

### Enfermedad de Chagas: El desenlace de un conflicto entre el Parásito y el Sistema Inmunitario

José Antonio Escario García-Trevijano, Alicia Gómez Barrio

Departamento de Parasitología. Facultad de Farmacia. Ciudad Universitaria s/n. Universidad Complutense. 28040 Madrid.  
e-mail: [escario@farm.ucm.es](mailto:escario@farm.ucm.es)

#### RESUMEN

Transcurridos más de cien años de su descubrimiento, la patogénesis de la enfermedad de Chagas sigue siendo un tema controvertido. Durante décadas se ha dado mayor relevancia a las consecuencias de la respuesta inmunitaria, hasta el punto de estar considerada como una enfermedad autoinmune. El mimetismo molecular entre antígenos del parásito y del hospedador, la diseminación de epítopos y la activación policlonal son algunos de los mecanismos que explicarían el carácter autoinmune de la enfermedad. Sin embargo, en los últimos años, el interés vuelve a centrarse en el parásito. La utilización de técnicas más sensibles no sólo ha puesto en evidencia su presencia en tejidos, sino que se ha demostrado que existe una correlación entre inflamación y antígenos y/o ADN parasitario. En base a ello, sin descartar la importancia de la respuesta inmune, la necesidad de que persista el parásito está inclinando la balanza hacia consideración como enfermedad parasitaria. Este artículo resume y analiza la participación del parásito, del sistema inmune, así como la influencia de otros factores, como cambios microvasculares o alteraciones neurogénicas, en la patogénesis de una enfermedad que apasiona a parasitólogos e inmunólogos.

**Palabras clave:** Chagas; Patología; Patogénesis; *Trypanosoma cruzi*; Autoinmunidad.

#### ABSTRACT

*Chagas' Disease: the outcome of a conflict between the Parasite and the Immune System*

Chagas' disease was described more than one hundred years ago, but its pathogenesis remains controversial. For several decades it has been considered as an autoimmune disease. Molecular mimicry responsible for anti-parasite-

responses that “crossreact” with self-molecules in *Trypanosoma cruzi*-infected host, epitopes dissemination and polyclonal activation support the autoimmune etiology of the disease. However, in the last years, parasites have been detected in tissues of hosts with chronic infections by using more sensitive techniques and also a correlation among inflammation and parasite antigens and/or DNA has been demonstrated. So, rather than discarding the autoimmune hypothesis, Chagas’ disease is considered as a parasite-induced disorder. This review resumes and analyzes the role of the persistence of parasites, the autoimmunity, as well as other factors possibly involved as microvascular changes and neurogenic alterations, in such a disease that interest both parasitologists and immunologists.

**Keywords:** Chagas’ disease; Pathology; Pathogenesis; *Trypanosoma cruzi*; Autoimmunity.

## 1. INTRODUCCIÓN

La reciente conmemoración del centenario del descubrimiento de la enfermedad de Chagas (Chagas, 1909) ha puesto en evidencia el entusiasmo de los parasitólogos en el esclarecimiento de su patogénesis. Se trata de una parasitosis que ha estado desde su descubrimiento envuelta en la incertidumbre. Desde su denominación inicial como “tiroiditis parasitaria” por su errónea relación con el bocio y el cretinismo, a la consideración del agente etiológico (*Trypanosoma cruzi*) como un saprofito, su descripción ha estado rodeada de numerosos errores y ha suscitado las más variadas polémicas.

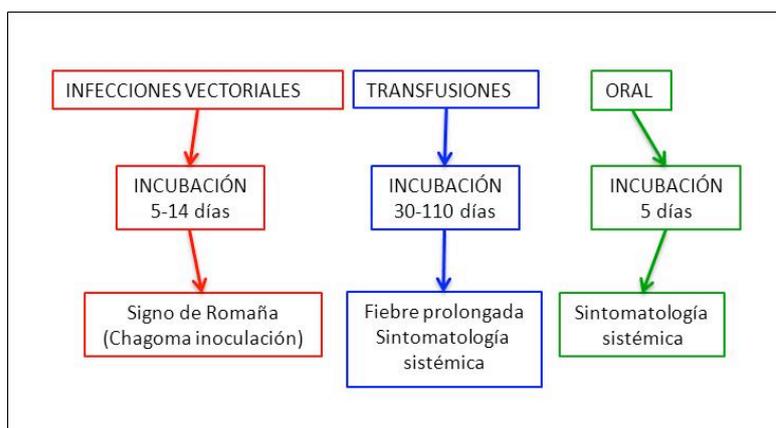
Con el transcurso de los años, se han producido importantes avances, que han permitido el conocimiento de todas las intrincadas fases del peculiar ciclo biológico del parásito, el desciframiento de su genoma (1), el éxito de las campañas de control basadas en la eliminación del vector o la aplicación de técnicas moleculares al diagnóstico. Sin embargo, el desarrollo de nuevos medicamentos y la patogénesis de la enfermedad continúan siendo asignaturas pendientes, se siguen utilizando los mismos fármacos, nifurtimox y benznidazol, ambos de eficacia dudosa y manifiesta toxicidad, y sigue sin dilucidarse si es el parásito, el sistema inmune, o la actuación conjunta de ambos, la causa de una patología que con frecuencia acompaña al hospedador toda la vida. Al igual que durante el prolongado conflicto armado (“Guerra de los cien años”) entre Francia e Inglaterra, hubo tiempo de batallas y acuerdos, enfrentamientos y treguas, en los más de cien años de contienda entre parásito y hospedador, se han ido sucediendo ataques y contraataques, respuestas del sistema inmune y mecanismos de evasión del parásito, cuyo desenlace ha sido el desarrollo de las intrigantes secuelas de la enfermedad.

Esta revisión pretende contribuir si no al entendimiento, cuanto menos al conocimiento, de la patogénesis de una enfermedad que apasiona a inmunólogos y

parasitólogos y que sirve de modelo para comprender la relevancia de la asociación patología/respuesta inmune.

## 2. PATOLOGÍA Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Clásicamente se ha considerado la sucesión de una fase aguda y una crónica. El desarrollo de las técnicas diagnósticas permitió detectar altas tasas de anticuerpos específicos en pacientes asintomáticos, algunos de los cuales desarrollaban los síntomas típicos de la fase crónica. Esta fase intermedia de la enfermedad se conoce como *fase indeterminada*.



**Figura 1.-** Periodos de incubación según la vía de infección.

La fase aguda presenta sintomatología acusada o grave en sólo el 5% de los casos, con un 0,1% de letalidad en los casos no tratados. Casi el 70% de las manifestaciones clínicas ocurren en población infantil. La desaparición de los síntomas marca el inicio de la fase indeterminada, que en un 70 % de los pacientes permanece de por vida, desarrollando el 30% restante una fase crónica.

El periodo de incubación (Figura 1) varía de 5 a 110 días dependiendo de la vía de infección. En la forma más frecuente de infección, los tripomas tigotes metacíclicos eliminados en las heces del insecto vector (*Triatoma infestans* y otros triatomíneos) penetran en macrófagos, donde se transforman y multiplican como amastigotes, para como tripomastigotes invadir la corriente sanguínea y linfática, y desde ahí alcanzar células de diferentes tejidos, donde pueden repetir un ciclo similar de multiplicación intracelular. Son frecuentes las infecciones en el tejido muscular, y menos en médula ósea, sistema fagocítico y gónadas, aunque la localización varía según el aislamiento, indicando la existencia de un tropismo tisular. Raramente se encuentran afectadas las células nerviosas y si el parásito llega a esta zona se ubica en astrocitos. La infección aguda va acompañada de una excesiva activación de sistema inmune, incluyendo citoquinemia, intensa activación de linfocitos T y B, linfadenopatía, esplenomegalia y un intenso

proceso inflamatorio difuso o local asociado a los “nidios de amastigotes” tisulares, y a la miocitolisis inducida por el parásito.

La fase indeterminada viene definida por (a) detección de Ig G específicas y/o hallazgo del parásito, (b) ausencia de signos y síntomas de Chagas, (c) ausencia de anomalías del electrocardiograma, y (d) tamaño normal de corazón, esófago y colon por rayos X; si bien es cierto que el avance en las técnicas de diagnóstico ha permitido detectar anomalías y lesiones que antes pasaban desapercibidas. Así, en un estudio sobre 505 casos en fase indeterminada, el 13,8% presentaban lesiones en los segmentos cardiacos en ecografías bidimensionales (2). El *doppler* ecocardiográfico sobre tejidos en pacientes con ecocardiografía normal demostró asimismo alteraciones en la contractilidad (tabique intraventricular), y disfunción izquierda ventricular. Por técnicas de resonancia magnética se han detectado áreas de fibrosis cardiaca en un 20% de los pacientes (3). Y se sabe que la extensión de la fibrosis en pacientes sintomáticos se relaciona con la severidad de las lesiones cardiacas. Los casos de muerte súbita se han relacionado con esta fase de la enfermedad (4).

En dos tercios de los pacientes en fase indeterminada, la enfermedad no progresa, aunque se pueden presentar lesiones inflamatorias de carácter leve en el corazón y tracto digestivo. Del resto, 2/3 desarrollan alguna forma cardiaca y 1/3 terminan con una patología gastrointestinal (5).

La enfermedad crónica se caracteriza por una reacción inflamatoria fibrótica que daña el músculo cardiaco y la red de conducción y el sistema nervioso entérico. La fibrosis cardiaca progresa localizándose generalmente en la región posteroinferior y apical del ventrículo izquierdo, el nódulo sinusal, y el sistema de conducción por debajo del haz de His. De acuerdo con Gascón *et al.* (6), es una cardiopatía dilatada con tendencia a formar aneurismas, sobre todo apicales, con gran potencial arritmo-génico, siendo frecuentes las arritmias ventriculares, muchas veces asociadas a bradiarritmias (de origen sinusal y/o auriculoventricular). Conlleva una elevada frecuencia de fenómenos tromboembólicos, y puede presentarse como dolor precordial, generalmente atípico, aunque eventualmente puede simular una cardiopatía isquémica.

En los casos de desenlace fatal, éste ocurre en los 5 años después de los primeros signos de fallo cardiaco. El peso del corazón puede aumentar hasta los 600 g. Aunque estudios clínicos del año 2000 detectaron una baja incidencia de accidentes cerebro-vasculares en pacientes crónicos (7), en estudios más recientes se afirma que esos accidentes son más comunes en la cardiopatía por Chagas que en otras etiologías (8), y se señala como uno de los primeros signos de diagnóstico de enfermedad de Chagas en pacientes asintomáticos (9).

