

Evaluación de la ingesta de colesterol en conejos infectados con *Trypanosoma cruzi*

An Evaluation of Cholesterol Ingestion in Rabbits Infected with Trypanosoma cruzi

**Alarcón, M.¹; Añez, N.²;
Calderón, L.³ y Matousek, A.³**

¹Laboratorio de Parasitología Experimental (LAPEX).
Departamento de Biología, Facultad de Ciencias,
Universidad de los Andes. E-mail: amaritza@ula.ve
²Investigaciones Parasitológicas "J.F. Torrealba",
Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes.
³Facultad de Farmacia, Universidad de los Andes.

Resumen

Con el propósito de determinar el posible efecto de la infección por *Trypanosoma cruzi* y una dieta aterogénica sobre la interacción Chagas- aterosclerosis se evaluaron grupos de conejos *Silvilagus floridanus orinoci*: **I** control sano **II** con dieta aterogénica (colesterol 60 mg/día); **III** dieta aterogénica e infectados con 2×10^5 tripomastigotos sanguícolas cepa "Y" vía subcutánea y **IV** infectados con *T. cruzi*. Los niveles de colesterol total (CT), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y alta densidad (HDL) fueron determinados en el plasma sanguíneo de cada grupo animal mediante un método colorimétrico microenzimático. Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA). La ingesta diaria de colesterol produjo un incremento progresivo de CT, LDL Y HDL en los grupos de conejos II y III al compararlos con los niveles detectados en los conejos controles sanos y en los del grupo IV infectados. Las concentraciones de CT y LDL y HDL fueron significativamente menores ($P \leq 0.05$) en el grupo de conejos infectados con *T. cruzi*. y dieta aterogénica (III) con respecto al grupo II. Esta disminución del nivel de colesterol y de sus fracciones sugiere una menor capacidad del hígado infectado para liberar lipoproteínas y/o una mayor peroxidación de LDL por efecto de la infección por *T. cruzi*, con el consecuente incremento en la eliminación biliar de colesterol. Finalmente, concluimos que la interacción colesterol- *T. cruzi* favorece la arterioesclerosis. Por otra

parte el daño endotelial debido a la presencia del parásito pareciera favorecer el depósito de colesterol en la microvasculatura y al mismo tiempo los bajos niveles de HDL producen un incremento en la aterogenicidad de la dieta alta en colesterol.

Palabras clave: Infección, *Trypanosoma cruzi*, conejos, colesterol, lipoproteínas de alta densidad, lipoproteínas de baja densidad.

Abstract

In order to determine the possible effect of *Trypanosoma cruzi* infection and an atherogenic diet on the atherosclerosis-Chagas interaction in rabbits (*Sylvilagus floridanus orinoci*), a study was made. The animals were divided into four groups: I.- healthy control; II.- atherogenic (Cholesterol 60mg/day) diet; III.- atherogenic diet infected with Y strain subcutaneously (2×10^5 bloodstream trypomastigotes injected subcutaneously), and IV infected with *T. cruzi* infection. Total Cholesterol concentration (TC), low density (LDL) and high density lipoprotein (HDL) levels were measured in plasma using microenzymatic colorimetric analysis and analysis of variance (ANOVA) was applied to the results. The atherogenic diet produced a progressive increase of TC, LDL and HDL in groups II and III compared with the healthy and infected groups. TC, HDL and LDL levels were significantly lower ($P \leq 0.05$) in group III with respect to group II rabbits. The reduction of TC suggests a diminished capacity of infected liver for lipoproteins to liberate and/or a greater peroxidation of HDL and LDL as an effect of the infection, with a consequent increase in cholesterol bile elimination. Finally, the results suggest that cholesterol diet and *T. cruzi* interaction could favor atherosclerosis disease. On the other hand, the endothelial damage caused by these parasites could favor the cholesterol deposit in the microvasculature and at the same time the lower HDL levels, produce an increase of the atherogenicity through a diet high in cholesterol.

