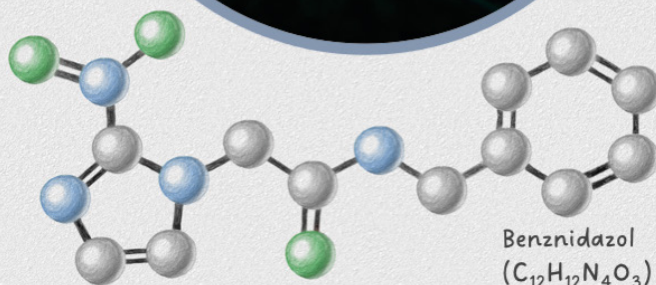
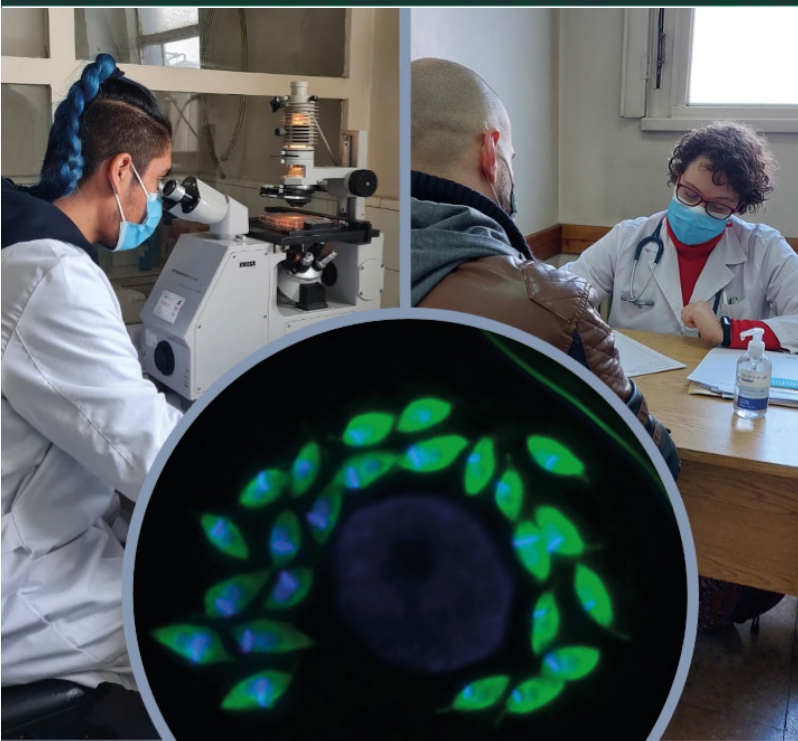


# Ciencia e Investigación

Primera revista argentina de información científica / Fundada en enero de 1945



SULFATACIÓN Y SULFOTOPES EN  
TRYPANOSOMA CRUZI, AGENTE  
CAUSAL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

■ Vilma G. Duschak

LA RESPUESTA DEL SISTEMA CIENTÍFICO  
TECNOLÓGICO FRENTE AL  
COVID-19 COMO OPORTUNIDAD  
PARA REPENSAR EL DIAGNÓSTICO  
DE CHAGAS