En la forma digestiva, el megaesófago puede manifestarse ya en niños de 2 años, aunque es más frecuente en pacientes de 20 a 40 años. El megacolon suele desarrollarse con posterioridad al megaesófago. La razón principal son las lesiones inflamatorias en ganglios parasimpáticos, plexos de Auerbach y Meissner de las vísceras huecas, que lleva a ganglionitis y desconexiones neuronales; esto, junto con la inflamación de estas vísceras conduce a constipación. La progresiva retención de heces lleva a la dilatación y engrosamiento de la pared del colon, especialmente sigmoides, y recto. Aunque la prevalencia es bastante inferior, también se han descrito algunos megasíndromes afectando a estómago, duodeno, vesícula biliar y bronquios (10).

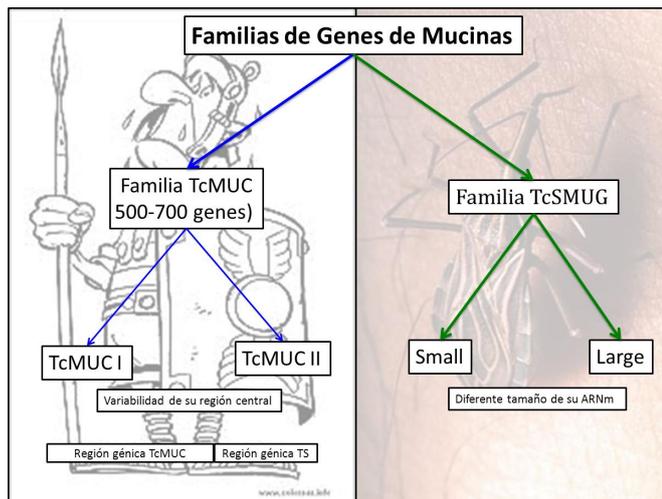
### **3. EL ENFRENTAMIENTO PARÁSITO-HOSPEDADOR**

Después de más de 100 años de descubrimiento de la enfermedad, la patogénesis de fase crónica continúa siendo un enigma, y los científicos siguen con la duda de si es la persistencia de la infección la causa de las alteraciones patológicas (11, 12), se trata de una enfermedad autoinmune (13, 14), o como parece probable son factores de índole diversa, tanto parasitarios como inmunológicos (15), los responsables de la clínica de la enfermedad. Sólo profundizando en el estudio de las interacciones que se producen entre el parásito y el hospedador, se puede inferir el peso específico de cada uno de los factores. En principio, el porvenir de los tripomastigotes en el organismo, dado que la multiplicación es exclusivamente intracelular, depende del éxito de ese primer contacto parásito-célula hospedadora, por lo que los mecanismos de reconocimiento y adhesión celular resultan vitales para garantizar la penetración en la célula, y el establecimiento de la infección. A continuación se aborda el estudio, en primer lugar, de los factores propios del parásito, para a continuación revisar los factores dependientes del hospedador, lo que conduce a considerar la repuesta inmune, y en definitiva sus implicaciones en la patogenia de la enfermedad de Chagas.

#### **3.1. LAS ARMAS DEL PARÁSITO: *Invasión celular***

Durante el contacto hospedador-parásito intervienen moléculas superficiales de ambas células que interaccionan entre sí. Muchas de las moléculas del parásito, que en general se hallan ancladas a la membrana plasmática por gluco-fosfatidil-inositol (GPI), han sido caracterizadas y definida su función. Entre las glicoproteínas de membrana de *T. cruzi*, uno de los grupos más importantes son las mucinas. Son parecidas a las adhesinas involucradas en el tráfico linfocitario, y están constituidas por un núcleo peptídico de 35 a 200 aminoácidos, con abundantes residuos de serina y treonina, que son precisamente los lugares de unión de O-oligosacáridos. Precisamente estos restos glucosídicos, participan junto

a las transialidasas (TS) en la protección del parásito de la acción lítica del complemento.



**Figura 2.-** Genes de mucinas del parásito expresados en el hospedador vertebrado y en el vector.

Las mucinas se dividen en dos grandes grupos (Figura 2), según sean expresadas en el hospedador vertebrado (TcMUC) o en el vector (TcSMUG). La región central de la familia TcMUC, que es variable, las divide a su vez en dos grandes grupos: TcMUC I y TcMUC II. Esta región genética está ligada a la región que codifica las TS, seguramente para asegurar la expresión coordinada de ambas. El segundo grupo (TcSMUG), con una región central corta, se subdivide a su vez en otros dos, en función del tamaño de su ARNm. Las presentes en el insecto, muy homogéneas, tienen entre 35-40kDa y todas con una composición idéntica en cuanto a aminoácidos y carbohidratos. La diferencia entre los epimastigotes y las formas metacíclicas reside en el ancla para GPI que cambia de un alquilglicerol a ceramida. Las mucinas de los estadios presentes en el mamífero son más heterogéneas y de peso molecular mayor, entre 60 y 200kDa, presentando algunos aislamientos, una porción terminal de galactosa (16). Precisamente estos epitopos son los principales blancos de los anticuerpos anti-Gal, que al bloquear la incorporación de ácido siálico, les hace sensibles a la acción del complemento.

Las TcSMUG tienen una función protectora frente a las proteasas presentes en el intestino del vector. Las mucinas de las formas metacíclicas tienen además un papel crucial en la adhesión y penetración en las células de mamíferos, habiéndose comprobado que su bloqueo con anticuerpos inhibe la invasión celular.

Las mucinas proporcionan lugares de unión para diversos receptores de reconocimiento de patógenos (PRRs) (17) y también se ha descrito su unión a moléculas presentadoras tipo CD1d, capaces de reconocer antígenos glucolipídicos (18). Su heterogenicidad ha llevado al planteamiento de una serie de cuestiones, acerca de su papel en la interacción parásito/ hospedador (16). Algunos autores afirman que no tienen más función que modular o evadir la respuesta inmunitaria

del hospedador, mientras que otros defienden que su acción es antagonizar el desarrollo de células T efectoras por un mecanismo de ligandos peptídicos alterados, como sucede en ciertos virus y en los estados exoeritrocíticos de *Plasmodium* (19). Apoyando la tesis de la evasión parasitaria, el mosaico antigénico puede interferir la respuesta de células B induciendo anergia en linfocitos CD4 específicos y una respuesta de anticuerpos monoespecíficos, débiles y de baja afinidad. También esa heterogenicidad podría facilitar la adhesión a múltiples líneas celulares, como sucede con *Toxoplasma*, un parásito promiscuo que presenta en su superficie un mosaico antigénico muy heterogéneo (20).

Además de las mucinas, se han caracterizado e identificado otras glicoproteínas (21) relacionadas con los procesos de reconocimiento y adhesión (gp35/50 y gp83) o penetración (gp82, gp90 y Tc-85), así como proteínas implicadas también en estos procesos (penetrina, cruzipaína, oligopeptidasa B y Tc-80) o en mecanismos de la inmunidad innata relacionados con la supervivencia del parásito en los estadios iniciales de la infección (transialidasas, Tc-52 y cruzipaína) (22-24).

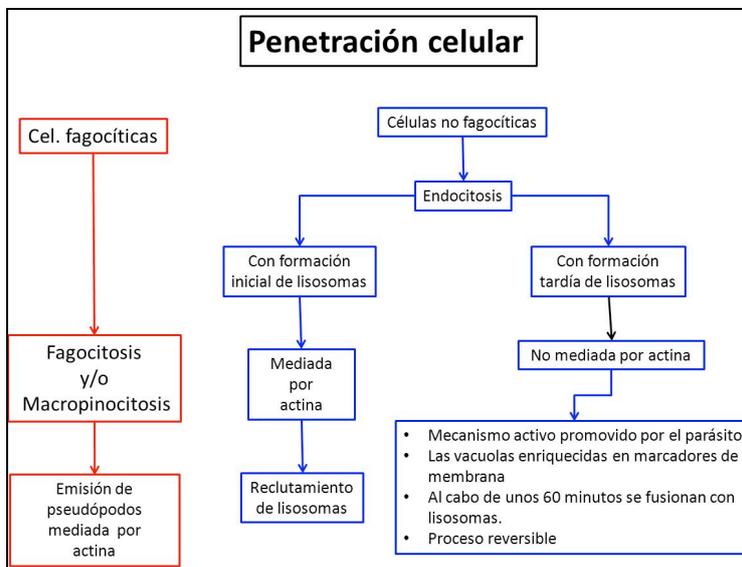
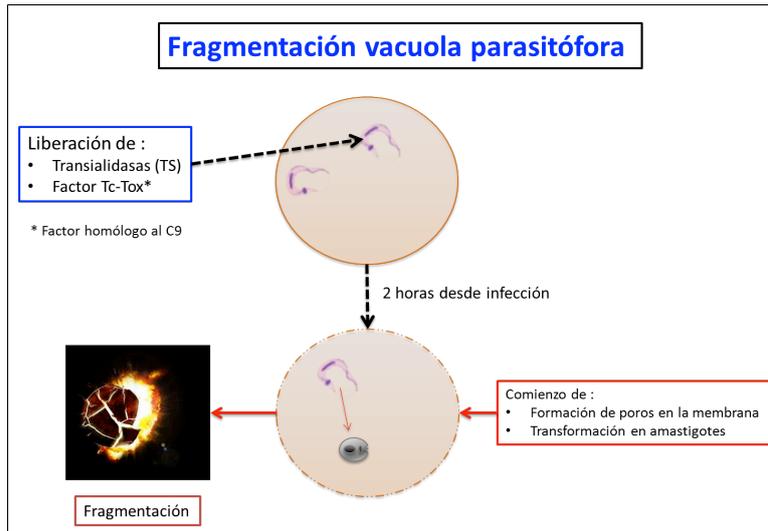


Figura 3.- Mecanismos de penetración celular de *T. Cruzi*.

Entre los mecanismos utilizados por los tripomastigotes (Figura 3), el más común para invadir los macrófagos es la fagocitosis. Para la invasión de las células no fagocíticas, el proceso de penetración tiene lugar por endocitosis (25), con o sin formación inicial de lisosomas. En el primer caso, el proceso está mediado por actina, y tiene lugar un reclutamiento de lisosomas al lugar de entrada, iniciado por la movilización de  $Ca^{2+}$ , que regula la exocitosis de los lisosomas hacia la membrana plasmática. En el segundo, el proceso es un mecanismo activo promovido por el parásito, que provoca una invaginación de la membrana (26) y la formación de una vacuola, que se fusiona con los lisosomas (60 min.) para formar un fagolisosoma.

Si esta fusión no tiene lugar, el proceso es reversible y el tripomastigote podría volver al medio extracelular.