Key words: Infection, *Trypanosoma cruzi*, rabbits, cholesterol, high-density lipoproteins, low-density lipoproteins.

Introducción

La enfermedad de Chagas es una entidad nosológica de curso agudo y/o crónico que afecta $18-20 \times 10^6$ de personas en áreas rurales y urbanas de América, siendo uno de los problemas de salud pública más serios de la región neotropical a causa de su amplia distribución geográfica, alta morbilidad especialmente en la forma cardíaca, alta mortalidad en algunas regiones, su compleja historia natural y las considerables dificultades en el establecimiento de un adecuado diagnóstico y medidas de control (23, 24, 25).

Clásicamente se ha reconocido en esta enfermedad la presencia de varias fases. Estas in-

cluyen: una fase aguda correspondiente en el ser humano al período de parasitemia patente, donde la característica principal es la presencia de tripomastigotes circulantes en la sangre periférica; una fase indeterminada sin manifestaciones clínicas aparentes y la fase crónica, en la cual la parasitemia continúa siendo subpatente y el parasitismo tisular es muy escaso, detectándose sintomatología relacionada con el sistema cardio-circulatorio, digestivo o ambos al mismo tiempo (3, 6, 5).

La detección de triatomíneos vectores de *T. cruzi* en centros urbanos donde han alcanzado un alto grado de adaptación en los domicilios humanos, sumado a la infección de personas con hábitos alimentarios inadecuados y

poco balanceados, parece apoyar las recientes evidencias sobre el efecto de la infección por *T. cruzi* en las células endoteliales de la microvasculatura coronaria, produciéndose cambios en la homeostasis del calcio, hecho que ha sido asociado con la infección constituyéndose de esta manera en un factor de riesgo en favor de la arteriosclerosis (8, 9, 18).

Algunos autores consideran que el desarrollo de *T. cruzi* está regulado por la actividad de la neuraminidasa, una enzima que juega un rol importante en la interacción hospedador-parásito, modulando la infección a través de un mecanismo de control del parásito, por lo que la presencia de anticuerpos anti-neuraminidasa así como otros inhibidores de ésta conllevan al incremento de la infección (11, 12, 14, 15, 16).

Otras investigaciones han comprobado que la infección de células de cultivo de hospedadores vertebrados por tripomastigotes de *T. cruzi* es aumentada por la presencia de HDL de una manera dosis dependiente, Priori y cols. (1990) sugieren que tanto la HDL como la LDL regulan la infección inhibiendo la actividad de la neuraminidasa del parásito (14). Por otro lado, se ha descrito un incremento significativo en los niveles sanguíneos de lípidos (colesterol y triglicéridos) así como también en las relaciones colesterol-LDL y colesterol-HDL en infecciones producidas por *T. cruzi* así como por otros tripanosomátidos (7, 4, 10, 15, 16).

Tomando en consideración la información acumulada sobre el efecto de *T. cruzi* en modelos vertebrados y los posibles efectos de la infección sobre individuos con niveles altos de colesterol, en el presente trabajo nos propusimos evaluar la posible existencia de una potenciación de la infección por efecto de una hipercolesterolemia exógena en el modelo conejo sometido a dieta aterogénica.

Materiales y Métodos

Animales experimentales

20 conejos de la especie *Sylvilagus floridanus orinoci*, machos de cuatro meses de edad con un peso promedio de 3000 gr. fueron divididos en cuatro grupos: I control sano; II con dieta aterogénica (60 mg/día de colesterol al 6% (p/v) en carboximetil celulosa al 0,75%); III dieta aterogénica e infectados con *T. cruzi* cepa "Y" (2×10^5 tripomastigotos sanguícolas vía subcutánea), y IV infectados con *T. cruzi* (Tabla 1). Los animales fueron mantenidos en el Bioterio Experimental de la Facultad de Ciencias de la Universidad de los Andes con alimento concentrado para conejos "Purina®" y agua *ad libitum*.

