzi* minicircle DNA affects gene expression in human host cells via LINE-1 retrotransposon. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 8, p. 833-843, dec. 2006.

SLOVIN, S. F. *et al.* Carbohydrate vaccines as immunotherapy for cancer. **Immunology and Cell Biology**, Hoboken, v. 83, n. 4, p. 418-428, aug. 2005.

TEIXEIRA, A. R. L. *et al.* Evolution and pathology in Chagas disease – A Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 5, p. 463-491, aug. 2006.

TEIXEIRA, A. R. L. *et al.* Pathogenesis of Chagas' Disease: Parasite Persistence and Autoimmunity. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 24, n. 3, p. 592-630, jul. 2011.

TEIXEIRA, A. R. L. *et al.* Possible integration of *Trypanosoma cruzi* kDNA minicircles into the host cell genome by infection. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 305, n. 2, p. 197-209, mar. 1994.

TEIXEIRA, D. E. *et al.* Interactive Multimedia to Teach the Life Cycle of *Trypanosoma cruzi*, the Causative Agent of Chagas Disease. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 6, n. 8, e1749, aug. 2012.

TSUBOI, S. *et al.* A novel strategy for evasion of NK cell immunity by tumours expressing core2 O-glycans. **The EMBO Journal**, London, v. 30, n. 15, p. 3173-3185, jun. 2011.

UBILLOS, L. *et al.* *Trypanosoma cruzi* extracts elicit protective immune response against chemically induced colon and mammary cancers. **International Journal of Cancer**, New York, v. 138, n. 7, p. 1719-1731, apr. 2016.

URANUE, E. R. Perspectives on anti-CD47 antibody treatment for experimental cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 110, n. 27, p. 10886-10887, jul. 2013.

VALCK, C. *et al.* Molecular mechanisms involved in the inactivation of the first component of human complement by *Trypanosoma cruzi* calreticulin. **Molecular Immunology**, Oxford, v. 47, n. 8, p. 1516-1521, apr. 2010.

WHO (World Health Organization) 2018. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. Disponível em: <<http://www.who.int/chagas/en/>>. Acesso em: 22 ago. 2018.

WHO (World Health Organization) 2018. **Cancer**. Disponível em: <<https://www.who.int/cancer/en/>>. Acesso em: 24 ago. 2018.

WIERSMA, V. R. *et al.* Mechanisms of Translocation of ER Chaperones to the Cell Surface and Immunomodulatory Roles in Cancer and Autoimmunity. **Frontiers in Oncology**, Lausanne, v. 5, n. 7, doi: 10.3389/fonc.2015.00007, jan. 2015.

ZAMANIAN, M. *et al.* Calreticulin and cancer. **Pathology and Oncology Research**, Budapest, v. 19, n. 2, p. 149-154, feb. 2013.

ZENINA A. V. *et al.* The Study of Immunological Component in AntiTumor Effect of *Trypanosoma cruzi*. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, New York, v. 145, n. 3, p. 326-329, mar. 2008.