**Figura 4.-** Fragmentación de la vacuola e invasión citoplasmática

Independientemente de cual sea el mecanismo de entrada, se forma la vacuola parasitófora, cuya composición parece ser modulada por el parásito. En este escenario, el protagonismo corre a cargo de los lisosomas, principalmente por tres razones: (a) son cruciales para la formación de la membrana de la vacuola, (b) su entorno ácido proporciona el pH necesario para la fragmentación de la membrana, y (c) proporcionan puntos de anclaje para retener al parásito y reducir su alta movilidad, que de otro modo podría romper la célula y hacer fracasar la infección. Entre los componentes detectados en la vacuola, destacan los receptores Fc, integrinas  $\beta 1$ , glicoproteínas de membranas lisosomales, receptores CR3, gliconjugados y residuos de galactosa.

A continuación (Figura 4) tiene lugar el “escape” del parásito de la vacuola, mediante un proceso de lisis de la membrana. Para ello, el parásito libera TS que eliminan residuos de ácido siálico de la membrana de la vacuola, y la hace sensible a un factor secretado por el parásito denominado Tc-TOX, un péptido homólogo al componente C9 del complemento (21, 27). Las formas tripomastigote comienzan a diferenciarse cuando aún se encuentran en el interior de la vacuola parasitófora, dando comienzo el proceso de fragmentación, aproximadamente 2 horas después de la infección.

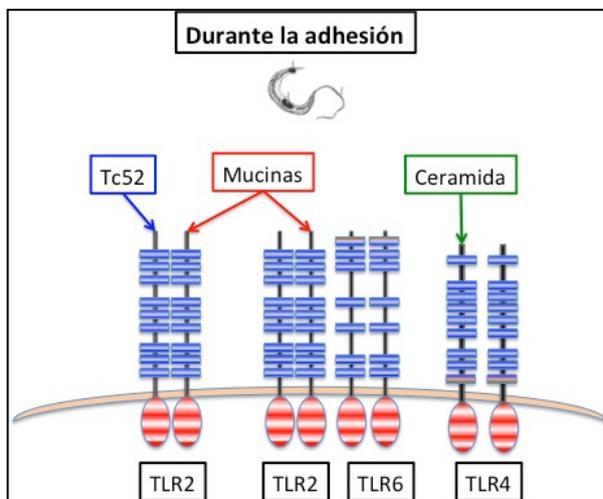
Las formas amastigote comienzan a multiplicarse en el citoplasma celular después de un periodo comprendido entre 20 y 35 horas; después de aproximadamente nueve generaciones (26), el proceso termina con la transformación en formas tripomastigote en el citoplasma celular. La elevada

movilidad de éstos induce la rotura de la membrana celular, liberando a los parásitos al medio extracelular .

Aunque existen menos estudios sobre las moléculas de superficie de los amastigotes, éstas también son capaces de invadir nuevas células, como lo demuestra la existencia de una proteína ubicua (p21), que parece involucrada en el proceso de invasión (28). Asimismo, los amastigotes presentan el factor Tc-TOX y TS, lo que sugiere que también serán capaces de invadir tanto células fagocíticas como no fagocíticas. La principal diferencia en el proceso de penetración es que los amastigotes dependen de la actina para poder efectuar la invasión, al carecer del mecanismo activo exclusivo de los tripomastigotes.

### 3.2 LAS ARMAS DEL HOSPEDADOR: Respuesta inmune

Siguiendo el curso normal de la respuesta inmunitaria, el primer contacto ocurre con los macrófagos y células dendríticas próximos al lugar de penetración.



**Figura 5 .-** Reconocimiento de PAMPs por distintos TLRs en el proceso de adhesión.

El reconocimiento del parásito (Figura 5) se efectúa a través de los receptores de reconocimiento de patógenos (PRRs), especialmente del grupo de receptores tipo *Toll* (TLRs). La presencia de ácidos grasos saturados en las zonas GPI de anclaje de las mucinas (29) promueve el reconocimiento de *T. cruzi* por los macrófagos. Entre los TLRs involucrados en el reconocimiento de mucinas de superficie del parásito, se encuentran el TLR2 y el conjunto TLR2-TLR6 (30). Además, la proteína Tc52 secretada por el parásito, es reconocida a través de TLR2, induciendo la secreción de citoquinas y moléculas coestimuladoras vía NF-

kB (31). Los GPI de los tripomastigotes metacíclicos, que contienen ceramida, van a ser reconocidos por TLR4 (32).

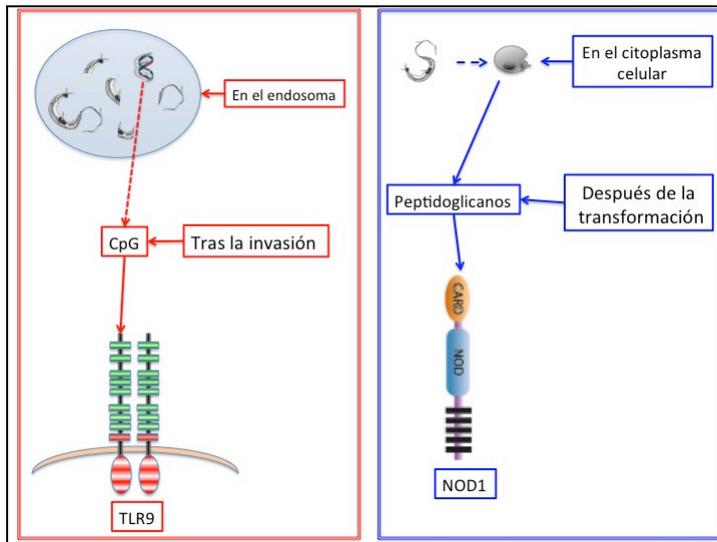


Figura 6.- Reconocimiento de PAMPs por receptores endocelulares.

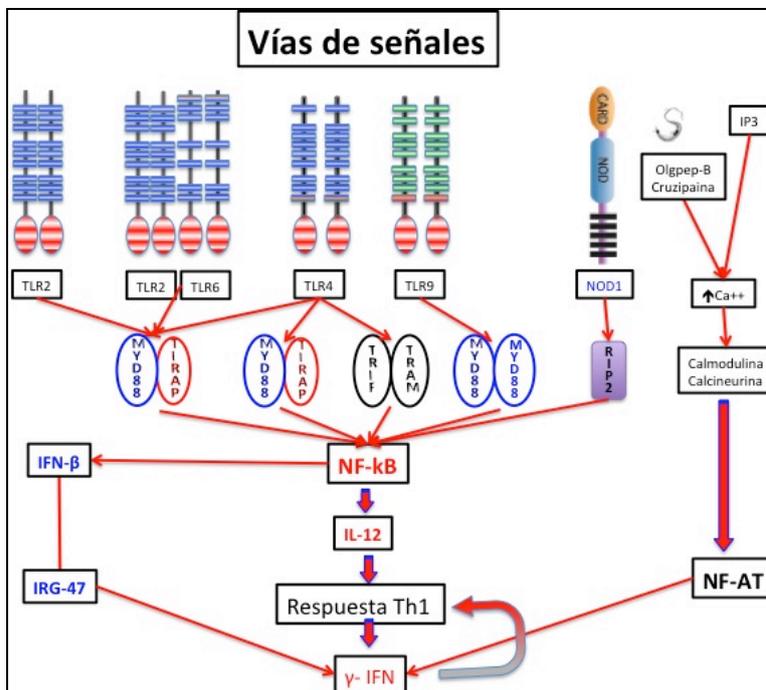


Figura 7.- Inducción de IFN-γ por las diferentes vías activadas por el parásito.

También el ADN parasitario es un blanco de reconocimiento por el sistema inmunitario, especialmente los motivos CpG (cuyo contenido en *T. cruzi* representa un 51%). Estas regiones CpG van a ser reconocidas por los TLR9 (Figura 6) en los lisosomas, haciéndose accesibles una vez que el parásito ha sido destruido (33). Además de los TLRs, el sistema inmunitario dispone de otras vías de

reconocimiento, como son los receptores citoplasmáticos denominados NOD, que reconocen peptidoglicanos y muramil dipéptidos.

Los TLRs actúan utilizando el adaptador MyD88 (Figura 7), que activa el factor de transcripción NF- $\kappa$ B, que llevará a la producción de IL-12, y a la polarización Th1, que inducirá IFN- $\gamma$ . En el caso de TLR4, aunque también activa a NF- $\kappa$ B, puede utilizar una ruta alternativa a través del adaptador TRIF, con la producción de interferones de tipo I (IFN- $\beta$ ), que a su vez estimulan a su receptor (IFNAR), para la expresión de los genes *IRG47*, que son inductores de IFN- $\gamma$ . El receptor NOD utiliza otro adaptador, pero también activa el factor NF- $\kappa$ B con producción de IL-12 e IFN- $\gamma$ .

Además, el parásito recurre a diversos mecanismos, como la activación de la vía IP3 (inositol tri-P) o la intervención de Tc52, para aumentar los niveles de Ca<sup>2+</sup> intracelular, a fin de movilizar actina para la formación de lisosomas y facilitar la invasión (34). Pero esa elevación de Ca<sup>2+</sup> activará la vía calmodulina/calcineurina que finalizará con la activación de otro factor de transcripción nuclear, el NF-AT, que inducirá directamente la producción de IFN- $\gamma$ ; constituyendo así otra vía -independiente de PRRs- capaz de polarizar la respuesta hacia un perfil Th1.

En definitiva, el hospedador dispone de una serie alternativa de caminos redundantes, TLRs, NOD o movilización de Ca<sup>2+</sup>, que llevan a la producción de IL-12 y/o IFN- $\gamma$ , para propiciar la respuesta adecuada, que es la Th1.

La susceptibilidad a la infección se ha estudiado en ratones *knockout* (Tabla 1) con las vías parcial o totalmente inhibidas. Como era lógico esperar, los ratones más susceptibles son los que tienen inhibido el gen del IFN- $\gamma$ (14). De otra parte, se ha comprobado una alta susceptibilidad en ratones que presentaban inhibida la proteína encargada de la translocación de TLR7 y TLR9 a los endolisosomas (UNC93B1), lo que eleva la importancia de estos TLRs y hace a los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) que reconocen (DNA y RNA), los factores más importantes en la activación de la respuesta innata (35).

Cuando los tripomastigotes son fagocitados por las células dendríticas y procesados, el péptido generado es un péptido exógeno, que como tal sigue la ruta normal de presentación a los linfocitos CD4, vía CMH II. Sin embargo, cuando los tripomastigotes rompen la vacuola parasitófora y se instalan en el citoplasma transformándose en amastigotes, las proteínas procedentes del parásito, secretadas, excretadas o producto de su lisis, son interpretadas por la célula como proteínas endógenas y presentadas vía CMH I a los linfocitos CD8.