Parásitos

Trypanosoma cruzi cepa "Y" aislada de un caso agudo de enfermedad de Chagas en Brasil (19). Los aislados infectivos fueron tripomastigotes sanguícolas obtenidos de ratones donadores infectados experimentalmente por vía intraperitoneal con una suspensión de formas metacíclicas de *Rhodnius prolixus*. A los 20 días postinfección los ratones fueron sangrados por cardiopuntura y el número de parásitos fue estimado (2, 13) y ajustado a 2×10^5 tripanosomas/0,2 mL para la

Tabla 1. Distribución de los grupos de conejos según la infección por *Trypanosoma cruzi* y dieta aterogénica.

Grupos de Conejos	<i>T. cruzi</i> (2×10^5)	Dieta Aterogénica Colesterol (60 mg/día)
I	no	no
II	no	si
III	si	si
IV	si	no

inoculación intradérmica de los conejos de los grupos III y IV.

Observaciones sistemáticas fueron llevadas a cabo durante 4 meses en los grupos de conejos infectados con *T. cruzi* y sometido a dieta con colesterol (III) y en el grupo control IV (Figura 1).

Aplicación de colesterol

Para la inducción de la hipercolesterolemia exógena se administró una dosis diaria de 60 mg/mL de suspensión de colesterol a los conejos de los grupos II y III por vía oral durante 118 días que duró el experimento.

Muestras de sangre

La toma de muestra de sangre fue realizada a cada grupo animal una vez por semana durante el primer mes y cada quince días desde el primero hasta el cuarto mes, provocando una vasodilatación en la vena central de la oreja de cada conejo, para extraer aproximadamente 4 mL de sangre por conejo. La sangre fue recolectada en tubos de centrífuga con heparina sódica para la obtención del plasma y realización de las pruebas químicas.

Determinación del perfil lipídico

El perfil lipídico fue determinado en el plasma de los conejos mediante métodos microenzimáticos colorimétricos. El colesterol total fue determinado cuantitativamente por el método CHOP-PAP de Bioscience® (Ref. 500). En la determinación del colesterol-HDL se utilizó el colesterol en lipoproteínas de alta densidad de Bioscience® (Ref. 550). El colesterol-LDL fue determinado por método indirecto según la ecuación de Friedewal:

Colesterol-LDL (mg/dL) = (C-total)

- (Tg/5) - (C-HDL).

C-total = colesterol total.

Tg/5 = triglicéridos (Tabla 5) ÷ 5.

C-HDL = colesterol- HDL

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) para estimar las diferencias significativas existentes entre las medidas con respecto a las variables dieta aterogénica e infección por *T. cruzi* (1).

Resultados

La estimación de la parasitemia patente en el grupo III mantenidos con una dieta alta en colesterol reveló parásitos circulantes en dos de los cinco animales (40%), uno a los 21 días pi. (14 trips/mm³) y en el otro a los 28 días pi. (7 trips/mm³). En el grupo IV constituido por animales infectados no se detectaron parásitos en la sangre periférica de los conejos durante el tiempo de las observaciones (Figura 1).

La detección sistemática de las concentraciones de colesterol total (Tabla 2; Figura 2) y LDL (Tabla 3; Figura 3) en el plasma de animales experimentales revelaron un aumento progresivo en los grupos sometidos a ingesta diaria de colesterol (II y III), en relación a los niveles de colesterol del grupo control. Sin embargo, pudo detectarse que este incremento fue significativamente menor ($p \leq 0.05$) en los grupos de animales infecta-

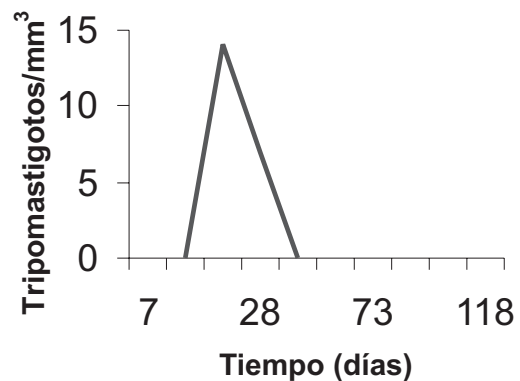


Figura 1. Parasitemia promedio en los conejos inoculados con *Trypanosoma cruzi* y dieta aterogénica.

Tabla 2. Valores promedio de Colesterol Total (mg/dL) detectado en el plasma de los conejos estudiados.

Tiempo en días	G I: Sano	G II: Colesterol	G III: <i>T.cruzi</i> /Colesterol	G IV: <i>T. cruzi</i>
	Colesterol LDL (mg/dL)			
0	20,08	18,92	56,226	19,55
7	24,774	58,19	83,008	22,856
14	32,102	115,632	132,606	22,8
21	32,56	240,56	142,158	24,18
28	32,75	298,046	276,474	26,216
43	34,388	366,012	328,31	27,006
58	37,958	418,108	349,73	27,682
73	37,592	442,192	369,134	28,176
88	37,152	447,504	381,42	30,624
103	37,716	461,968	380,63	31,126
118	36,58	479,4	381,932	31,608

dos con *T. cruzi* (III) comparado con aquellos animales que recibieron solo dieta alta en colesterol (II). De igual forma se observó que la porción HDL fue la que experimento mayor diferencia significativa ($p \leq 0.05$) disminuyendo drásticamente en el grupo III con respecto al grupo II (Tabla 4; Figura 4).

Discusión

La intención fundamental en el presente trabajo ha sido la de demostrar una posible potenciación de la infección por *T. cruzi* como consecuencia de la instauración en el vertebrado de cuadros de hiperlipidemia sérica producto de la ingesta de dietas ricas en colesterol, con la finalidad de extrapolar los resultados al hospedador humano, buscando una posible explicación a la sospechada interacción arteriosclerosis-enfermedad de Chagas en regiones endémicas donde los habitantes expuestos al riesgo de la infección ignoran los posibles efectos de tal asociación.

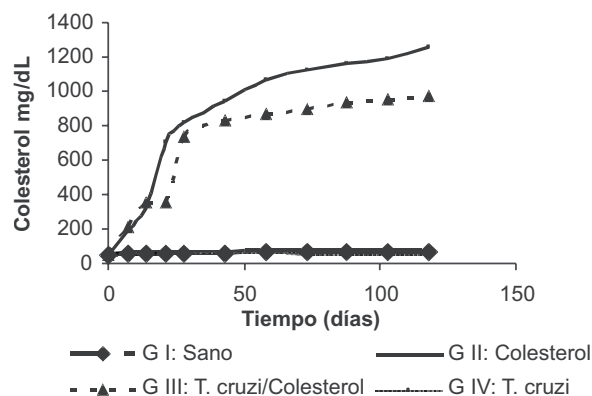


Figura 2. Valores promedio de Colesterol Total detectado en el plasma de los conejos estudiados.

El primer escollo encontrado en el diseño de esta investigación, fue la escogencia de un modelo animal apropiado que pudiera reflejar resultados extrapolables al hospedador humano. En este sentido, seguimos las recomendaciones de expertos quienes consideran, entre otros modelos, al conejo (*Sylvilagus sp.*) como un animal experimental que reproduce algunas de las características de las fases aguda y crónica con los que se define la enfermedad de Chagas (23), las cuales han

Tabla 3. Valores promedio de Lipoproteínas de Baja Densidad (mg/dL) en los diferentes grupos de conejos.