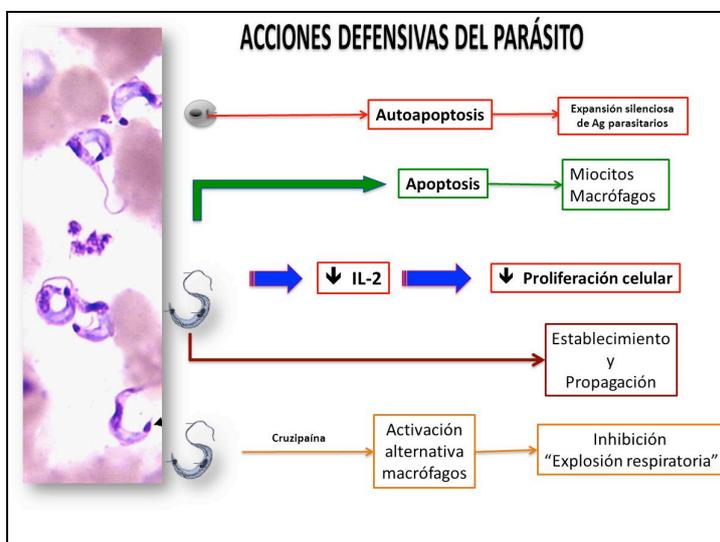
**Tabla 1.-** Susceptibilidad a la infección en ratones *knockout*.

Pérdida de:	Susceptibilidad infección
$\gamma$ - IFN	++++++
MyD88/TRIF	+++++
MyD88	++++
NOD1	++++
TLR2/ TLR9/TLR7	++++
TLR7/TLR9	+++
IRG-47	+++
TLR2	++
TLR4	-

De hecho, esta última vía de presentación, parece más importante, pues se ha comprobado que si se inhibe la formación de la  $\beta$ -microglobulina, los ratones son incapaces de controlar la infección (36).

### 3.3. EL CONFLICTO: Evasión o victoria

Mientras el hospedador prepara una adecuada respuesta adaptativa, el parásito se defiende (Figura 8) bloqueando, al menos en parte, la IL-2 (37) responsable de la expansión clonal de los linfocitos T. La inmunosupresión resultante facilita su establecimiento y propagación. Además, durante el proceso de invasión, algunas cepas inducen en macrófagos y miocitos la apoptosis celular, y se ha comprobado la autoapoptosis de amastigotes, también cepa-dependiente. Este hecho puede contribuir a la propagación silenciosa y a la persistencia del parásito sin provocar una respuesta inflamatoria exagerada (38).

**Figura 8.-** Mecanismos defensivos de parásito frente a la respuesta inmunitaria del hospedador.

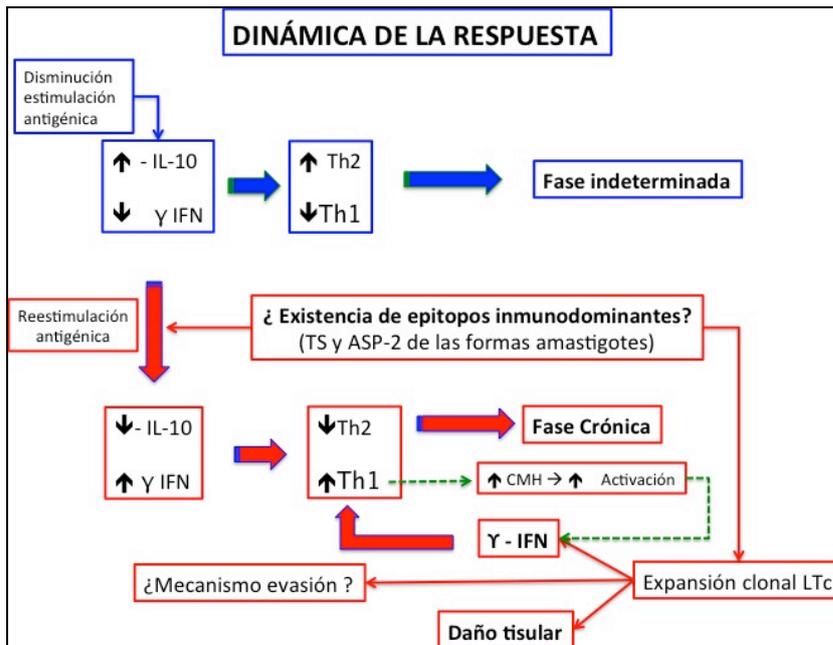
Al igual que sucede con *Leishmania*, *T. cruzi* es capaz de provocar la activación alternativa de los macrófagos por inducción de arginasa, que desvía el metabolismo de la arginina hacia la producción de poliaminas en lugar de NO, favoreciendo el crecimiento intracelular del parásito y su diseminación (23).

Como la mayoría de los protozoos parásitos, *T. cruzi* induce una fuerte y persistente respuesta Th1. En caso contrario, se produce una multiplicación masiva del parásito que suele terminar con la muerte del hospedador. El reconocimiento de los PAMPs del parásito por parte del sistema inmunitario, dispara los mecanismos protectores de la inmunidad innata, que logran controlar parcialmente la infección, comenzando la producción de las citoquinas proinflamatorias IL-6 y TNF, quimioquinas quimiotácticas, como CCL5, para linfocitos T, células NK, eosinófilos y basófilos, y moléculas de adhesión, que señalizan la localización del foco inflamatorio. Todo ello tiene un triple efecto, por un lado, preparar el terreno para la llegada a la zona de los elementos de la inmunidad adaptativa, especialmente linfocitos T activados, por otro, aumentar el proceso inflamatorio y el poder destructor de los componentes del sistema inmunitario y, finalmente, dar la señal para que las células dendríticas inicien su proceso de migración a los ganglios. Asimismo, los macrófagos y células dendríticas comienzan a secretar IL-12, que inducirá la producción de IFN- $\gamma$  en células NK, y proporcionará la señal polarizante para derivar la respuesta hacia el tipo Th1. El IFN- $\gamma$  producido por LT activados y células NK induce la activación de las células fagocíticas, que efectuarán la “explosión respiratoria” aumentando la eficacia de la respuesta. La producción de IFN- $\gamma$  resulta crucial para el control de la infección durante la fase aguda, comprobándose un agravamiento de los síntomas y una alta mortalidad(14) tras su bloqueo. Finalmente, llegan también a la zona los linfocitos Tc, capaces de reconocer y destruir a las células infectadas, produciendo más IFN- $\gamma$ , que derivará la respuesta aún más hacia el perfil Th1. Recientemente, se ha sugerido que IL-17 juega un papel protector en las infecciones por este parásito (39).

### **3.4. LAS SECUELAS DE LA BATALLA: Patogénesis**

En la mayoría de los casos, todas estas acciones logran controlar, aunque no eliminar la infección parasitaria. La reducción de la población parasitaria frena la respuesta inmunitaria (Figura 9) mediante la secreción de citoquinas antiinflamatorias como IL-10; esto implica el cese de la respuesta Th1, inhibiendo la acción destructora de los macrófagos (40), inclinando la respuesta del paciente hacia un perfil Th2, que coincide con el inicio de la fase indeterminada (41, 42). Mientras en la leishmaniosis, el parásito es el inductor de la producción de IL-10, en la enfermedad de Chagas no está demostrado. La diferencia puede radicar en la fuente de IFN- $\gamma$  e IL-10 en ambas infecciones; mientras en la primera son los linfocitos CD4

(43), en la tripanosomiasis son las células NK las principales responsables de la producción de IFN- $\gamma$  (44), y los macrófagos y linfocitos T y B, de IL-10 (45).

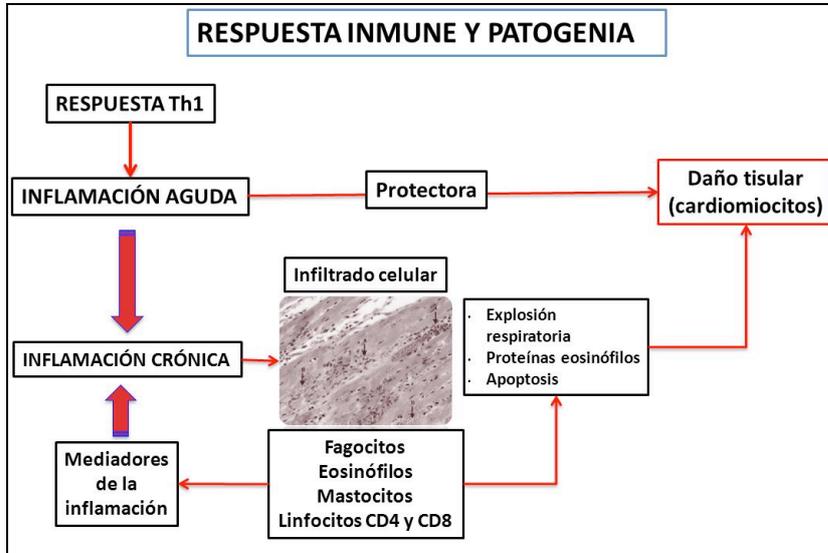


**Figura 9.-** Regulación de la respuesta inmunitaria en el hospedador.

Por razones aún no aclaradas, el inicio de la fase crónica se produce por una disminución de los niveles de IL-10, que determina que el perfil revierta de nuevo al tipo Th1, con presencia de IFN- $\gamma$  y supresión de las citoquinas Th2, IL-4 e IL-10 (41, 46). Una de las razones barajadas es la existencia en el parásito de epítomos inmunodominantes, que son presentados, vía CMH I a los LTC provocando su expansión clonal (1, 47). Esto induciría la producción de IFN- $\gamma$  por estos linfocitos, que polarizaría la respuesta hacia el tipo Th1. Pero como la respuesta se produce frente a unos pocos epítomos, muchos de los linfocitos Tc activados en la expansión clonal, no encontrarían al antígeno específico, reaccionando con las células propias del hospedador, y proporcionando a la vez al parásito un mecanismo de evasión (48). A su vez, la respuesta Th1, proporciona una mayor capacidad de presentación y por tanto de activación, con lo que es probable que aumenten los clones de linfocitos activados, que producirían más IFN- $\gamma$ , introduciéndose así respuesta en un bucle de retroalimentación (Figura 9) para la potenciación de la respuesta Th1.