Tiempo en días	G I: Sano	G II: Colesterol	G III: <i>T.cruzi</i> /Colesterol	G IV: <i>T. cruzi</i>
Colesterol LDL (mg/dL)				
0	20,08	18,92	56,226	19,55
7	24,774	58,19	83,008	22,856
14	32,102	115,632	132,606	22,8
21	32,56	240,56	142,158	24,18
28	32,75	298,046	276,474	26,216
43	34,388	366,012	328,31	27,006
58	37,958	418,108	349,73	27,682
73	37,592	442,192	369,134	28,176
88	37,152	447,504	381,42	30,624
103	37,716	461,968	380,63	31,126
118	36,58	479,4	381,932	31,608

sido constatadas por autores neotropicales en el referido modelo (21). De la misma manera, el modelo conejo ha sido ampliamente utilizado experimentalmente para producir cuadros de arteriosclerosis similares a los observados en humanos, después de haber sido sometidos a dietas con alto contenido en colesterol (26, 12). Estos antecedentes y la inconveniencia de utilizar el modelo murino en estudios sobre el metabolismo del colesterol y drogas que lo afectan, justifican la escogencia del modelo conejo para los efectos del presente estudio.

El curso natural de la infección por *T. cruzi* en conejos y las lesiones post-mortem observadas son similares a las encontradas en humanos con enfermedad de Chagas, demostrándose que el conejo cumple con los requerimientos parasitológicos establecidos, tales como: resistencia a la virulencia del parásito, sobrevivencia a la infección aguda y desarrollo tardío de la infección crónica.

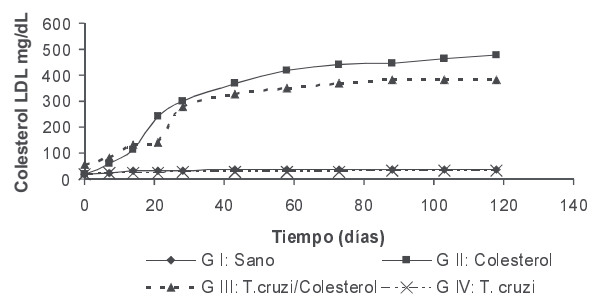


Figura 3. Valores promedio de Lipoproteínas de Baja Densidad en los diferentes grupos de conejos.

Por otro lado, los conejos sometidos a una dieta con un contenido elevado de colesterol desarrollan cuadros de arteriosclerosis similares a los observados en humanos, por lo que han sido utilizados como modelos experimentales en el estudio de diversos aspectos de esta enfermedad (17, 26).

En relación al estudio parasitológico, la estimación de los niveles de parasitemia en los grupos de conejos sometidos a infección por *T. cruzi*, además de ingestión continua de colesterol, pudo constatarse una ligera pa-

Tabla 4. Valores promedio de Lipoproteínas de Alta Densidad en los diferentes grupos de conejos.

Tiempo en días	G I: Sano	G II: Colesterol	G III: <i>T. cruzi</i> /Colesterol	G IV: <i>T. cruzi</i>
	Colesterol HDL (mg/dL)			
0	9	10,4	9,35	10,746
7	10,2	27,654	34,188	11,954
14	11,12	49,6	64,346	12,224
21	11,54	123,62	75,796	12,53
28	12,016	144,86	60,636	13,34
43	11,56	176,68	77,704	13,648
58	11,5	225,3	86,26	14,086
73	11,8	227,44	87,654	14,59
88	11,94	235,42	83,694	14,926
103	12,168	235,12	90,102	15,2
118	12,192	236,8	96,504	15,576

tencia de 7 días de duración, permaneciendo los animales en aparente buen estado físico durante todo el período del experimento. Estas observaciones concuerdan con la de otros investigadores (17) quienes concluyen que el conejo muestra una resistencia natural contra la infección experimental por *T. cruzi*, presentando ligeras parasitemias difíciles de detectar por los métodos de examinación microscópica de sangre periférica disponibles en la actualidad.

Extrapolando estos resultados obtenidos en el modelo conejo al modelo humano, pudiera especularse que la infección por *T. cruzi* podría actuar previniendo los cuadros de arteriosclerosis en las poblaciones humanas de las áreas endémicas para la enfermedad de Chagas, independientemente del consumo de dietas que pudieran generar un aumento de la colesterolemia. Sin embargo, esta disminución de colesterol total podría deberse a una capacidad disminuida del hígado infectado y/o a una mayor peroxidación de LDL por efecto de la infección, con la consecuente eliminación biliar de colesterol.

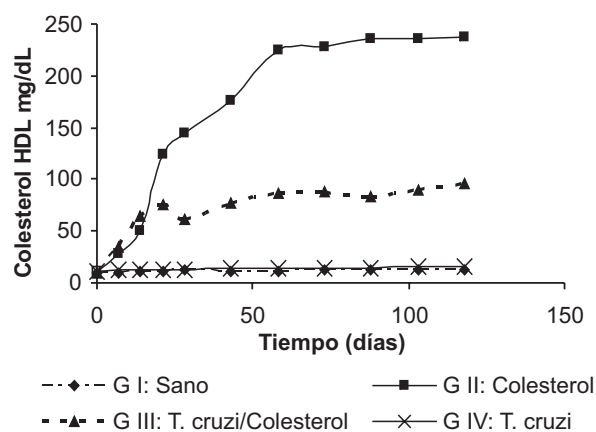


Figura 4. Valores promedio de Lipoproteínas de Alta Densidad en los diferentes grupos de conejos.

Por otra parte se estarían generando células espumosas aterogénicas a partir de macrófagos, como consecuencia de los niveles de triglicéridos circulantes, lo que favorecería la formación de estrías grasas, por lo que la combinación colesterol/infección sería altamente aterogénica sobre todo en los pequeños vasos del corazón. Estas manifestaciones proporcionarían mecanismos adicionales mediante el cual los *T. cruzi* podrían influir en el curso de la aterosclerosis. Este mecanis-

Tabla 5. Valores promedio de las concentraciones de Triglicéridos (mg/dL) en los diferentes grupos de conejos.

Tiempo en días	G I: Sano	G II: Colesterol	G III: <i>T. cruzi</i> /Colesterol	G IV: <i>T. cruzi</i>
Triglicéridos (mg/dL)				
0	30,5	33,8	53,2	32,5
7	34	34,9	39	36,5
14	36,5	36,4	42,7	39,2
21	37	36,8	45	42,4
28	38,1	36,9	46,9	45,1
43	39	37,5	50,7	47,8
58	40,3	37,8	63,9	49,5
73	41,2	38,5	66,5	62,5
88	42,3	42,1	78,1	82,9
103	43,2	46	83	93,4
118	44,2	50,7	84	93,5

mo fue demostrado en un estudio realizado en ratones que combinó una dieta alta en grasa con infección con *T. cruzi* observándose oclusión arterial temprana e infiltrados inflamatorios (células TCD4⁺, TCD8⁺ y macrófagos) en las aortas de todos los animales estudiados; indicando que la combinación de colesterol infección induce inflamación cardiovascular en ratones BALBC (20).

Este hecho pudiera explicarnos los hallazgos reportados por Torres (1958), quien observó la presencia constante de lesiones vasculares, en biopsias de pacientes chagásicos del grupo etario de 10 - 50 años que comprometían de modo dominante las ramificaciones de las arterias coronarias, y consideró que tales lesiones eran semejante a las observadas en los pacientes arterioscleróticos por lo que las denominó “arteriosclerosis chagásica” (22).