De este modo, la respuesta inmunitaria (Figura 10), si bien es claramente protectora durante la fase aguda, no lo es tanto durante la fase crónica, ya que esa reacción inflamatoria persistente es la causante del daño tisular que afecta a los cardiomiocitos. Así, se ha comprobado que las células T son una de las principales causas de la cardiopatía chagásica, en principio, como daño colateral en la eliminación del parásito en la fase aguda, y posteriormente como consecuencia del

mantenimiento de la respuesta Th1, seguramente por la estimulación continua del sistema inmunitario por parte del parásito (49). Curiosamente, los pacientes con las cardiopatías más severas muestran altos niveles de TNF (50, 51), citoquina más propia de la inmunidad innata y protagonista de los procesos inflamatorios agudos. Asimismo se produce durante este periodo un infiltrado en el tejido



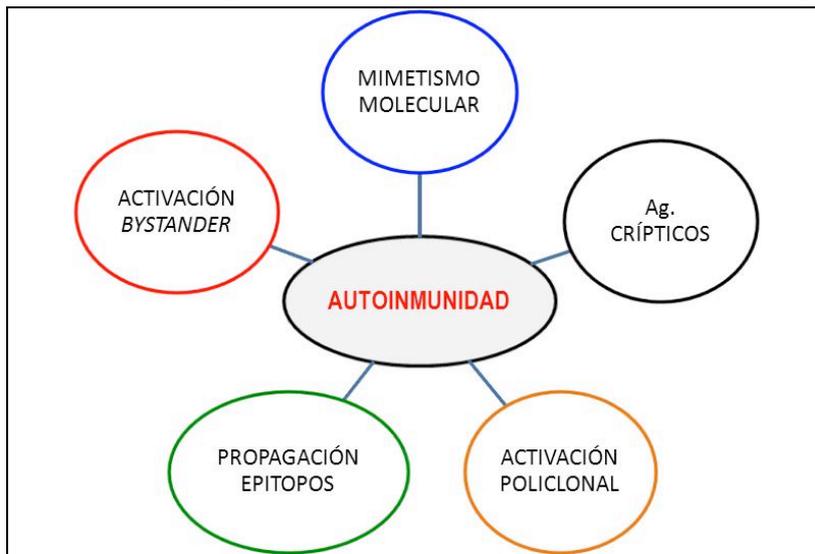
**Figura 10.** - Influencia de la respuesta inmune en el desarrollo de lesiones tisulares.

cardiaco de macrófagos, linfocitos CD8 y CD4, así como un aumento local de moléculas de adhesión (50). En definitiva, la respuesta Th1 es esencial en la resistencia del hospedador a la infección, pero también en la génesis de la miocarditis.

#### 4. LAS EVIDENCIAS DE UNA POLÉMICA: ¿SISTEMA INMUNE O PARÁSITO?

La inducción de lesiones por inmunización adoptiva (13) y la demostración de que la genética del hospedador influye en la patogénesis de la enfermedad son algunas de las bases que sustentan la tesis autoinmune (52). Los mecanismos que intentan explicar el carácter autoinmune (53) de la enfermedad se resumen en la Figura 11, muchos de ellos relacionados. En este sentido, se han identificado algunos autoantígenos que dan reacciones cruzadas con antígenos del parásito, como ocurre con la miosina, principal proteína del músculo cardiaco, y la proteína B13 de *T. cruzi*; así, el 100% de los pacientes chagásicos con cardiopatía presentan esta reacción cruzada, mientras que sólo aparece en el 14,5% de los asintomáticos (54). Son también ejemplos de mimetismo molecular, las proteínas CHA y SAPA, así como el receptor  $\beta$ 1-adrenérgico y una proteína ribosomal, de hospedador y parásito, respectivamente (50). Otro dato que apoya la teoría autoinmune, es el hecho de que las lesiones cardíacas más graves se observan en la fase crónica, con aparente ausencia de parásitos. Esto reafirma la discordancia entre la presencia del parásito y las lesiones cardíacas, y se refuerza por el hecho de encontrarse ADN

del parásito, pero no parásitos intactos (50). Esto unido a la inducción de lesiones inflamatorias por homogenados de *T.cruzi*, apoyaría la tesis del



**Figura 11.-** Mecanismos implicados en la patología autoinmune.

mimetismo molecular.

Otros mecanismos que sustentan la teoría autoinmune son la existencia de antígenos crípticos y activación policlonal (55), mecanismos de evasión muy comunes entre los patógenos. También, la denominada activación *bystander*, que es la activación de células T específicas frente a un antígeno durante la respuesta inmune frente a un antígeno diferente, y puede ocurrir con o sin propagación de epitopos. En la enfermedad de Chagas, esta vía puede ser iniciada tanto por antígenos propios, procedentes de la destrucción tisular como por antígenos parasitarios, en un ambiente rico en mediadores de la inflamación; posteriormente esas células T reaccionarían frente a antígenos propios convirtiéndose así en células T autorreactivas (53). El daño tisular resultante de esta reacción autoinmune produciría la liberación de nuevos antígenos propios, cuyo procesamiento y presentación induciría nuevas reacciones autoinmunes frente a los nuevos epitopos. Teniendo en cuenta que la propagación de epitopos es el proceso por el que epitopos distintos al inductor de una respuesta se convierten en la diana de esa respuesta, ambos mecanismos estarían directamente relacionados.

En defensa de la relación directa entre enfermedad e infección, y su consideración como enfermedad parasitaria, hay cada vez más evidencias. Así, los neutrófilos y eosinófilos sólo dañan a las células sanas “espectadoras” cuando se incuban en presencia del parásito, indicando que es la interacción con el parásito lo que dispara la citotoxicidad (56). Además, la mayor sensibilidad de las técnicas actuales basadas en PCR ha permitido detectar antígenos y ADN de *T. cruzi*

escondido en diversos tejidos infectados; se estima que, aunque en escaso número, los parásitos podrían recircular por el sistema sanguíneo y mantener la respuesta inflamatoria, provocando el daño tisular (57).

El desarrollo de determinadas patologías asociadas a áreas geográficas distintas, junto con el diferente tropismo tisular mostrado por distintas cepas dan asimismo un papel preponderante al parásito (58, 59). Se ha visto que al genotipo TcI se asocian con mayor frecuencia alteraciones cardíacas que al genotipo TcII (60). También hay estudios que correlacionan la patología con diferentes clones (61). De otra parte, el tratamiento con benznidazol en modelos murinos y humanos, provoca un cambio en el fenotipo de las células CD8 propias de la infección persistente, hacia un fenotipo de células T de memoria, con capacidad protectora frente a *T. cruzi*. Este cambio de fenotipo indica una curación total después del tratamiento con benznidazol, que no había tenido lugar en la fase crónica (62). Finalmente, los niveles de autoanticuerpos no se correlacionan con el grado de disfunción cardíaca en enfermos de Chagas (63).

Teorías recientes conjugan, en cierto modo, persistencia del parásito y autoinmunidad, al demostrar la transferencia genética que ocurre desde el parásito al genoma del hospedador. La autoinmunidad sería consecuencia de los cambios fenotípicos inducidos por el ADN parasitario, concretamente por los minicírculos del ADN del kinetoplasto (ADNk), retenido en el genoma del paciente chagásico. Así, la cardiomiopatía inflamatoria que acompaña a la enfermedad de Chagas ha sido denominada como enfermedad autoinmune genéticamente dirigida (64).

Independientemente del origen, autoinmune o parasitario, de las alteraciones orgánicas, se han postulado varias hipótesis que intentan explicar el desarrollo de la enfermedad. Así, la denominada **hipótesis neurogénica** defiende que es la destrucción neuronal tanto en el tejido cardíaco, como en los plexos mesentéricos, la responsable de la descompensación en la respuesta del simpático, que desencadena un efecto tóxico neurohormonal (65). Asimismo se ha comprobado que no hay alteraciones del control parasimpático en los estadios iniciales e intermedios de la enfermedad, y que la pérdida de neuronas es insuficiente para producir manifestaciones clínicas, al contrario de los que ocurre en fase crónica. El problema surge con la comprobación de destrucción neuronal también en zonas cardíacas no afectadas y la amplia variación en número de neuronas inflamadas en diferentes áreas de los ganglios, especialmente los intestinales (66). De otra parte, se sabe que las alteraciones en el simpático y parasimpático van precedidas de daño miocárdico y disfunción ventricular izquierda (67), de modo que las alteraciones nerviosas serían la consecuencia y no la causa del daño cardíaco. También explicaría la pérdida de neuronas vagales y

disfunción parasimpática en pacientes con cardiopatías o cardiomegalias no chagásicas.

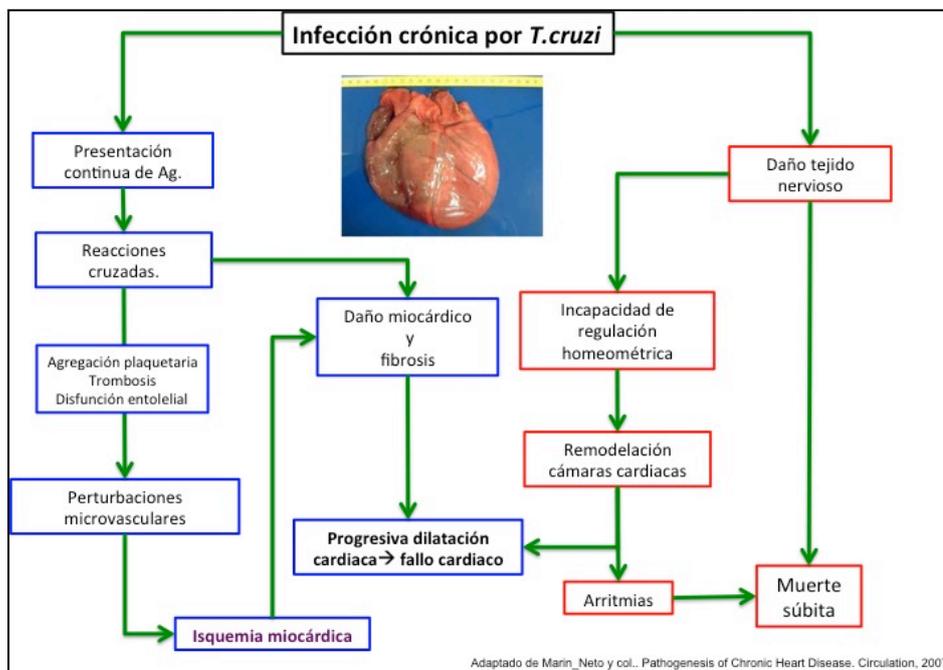
La **hipótesis del estrés oxidativo** se basa en el daño producido en los miocitos por intermediarios reactivos del oxígeno (IRO y NO) producidos en el desarrollo de la respuesta inmunitaria. En este aspecto, se ha visto que los complejos mitocondriales I y II presentan actividades bioquímicas inhibidas en el tejido miocárdico de ratones infectados con *T. cruzi* (68). Esos dos complejos no solo contribuyen a la formación y mantenimiento del gradiente de protones, que permitiría la síntesis de ATP, sino que también producen grandes cantidades de IROs, cuando no funcionan de forma óptima. La actividad superóxido dismutasa es además muy reducida en el tejido miocárdico de los ratones infectados (69, 70). No obstante, situaciones de estrés oxidativo se han documentado también en enfermos no chagásicos (71), por lo que no se puede concluir que la cardiopatía chagásica sea consecuencia del incremento en la producción de IROs. De hecho parece más probable que el daño cardíaco tanto en chagásicos como en no chagásicos promueva una modificación de las actividades mitocondriales, y como en el caso anterior, no se puede asegurar si la disfunción de la mitocondria es un factor causante de la cardiomiopatía o es un simple indicador de la patología.