Por otra parte, la disminución observado en los niveles séricos de HDL pudiera actuar, como lo sostienen previos investigadores, como potente agente aterogénico. Igualmente, la HDL pudiera actuar inhibiendo la

acción de la enzima neuraminidasa la cual se ha comprobado tiene efectos inhibidores sobre el desarrollo del parásito (10, 11, 12, 13) Este hecho sugiere que ante la presencia HDL así como también de LDL las poblaciones de *T. cruzi* en el vertebrado podrían incrementarse ocasionando los cuadros descritos para la enfermedad de Chagas.

Numerosos estudios han indicado que en la patología de la arteriosclerosis estos procesos son en su mayoría reversibles mediante la eliminación de dietas hiperlipídicas, el daño endotelial producido por el parásito y sus reacciones titulares, podrían ser un factor desencadenante de un proceso arteriosclerótico, principalmente en presencia de niveles elevados de colesterol (26, 27)

Conclusiones

Estos resultados parecieran indicar que la infección por *T. cruzi*, en el modelo conejo, actúa disminuyendo los niveles de colesterol sérico total y de LDL a los cuales se les atribuye efectos aterogénicos importantes como

causa principal de la instauración de cuadros arterioscleróticos; pero la drástica disminución estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$) en las concentraciones del llamado colesterol bueno (HDL), el cual se ha comprobado tiene efectos anti-aterogénicos, contradice tal aseveración, pues ante elevados niveles de CT a expensas de LDL, la cantidad disminuida de HDL se hace insuficiente para ejercer su efecto antiaterogénico, por lo tanto la combinación dieta mal en colesterol mas infección por *T. cruzi* sería altamente aterogénica sobre todo en las arterias coronarias.

Basados en resultados obtenidos en el presente trabajo, se sugiere que pacientes con infecciones activas por *T. cruzi* deberían ser sometidos a exámenes para determinar los niveles séricos de colesterol total y sus fracciones (LDL y HDL), tomando en consideración que concentraciones apreciables de estas fracciones pudieran actuar como factores potenciadores tanto en la patogénesis de la arterioesclerosis como en la enfermedad de Chagas.

Agradecimientos

Soporte financiero FONACIT: Proyecto S1 2002000500.

Referencias bibliográficas

- (1) Abraria V., Pérez A. Métodos multivariantes en bioestadística. Ed. Areces. 1996.
- (2) Brener Z. Ovsevações sobre a imunidade a superinfecciones em camundongos experimentalmente inoculados con *Trypanosoma cruzi* e submetidos a tratament. 1962; 4: 119-123.
- (3) Brener Z. Pathogenesis and immunopathology of chronic Chagas' disease. Mem. Inst Oswaldo Cruz. 1987; 82:205-213.
- (4) Cano R., Rubiolo E., Santamarina N. Levels of paolipoproteins and cholesterol of low and high density lipoproteins in asymptomatic Chagas' disease. Medicina (B. Aires). 1985; 45(3): 269-272.
- (5) Carrasco M., Parada H., Guerrero L., Duque M., Duran D., Molina C. Prognostic implications of clinical, electrocardiographic and hemodynamic findings in chronic Chagas' disease. International Journal of Cardiology. 1994; 43: 27-38.
- (6) Dantas R., Godoy R., Oliveira R., Villenovo M., Meneghlli U., Troncon L. Effect of nifedipine on the lower esophageal spincter pressure in Chagas' patients. Brazilian. J. Med. Biol. Res. 1986; 19: 203-209.
- (7) Fabro A., Calzolari G. Incremento de lípidos en placentas chagásicas humanas: estudio citoquímico y bioquímico. 1980; Revista de la Facultad de Ciencias Medicas (Córdoba). 48 (1-2): 25 -32.
- (8) Morris S., Hatcher V., Tanowitz H., Wittner M. Alterations in intracellular calcium following infection of human endothelial cells with *Trypanosoma cruzi*. Mol. Biochem. Parasitol. 1988; 29: 213-221.
- (9) Morris S., Tanowitz H., Bilezikian J., Wittner M. Modulation of host cell metabolism by *Trypanosoma cruzi*. Parasitology Today. 1991; 7(4): 82-87.
- (10) Nieto C., Barrera R., Habela M., Navarrete Y., Molina C., Jimenea A., Serrera J. Changes in the plasma concentration of lipids and lipoprotein fractions in dogs infected with *Leishmania infantum*. Vet. Parasitol. 1992; 44(3-4): 175-182.
- (11) Orimo H., Ouchi Y. The role of calcium and magnesium in the development of atherosclerosis. Experimental and clinical evidence. An N.Y. Acad. Sci. 1990; 598: 444-457.
- (12) Pereira M., Mejia J., Ortega - Barrera E., Matzilevich D., Prioli P. The *Trpanosoma cruzi* neuraminidase contains sequences similar to bacterial neuraminidases YNTD repeats of the low density lipoprotein receptor, and tipe III modules of fibronectin. J. Exp. Med. 1991; 174 (1): 179-191.
- (13) Pizzi T. La inmunología de la Enfermedad de Chagas. 1957; Universidad de Chile, Santiago.
- (14) Prioli R., Rosenberg Y., Pereira M. High - and low - density lipoproteins enhance infection of *Trypanosoma cruzi* in vitro.