Otros autores, defienden la denominada **hipótesis de la endotelina-1 (ET-1)**, potente vasoconstrictor y estimulante de crecimiento del músculo liso. Los niveles elevados en el plasma de ratones infectados experimentalmente con *T. cruzi*, así como su incremento en ciertas fases de la enfermedad humana, la han implicado en esta patología (72, 73). Esta molécula, producida por fibroblastos y cardiomiocitos se ha ligado a patologías cardiovasculares, en lo que se denomina como remodelación cardíaca (74), siendo el principal factor en el curso clínico que lleva al fallo cardíaco. Así, se ha comprobado que se desarrolla una enfermedad de Chagas más leve en ratones sin gen *ET-1* en sus cardiomiocitos (72). Además, la inhibición de la enzima, que da lugar a la forma activa también se traduce en una disminución de la patología y un menor grado de remodelamiento cardíaco con respecto a los controles. Todas estas observaciones son consistentes con el posible papel de ET-1 como inductor de vasoconstricción y modulador de las alteraciones vasculares observadas en la enfermedad de Chagas.

La **hipótesis de los péptidos natriuréticos**, se basa en su hallazgo en elevadas concentraciones en la circulación, en pacientes con enfermedad de Chagas aguda y crónica con cardiopatía manifiesta (75). En este último grupo, se detecta ANP en los lugares donde hay lesión ventricular, pero no en focos inflamatorios fuera de esas lesiones. Esta particular distribución sugiere que los péptidos natriuréticos son probablemente más un indicador de una alteración cardíaca establecida, que un factor responsable de su génesis, no siendo por tanto su presencia específica de la enfermedad de Chagas (76). Estas conclusiones están

en línea con Bruggnik (77), que encuentra BNP también en células cardiacas de pacientes no chagásicos. Finalmente, la **hipótesis de las perturbaciones microvasculares**, fue planteada a la vista de la correlación encontrada entre la microangiopatía y el daño tisular miocárdico provocado por el parásito (78). Asimismo se ha relacionado la formación de aneurismas, uno de los signos más comunes en la alteración cardiaca provocada por Chagas, con las alteraciones microvasculares o microinfartaciones en las cuencas coronarias debido a la sobreestimulación simpática (79), constituyendo así un puente entre esta teoría y la neurogénica. Todo ello, unido a la hipoperfusión cardíaca observada, llevaría a la isquemia, que sería la principal causa del daño miocárdico. La duda surge en este caso cuando se observa isquemia en sólo un 10% de los pacientes chagásicos (80), por lo que parece poco probable que sea un mecanismo general en la patogénesis de la cardiopatía chagásica. El hallazgo de que tanto las alteraciones capilares como la hipoperfusión no son exclusivos de la cardiopatía chagásica, induciría a pensar que probablemente el daño miocárdico puede preceder a las perturbaciones microvasculares.

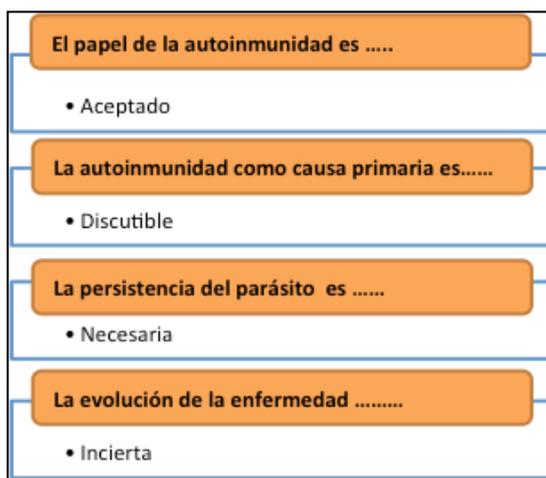
Considerando toda la experiencia acumulada sobre patogénesis de la enfermedad crónica, Marin Neto *et al.* (73) han propuesto un cuadro resumen (Figura 12) que conjuga las diversas teorías expuestas y que intenta explicar los daños miocárdicos y los casos de muerte súbita que se producen en esta patología.



**Figura 12.-** Factores relacionados con las lesiones cardiacas en la infección crónica por *T. Cruzii*.

## 5. EL DESENLACE DEL CONFLICTO

Finalmente, el análisis de toda esta plétora de brillantes hipótesis sobre la patogénesis de la enfermedad de Chagas, nos induce a asumir un origen multifactorial, con cuestiones aún no resueltas (Figura 13). Ahora bien, si como parece es necesaria la presencia del parásito o cuanto menos la inclusión del ADN parasitario en el genoma del hospedador para inducir la autoinmunidad, nos inclinamos por pensar que el parásito está lanzando “señuelos” biológicos para confundir al sistema inmunitario y evadir la respuesta inmune. En definitiva, la enfermedad se mantiene como consecuencia de la interacción de dos genomas altamente variables, y su persistencia se debe a la interacción sostenida entre el parásito y el sistema inmune del hospedador. Y es por tanto el parásito el principal responsable de la patología de la enfermedad.



**Figura 13.** -Sinopsis sobre el estado del conocimiento de la patogénesis de la enfermedad de Chagas.

## 6. REFERENCIAS

1. El-Sayed, N. M.; Myler, P. J.; Bartholomeu, D. C.; Nilsson, D.; Aggarwal, G.; Tran, A.-N.; Ghedin, E.; Worthey, E. A.; Delcher, A. L.; Blandin, G.; Westenberger, S. J.; Caler, E.; Cerqueira, G. C.; Branche, C.; Haas, B.; Anupama, A.; Arner, E.; Aslund, L.; Attipoe, P.; Bontempi, E.; Bringaud, F.; Burton, P.; Cadag, E.; Campbell, D. A.; Carrington, M.; Crabtree, J.; Darban, H.; da Silveira, J. F.; de Jong, P.; Edwards, K.; Englund, P. T.; Fazelina, G.; Feldblyum, T.; Ferella, M.; Frasc, A. C.; Gull, K.; Horn, D.; Hou, L.; Huang, Y.; Kindlund, E.; Klingbeil, M.; Kluge, S.; Koo, H.; Lacerda, D.; Levin, M. J.; Lorenzi, H.; Louie, T.; Machado, C. R.; McCulloch, R.; McKenna, A.; Mizuno, Y.; Mottram, J. C.; Nelson, S.; Ochaya, S.; Osoegawa, K.; Pai, G.; Parsons, M.; Pentony, M.; Pettersson, U.; Pop, M.; Ramirez, J. L.; Rinta, J.; Robertson, L.; Salzberg, S. L.; Sanchez, D. O.; Seyler, A.; Sharma, R.; Shetty, J.; Simpson, A. J.; Sisk, E.; Tammi, M. T.; Tarleton, R.; Teixeira, S.; Van Aken, S.; Vogt, C.; Ward, P. N.; Wickstead, B.; Wortman, J.; White, O.; Fraser, C. M.; Stuart, K. D. & Andersson, B. (2005) The Genome Sequence of *Trypanosoma cruzi*, Etiologic Agent of Chagas Disease, *Science* 309, 409-415.
2. Viotti, R. J.; Vigliano, C.; Laucella, S.; Lococo, B.; Petti, M.; Bertocchi, G.; Ruiz Vera, B. & Armenti, H. (2004) Value of echocardiography for diagnosis and prognosis of chronic Chagas disease cardiomyopathy without heart failure, *Heart* 90, 655-660.
3. Rochitte, C. E.; Oliveira, P. F.; Joalbo, M.; Ianni, B. M.; Parga, J. R.; Avila, L. F.; Kalil-Filho, R.; Mady, C.; Meneghetti, J. C.; Lima, J. A. & Ramires, J. A. (2005) Myocardial Delayed Enhancement by

Magnetic Resonance Imaging in Patients With Chagas' Disease:: A Marker of Disease Severity, *Journal American College Cardiology* 46, 1553-1559.

4. Reinaldo, B. B. & Augusto, C. N. (2008) Sudden cardiac death in Chagas' heart disease in the contemporary era, *International journal of cardiology* 131, 9-17.
5. Pereira JB; da Cunha, R. V.; da Cunha RV; Willcox, H. P. & Coura, J. R. (1990) Development of chronic human chagas cardiopathy in the hinterland of the Paraíba State, Brazil, in a 4.5 year period, *Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical* 23, 141-147.
6. Gascón, J.; Albajar, P.; Cañas, E.; Flores, M.; Gómez Prat, J.; Herrera, R. N.; Lafuente, C. A.; Luciarði, H.; Moncayo, Á.; Molina, L.; Muñoz, J.; Puente, S.; Sanz, G.; Treviño, B. & Salles, X.S. (2007) Diagnóstico, manejo y tratamiento de la cardiopatía chagásica crónica en áreas donde la infección por *Trypanosoma cruzi* no es endémica, *Revista Española de Cardiología* 60, 285-294.
7. Bestetti, R. (2000) Stroke in a hospital-derived cohort of patients with chronic Chagas' disease, *Acta Cardiologica* 55, 33-39.
8. Carod-Artal, F. J.; Vargas, A. P.; Horan, T. A. & Nunes, L. G. N. (2005) Chagasic Cardiomyopathy Is Independently Associated With Ischemic Stroke in Chagas Disease, *Stroke* 36, 965-970.
9. Carod-Artal, F. J. (2010) Trypanosomiasis, cardiomyopathy and the risk of ischemic stroke, *Expert Reviews of Cardiovascular Therapy* 8, 717-728.
10. Köberle, F. (1968) Chagas' Disease and Chagas' Syndromes: The Pathology of American Trypanosomiasis, in *Advances in Parasitology* (Ben, D.; Ed.), pp 63-116, Academic Press.
11. Gutierrez, F. R.; Guedes, P. M.; Gazzinelli, R. T. & Silva, J. S. (2009) The role of parasite persistence in pathogenesis of Chagas heart disease, *Parasite Immunology*. 31, 673-685.
12. de Freitas, J. M.; Augusto-Pinto, L.; Pimenta, J. R.; Bastos-Rodrigues, L.; Gonçalves, V. F.; Teixeira, S. M. R.; Chiari, E.; Junqueira, A. C. V.; Fernandes, O.; Macedo, A. M.; Machado, C. R. & Pena, S. D. J. (2006) Ancestral Genomes, Sex, and the Population Structure of *Trypanosoma cruzi*, *PLoS Pathogens* 2, e24.
13. Girones, N.; Carrasco-Marin, E.; Cuervo, H.; Guerrero, N. A.; Sanoja, C.; John, S.; Flores-Herraez, R.; Fernandez-Prieto, L.; Chico-Calero, I.; Salgado, H.; Carrion, J. & Fresno, M. (2007) Role of *Trypanosoma cruzi* Autoreactive T Cells in the Generation of Cardiac Pathology, *Annals of the New York Academy of Sciences* 1107, 434-444.
14. Junqueira, C.; Caetano, B.; Bartholomeu, D. C.; Melo, M. B.; Ropert, C.; Rodrigues, M. M. & Gazzinelli, R. T. (2010) The endless race between *Trypanosoma cruzi* and host immunity: lessons for and beyond Chagas disease, *Expert Reviews in Molecular Medicine* 12, e29.
15. Dutra, W. O. & Gollob, K. J. (2008) Current concepts in immunoregulation and pathology of human Chagas disease, *Current Opinion in Infectious Diseases* 21, 287-292.
16. Buscaglia, C. A.; Campo, V. A.; Frasc, A. C. C.; Frasc, A. F. & Di Noia, J. M. (2006) *Trypanosoma cruzi* surface mucins: host-dependent coat diversity, *Nature Reviews Microbiology* 4, 229-236.
17. Almeida, I. C. & Gazzinelli, R. T. (2001) Proinflammatory activity of glycosylphosphatidylinositol anchors derived from *Trypanosoma cruzi*: structural and functional analyses, *Journal of Leukocyte Biology* 70, 467-477.
18. Procopio, D. O.; Almeida, I. C.; Torrecilhas, A. C. T.; Cardoso, J. E.; Teyton, L.; Travassos, L. R.; Bendelac, A. & Gazzinelli, R. T. (2002) Glycosylphosphatidylinositol-Anchored Mucin-Like Glycoproteins from *Trypanosoma cruzi* Bind to CD1d but Do Not Elicit Dominant Innate or Adaptive Immune Responses Via the CD1d/NKT Cell Pathway, *The Journal of Immunology* 169, 3926-3933.
19. Plebanski, M.; Lee, E. A. M.; Hannan, C. M.; Flanagan, K. L.; Gilbert, S. C.; Gravenor, M. B. & Hill, A. V. S. (1999) Altered peptide ligands narrow the repertoire of cellular immune responses by interfering with T-cell priming *Nature Medicine* 5, 565-571.
20. Lekutis, C.; Ferguson, D. J. P.; Grigg, M. E.; Camps, M. & Boothroyd, J. C. (2001) Surface antigens of *Toxoplasma gondii*: variations on a theme, *International Journal for Parasitology* 31, 1285-1292.

21. de Souza, W.; de Carvalho, T. M. & Barrias, E. S. (2010) Review on *Trypanosoma cruzi*: Host Cell Interaction, *International Journal of Cell Biology* 2010.
22. Cazzulo, J. J. (1999) La cruzipaina cistein proteinasa principal de *Trypanosoma cruzi*: secuencia y organización de los genes que la codifican. , *Medicina* 59, 7-11.
23. Stempin, C. C. & Cerban, F. M. (2007) Macrofagos e induccion de arginasa como mecanismo de evasion de parasitos, *Medicina* 67, 737-746.
24. Vermelho, A. B.; Nogueira de Melo, A. C.; Araújo Soares, R.; Sales Alviano, D.; Paraguai Souza, E.; Souto-Padrón, T.; Capaci Rodrigues, G.; Palermo de Aguiar, A.; Pereira, M. C.; Ferreira-Pereira, A.; Maria Socorro S. Rosa, Meirelles, M. N. L. & Alviano, A. C. S. (2010) *Trypanosoma cruzi* Peptidases: An Overview, *The Open Parasitology Journal* 4, 120-131.
25. Tanowitz, H.; Wittner, M.; Kress, Y. & Bloom, B. (1975) Studies of in Vitro Infection by *Trypanosoma cruzi*: I. Ultrastructural Studies on the Invasion of Macrophages and L-cells, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 24, 25-33.
26. Andrade, L. O. & Andrews, N. W. (2005) The *Trypanosoma cruzi*-host-cell interplay: location, invasion, retention, *Nature Reviews Microbiology*. 3, 819-823.
27. Hall, B. F.; Webster, P.; Ma, A. K.; Joiner, K. A. & Andrews, N. W. (1992) Desialylation of lysosomal membrane glycoproteins by *Trypanosoma cruzi*: a role for the surface neuraminidase in facilitating parasite entry into the host cell cytoplasm, *The Journal of Experimental Medicine*. 176, 313-325.
28. da Silva, V. C. & Kawashita, C. M. (2009) Characterization of a 21 KDa protein from *Trypanosoma cruzi* associated with mammalian cell invasion, *Microbes and infection* 11, 563-571.
29. Almeida, I. C.; Camargo, M. M.; Procopio, D. O.; Silva, L. S.; Mehlert, A.; Travassos, L. R.; Gazzinelli, R. T. & Ferguson, M. A. J. (2000) Highly purified glycosylphosphatidylinositols from *Trypanosoma cruzi* are potent proinflammatory agents, *Embo Journal* 19, 1476-1486.
30. Gazzinelli, R. T. & Denkers, E. Y. (2006) Protozoan encounters with Toll-like receptor signalling pathways: implications for host parasitism, *Nature Reviews Immunology* 6, 895-907.
31. Ouaisi, A.; Guilvard, E.; Delneste, Y.; Caron, G.; Magistrelli, G.; Herbault, N.; Thieblemont, N. & Jeannin, P. (2002) The *Trypanosoma cruzi* Tc52-Released Protein Induces Human Dendritic Cell Maturation, Signals Via Toll-Like Receptor 2, and Confers Protection Against Lethal Infection, *The Journal of Immunology* 168, 6366-6374.
32. Oliveira, A. C.; Peixoto, J.R.; de Arruda, L. B.; Campos Marco A.; Gazzinelli, R.T.; Golenbock, D.T.; Akira, S.; Previato, J.O.; Mendonca-Previato L.; Nobrega, A & Bellio, M. (2004) Expression of functional TLR4 confers proinflammatory responsiveness to *Trypanosoma cruzi* glycoinositol-phospholipids and higher resistance to infection with T. cruzi, *Journal of Immunology* 173, 5688-5696.
33. Bafica, A.; Santiago, H. C.; Goldszmid, R.; Ropert, C.; Gazzinelli, R. T. & Sher, A. (2006) Cutting Edge: TLR9 and TLR2 Signaling Together Account for MyD88-Dependent Control of Parasitemia in *Trypanosoma cruzi* Infection, *The Journal of Immunology* 177, 3515-3519.
34. Burleigh, B. A. & Woolsey, A. M. (2002) Cell signalling and *Trypanosoma cruzi* invasion, *Cellular Microbiology* 4, 701-711.
35. Kayama, H. & Takeda, K. (2010) The innate immune response to *Trypanosoma cruzi* infection, *Microbes and infection* 12, 511-517.
36. Tarleton, R. L.; Koller, B. H.; Latour, A. & Postan, M. (1992) Susceptibility of [beta]2-microglobulin-deficient mice to *Trypanosoma cruzi* infection, *Nature* 356, 338-341.
37. Alcaide, P. & Fresno, M. (2004) The *Trypanosoma cruzi* membrane mucin AgC10 inhibits T cell activation and IL-2 transcription through L-selectin, *International Immunology* 16, 1365-1375.
38. De Souza, E. M.; Araújo-Jorge, T. C.; Bailly, C.; Lansiaux, A.; Batista, M. M.; Oliveira, G. M. & Soeiro, M. N. C. (2003) Host and parasite apoptosis following *Trypanosoma cruzi* infection in in vitro and in vivo models, *Cell and Tissue Research* 314, 223-235.