- Mol. Biochem. Parasitol. 1990; 38 (2): 191-198.
- (15) Prioli R., Ordovas J., Rosenberg J., Schaefer E., Pereira M. Similarity of cruzin an inhibitor of *Trypanosoma cruzi* neuraminidase to high - density lipoprotein. Science. 1987; 238 (4832): 1417-1419.
- (16) Prioli R., Rosenberg Y., Shivakumai S., Pereira M. Specific binding of human plasma high density lipoprotein (cruzin) to *Trypanosoma cruzi*. Mol. Biochem. Parasitol. 1988; 28(3): 257-263.
- (17) Rokita E., Cichoki T., Heck D., Jarczyk L., Strazalkowski A. Calcification of aortic wall in cholesterol-fed rabbits. Atherosclerosis. 1991; 87: 183-193.
- (18) Starr M., Rojas J., Zeledon R., Hird D.C., Carpenter T. Chagas Disease: risk factors for hose infestation by *Triatoma dimidita*, the major vector of *Trypanosoma cruzi* in Costa Rica. Am. J. Epidem. 1991; 133(7): 740-747.
- (19) Silva L., Nussenzweig V. Sobre una cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. Fol. Clin. Biol. 1953; 20: 191-207.
- (20) Sunnemark D., Harris R., Frotegard J., Orn A. Induction of early atherosclerosis in CBA/J mice by combination of *Trypanosoma cruzi* infection and highcholesterol diet. Atherosclerosis. 2000; 153: 273 - 282.
- (21) Teixeira A., Figueiredo F., Filho J., Macedo V. Chagas' disease: A clinical, parasitological, immunological and pathological study in rabbits. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1983; 32(2): 258-272.
- (22) Torres M. Arteriosclerose das dinas ramificacoes do miocardio (coronarite chagásica) e miocitolose focal do miocárdio na cardiopatía chagásica crónica. Ohospital. 1958.
- (23) World Health Organization. Report of the first meeting of the scientific working group on Chagas' disease. 1977; 14-18: 4-12.
- (24) World Health Organization. The world health report 1997. Geneva: World Health Organization. 1997.
- (25) Who-world Health Organization. Control of Chagas disease, Technical Report Series. 1991; 811. Geneva, 91 pp.
- (26) Wojcicki J., Rozewicka L., Barew B., Samochowiec L., Juzwiak S., Kadluboska, D.; Tustanowski S.; Juzyszyn Z. Effect of selenium and vitamin E on the development of experimental atherosclerosis in rabbits. Atherosclerosis. 1991; 87(1): 9-16.
- (27) Yamamoto A. Regresion of atherosclerosis in human by lowering serum cholesterol. Atherosclerosis. 1991; 89: 1-10.