39. Miyazaki, Y.; Hamano, S.; Wang, S.; Shimano, Y.; Iwakura, Y. & Yoshida, H. (2010) IL-17 Is Necessary for Host Protection against Acute-Phase *Trypanosoma cruzi* Infection, *The Journal of Immunology* 185, 1150-1157.
40. Reed, S.; Brownell, C.; Russo, D.; Silva, J.; Grabstein, K. & Morrissey, P. (1994) IL-10 mediates susceptibility to *Trypanosoma cruzi* infection, *The Journal of Immunology* 153, 3135-3140.
41. Costa, G.; da Costa Rocha, M. O.; Moreira, P.; Menezes, C.; Silva, M.; F, G. K. & Dutra, W. O. (2009) Functional IL-10 gene polymorphism is associated with Chagas disease cardiomyopathy, *Journal of Infectious Diseases* 199, 451-455.
42. Gomes, J. A. S.; Bahia-Oliveira, L. M. G.; Rocha, M. O. C.; Martins-Filho, O. A.; Gazzinelli, G. & Correa-Oliveira, R. (2003) Evidence that Development of Severe Cardiomyopathy in Human Chagas' Disease Is Due to a Th1-Specific Immune Response, *Infection and Immunity*. 71, 1185-1193.
43. Heinzl, F. P. (1994) Interleukin 12 and the regulation of CD4+ T-cell subset responses during murine Leishmaniasis.; *Parasitology Today* 10, 192-195.
44. Cardillo, F.; Voltarelli, J. C.; Reed, S. G. & Silva, J. S. (1996) Regulation of *Trypanosoma cruzi* infection in mice by gamma interferon and interleukin 10: role of NK cells, *Infection and Immunity*. 64, 128-134.
45. Hunter, C.; Ellis-Neyes, L.; Slifer, T.; Kanaly, S.; Grunig, G.; Fort, M.; Rennick, D. & Araujo, F. (1997) IL-10 is required to prevent immune hyperactivity during infection with *Trypanosoma cruzi*, *The Journal of Immunology* 158, 3311-3316.
46. Ribeiro, B. M.; Crema, E. & Rodrigues Jr, V. (2008) Analysis of the cellular immune response in patients with the digestive and indeterminate forms of Chagas' disease, *Human Immunology* 69, 484-489.
47. Tzelepis, F.; de Alencar, B. C.; Penido, M. L.; Claser, C.; Machado, A. V.; Bruna-Romero, O.; Gazzinelli, R. T. & Rodrigues, M. M. (2008) Infection with *Trypanosoma cruzi* restricts the repertoire of parasite-specific CD8+ T cells leading to immunodominance, *Journal of Immunology* 180, 1737-1748.
48. Rodrigues, M. F.; Alencar, B. C.; Claser, C. & Tzelepis, F. (2009) Immunodominance: a new hypothesis to explain parasite escape and host/parasite equilibrium leading to the chronic phase of Chagas' disease?, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 42, 220-223.
49. Fonseca, S. G.; Moins-Teisserenc, H. L.; Clave, E.; Ianni, B. R.; Nunes, V. L.; Mady, C.; Iwai, L. K.; Sette, A.; Sidney, J.; Marin, M. L. c. C.; Goldberg, A. C.; Guilherme, L.; Charron, D.; Toubert, A.; Kalil, J. & Cunha-Neto, E. (2005) Identification of multiple HLA-A\*0201-restricted cruzipain and FL-160 CD8+ epitopes recognized by T cells from chronically *Trypanosoma cruzi*-infected patients, *Microbes and Infection* 7, 688-697.
50. Cunha-Neto, E.; Bilate, A. M.; Hyland, K. V.; Fonseca, S. G.; Kalil, J. & Engman, D. M. (2006) Induction of cardiac autoimmunity in Chagas heart disease: A case for molecular mimicry, *Autoimmunity* 39, 41-54.
51. Ferreira, R. C.; Ianni, B. M.; Abel, L. C.; Buck, P.; Mady, C.; Kalil, J. & Cunha-Neto, E. (2003) Increased plasma levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  in asymptomatic/"indeterminate" and Chagas disease cardiomyopathy patients, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 98, 407-412.
52. Leon, J. S.; Godel, L. M.; Wang, K. & Engman, D. M. (2001) Cardiac Myosin Autoimmunity in Acute Chagas' Heart Disease, *Infection and Immunity* 69, 5643-5649.
53. Bonney, K. M. & Engman, D. M. (2008) Chagas heart disease pathogenesis: one mechanism or many?, *Current Molecular Medicine* 8, 510-518.
54. Cunha-Neto, E.; Coelho, V.; Guilherme, L.; Fiorelli, A.; Stolf, N. & Kalil, J. (1996) Autoimmunity in Chagas' disease. Identification of cardiac myosin-B13 *Trypanosoma cruzi* protein crossreactive T cell clones in heart lesions of a chronic Chagas' cardiomyopathy patient.; *Journal of Clinical Investigation* 98, 1709-1713.

55. Minoprio, P. M.; Coutinho, A.; Joskowicz, M.; D'Imperio Lima, M. R. & Eisen, H. (1986) Polyclonal Lymphocyte Responses to Murine *Trypanosoma cruzi* Infection, *Scandinavian Journal of Immunology* 24, 669-679.
56. Molina, H. A. & Kierszenbaum, F. (1989) Interaction of human eosinophils or neutrophils with *Trypanosoma cruzi* in vitro causes bystander cardiac cell damage.; *Immunology* 66, 289-295.
57. Tarleton, R. L.; Zhang, L. & Downs, M. O. (1997) "Autoimmune rejection", of neonatal heart transplants in experimental Chagas disease is a parasite-specific response to infected host tissue, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94, 3932-3937.
58. Miles, M. F.; Llewellyn, M. S.; Lewis, M. D.; Yeo, M.; Baleela, R.; Fitzpatrick, S.; Gaunt, M. W. & Mauricio, I. L. (2009) The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on Leishmania: looking back and to the future, *Parasitology* 136, 1509-1529.
59. Zingales, B.; Andrade, S. G.; Briones, M. R.; Campbell, D. A.; Chiari, E.; Fernandes, O.; Guhl, F.; Lages-Silva, E.; Macedo, A. M.; Machado, C. R.; Miles, M. A.; Romanha, A. J.; Sturm, N. R.; Tibayrenc, M. & Schijman, A. G. (2009) A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 104, 1051-1054.
60. Ramirez, J. D.; Guhl, F.; Rendon, L. M.; Rosas, F.; Marin-Neto, J. A. & Morillo, C. A. (2010) Chagas Cardiomyopathy Manifestations and *Trypanosoma cruzi* Genotypes Circulating in Chronic Chagasic Patients, *PLoS Neglected Tropical Diseases* 4, e899.
61. Andrade, L. O.; Galvao, L. M.; Meirelles Mde, N.; Chiari, E.; Pena, S. D. & Macedo, A. M. (2010) Differential tissue tropism of *Trypanosoma cruzi* strains: an in vitro study, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 105, 834-839.
62. Bustamante, J. M.; Bixby, L. M. & Tarleton, R. L. (2008) Drug-induced cure drives conversion to a stable and protective CD8+ T central memory response in chronic Chagas disease, *Nature Medicine* 14, 542-550.
63. Talvani, A.; Rocha, M. O. C.; Ribeiro, A. L.; Borda, E.; Sterin-Borda, L. & Teixeira, M. M. (2006) Levels of anti-M2 and anti-[beta1] autoantibodies do not correlate with the degree of heart dysfunction in Chagas' heart disease, *Microbes and Infection* 8, 2459-2464.
64. Teixeira, A. R. L.; Hecht, M. M.; Guimaro, M. C.; Sousa, A. O. & Nitz, N. (2011) Pathogenesis of Chagas' Disease: Parasite Persistence and Autoimmunity, *Clinical Microbiology Reviews* 24, 592-630.
65. Dávila-Spinetti, D. F.; Donis H, J. H.; Torres M, A.; Mazzei de Dávila, C.; Arata de Bellabarba, G.; Villarreal, V. & J.A.; F. (2002) La hipótesis neurogénica modificada puede explicar la historia natural de la enfermedad cardíaca chagásica crónica, *Avances Cardiológicos* 22, 55-60.
66. de Souza, M.; Andrade, S. G.; Barbosa Jr, A. A.; Santos, R. T. M.; Alves, V. A. F. & Andrade, Z. A. (1996) *Trypanosoma cruzi* strains and autonomic nervous system pathology in experimental chagas disease, *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz*. 91, 217-224.
67. Davila, D. F.; G.; I.; Mazzei de Davila, C. A. & Marin-Neto, J. A. (1998) Chagas' heart disease and the autonomic nervous system. Commentary, *International Journal of cardiology* 66, 123-131.
68. Vyatkina, G.; Bhatia, V.; Gerstner, A.; Papaconstantinou, J. & Garg, N. (2004) Impaired mitochondrial respiratory chain and bioenergetics during chagasic cardiomyopathy development, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1689, 162-173.
69. Wen, J.-J.; Vyatkina, G. & Garg, N. (2004) Oxidative damage during chagasic cardiomyopathy development: role of mitochondrial oxidant release and inefficient antioxidant defense, *Free Radical Biology and Medicine* 37, 1821-1833.
70. Wen, J. J.; Dhiman, M.; Whorton, E. B. & Garg, N. J. (2008) Tissue-specific oxidative imbalance and mitochondrial dysfunction during *Trypanosoma cruzi* infection in mice, *Microbes Infection* 10, 1201-1209.
71. Sawyer, D. B.; Siwik, D. A.; Xiao, L.; Pimentel, D. R.; K.; S. & Colucci, W. S. (2002) Role of oxidative stress in myocardial hypertrophy and failure. , *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 34, 379-388.

72. Tanowitz, H. B.; Huang, H.; Jelicks, L. A.; Chandra, M.; Loredó, M. L.; Weiss, L. M.; Factor, S. M.; Shtutin, V.; Mukherjee, S.; Kitsis, R. N.; Christ, G. J.; Wittner, M.; Shirani, J.; Kisanuki, Y. Y. & Yanagisawa, M. (2005) Role of Endothelin 1 in the Pathogenesis of Chronic Chagasic Heart Disease, *Infection and Immunity*. 73, 2496-2503.
73. Marin-Neto, J. A.; Cunha-Neto, E.; Maciel, B. C. & Simoes, M. V. (2007) Pathogenesis of Chronic Chagas Heart Disease, *Circulation* 115, 1109-1123.
74. Kedzierski, R. M. & Yanagisawa, M. (2001) Endothelin System: The Double-Edged Sword in Health and Disease, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 41, 851-876.
75. Benvenuti, L. A.; Aiello, V. D.; Palomino, S. A. P. & Higuchi, M. d. L. (2003) Ventricular expression of atrial natriuretic peptide in chronic chagasic cardiomyopathy is not induced by myocarditis, *International Journal of Cardiology* 88, 57-61.
76. Ribeiro, A. L. P.; dos Reis, A. M.; Barros, M. V. L.; de Sousa, M. R.; Rocha, A. L. L.; Perez, A. A.; Pereira, J. B.; Machado, F. S. & Rocha, M. O. v. C. (2002) Brain natriuretic peptide and left ventricular dysfunction in Chagas' disease, *The Lancet* 360, 461-462.
77. Bruggink, A. H.; de Jonge, N.; van Oosterhout, M. F. M.; Van Wichen, D. F.; de Koning, E.; Lahpor, J. R.; Kemperman, H.; Gmelig-Meyling, F. H. J. & de Weger, R. A. (2006) Brain Natriuretic Peptide is Produced Both by Cardiomyocytes and Cells Infiltrating the Heart in Patients with Severe Heart Failure Supported by a Left Ventricular Assist Device, *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 25, 174-180.
78. Rossi, M. A. (1990) Microvascular changes as a cause of chronic cardiomyopathy in Chagas disease, *American Heart Journal* 120, 233-236.
79. Torres, S. H.; Finol, H. J.; Montes de Oca, M.; Vasquez, F.; J.; P. o. J. & Loyo, J. G. (2004) Capillary damage in skeletal muscle in advanced Chagas's disease patients, *Parasitology Research* 93, 364-368.
80. Marin-Neto, J. A.; Simoes, M. V.; Ayres-Neto, E. M.; Attab-Santos, J. L.; Gallo Jr.; L.; Amorim, D. S. & Maciel, B. C. (1995) Studies of the coronary circulation in Chagas' heart disease, *Sao Paulo Medical Journal* 113, 826-834.

### **NOTA DEL EDITOR**

Este trabajo obtuvo el Premio del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid en el concurso científico 2011 de la Real Academia Nacional de Farmacia.