■ Rocío Rivero y Margarita Bisio

LA ENFERMEDAD DE CHAGAS,  
UNA PERSPECTIVA PSICOSOCIAL

■ Stella M. López, Yolanda Hernández Vásquez y  
Adelina Riarte

NUEVOS ENFOQUES TERAPÉUTICOS DE  
LA INFECCIÓN POR T. CRUZI/  
ENFERMEDAD DE CHAGAS

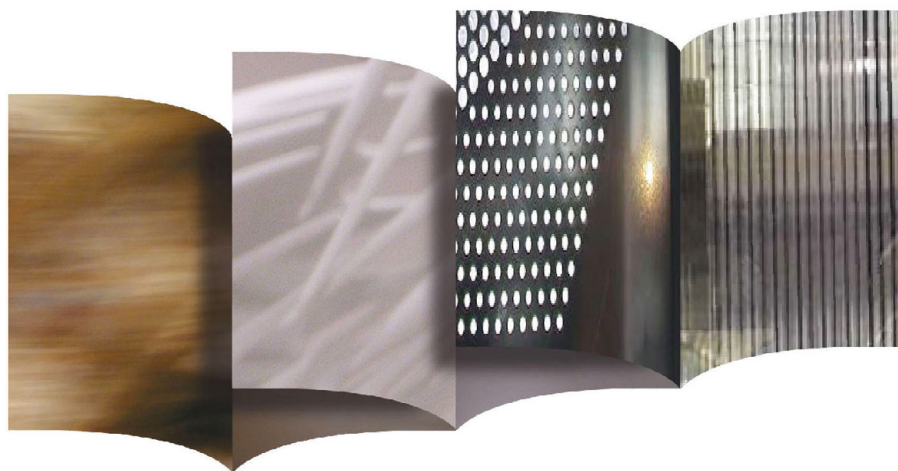
■ Maria-Jesus Pinazo, Colin Forsyth, Tayná Marques,  
Fabiana Barreira y Sergio Sosa-Estani

¿CÓMO SE DIAGNOSTICA LA  
ENFERMEDAD DE CHAGAS?

■ Silvia A. Longhi y Alejandro G. Schijman

QUIMIOTERAPIA PARA LA ENFERMEDAD  
DE CHAGAS. AVANCES Y PERSPECTIVAS

■ Juan Bautista Rodríguez



## Desarrollo y gestión de proyectos científicos y tecnológicos innovadores

FUNINTEC es una organización sin fines de lucro creada por la Universidad de San Martín cuyo objetivo es promover y alentar la investigación, el desarrollo tecnológico y la transferencia de conocimientos a los sectores público y privado, sus empresas y en particular a las PyMES.

Dentro de los alcances previstos por la Ley de Innovación Tecnológica, funciona como vínculo entre el sistema científico tecnológico y el sector productivo.

**CONTACTO:**  
[www.funintec.org.ar](http://www.funintec.org.ar)

Fundación  
Innovación  
y Tecnología



**FUNINTEC**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN

TOMO 72 N°3  
2022

**EDITOR RESPONSABLE**

Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias (AAPC)

**COMITÉ EDITORIAL**

**Editor:** Luis A. Quesada Allué

**Editora Adjunta:** Paula Regina Alonso

**Editores asociados**

Dr. Gerardo Castro  
Dra. Lidia Herrera  
Dr. Roberto Mercader  
Dra. Alicia Sarce  
Dr. Juan R. de Xammar Oro  
Dr. Norberto Zwirner

**CIENCIA E INVESTIGACIÓN**

Primera Revista Argentina de información científica. Fundada en Enero de 1945. Es el órgano oficial de difusión de La Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias. A partir de 2012 se publica en dos series, Ciencia e Investigación y Ciencia e Investigación Reseñas.

Av. Alvear 1711, 4º piso, (C1014AAE) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. Teléfono: (+54) (11) 4811-2998 Registro Nacional de la Propiedad Intelectual N° 82.657. ISSN-0009-6733.

Lo expresado por los autores o anunciantes, en los artículos o en los avisos publicados es de exclusiva responsabilidad de los mismos.

Ciencia e Investigación se edita on line en la página web de la Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias (AAPC)  
[www.aargentinapciencias.org](http://www.aargentinapciencias.org)

*Investigación, atención primaria de la salud, divulgación y educación como pilares fundamentales para una Argentina sin Chagas.*  
*Diseño de la imagen de portada: Catalina Alba Soto.*



## SUMARIO

### EDITORIAL

Día Nacional por una Argentina sin Chagas. Aportes a su concientización desde la Sociedad Argentina de Protozoología.  
**María Laura Belaunzarán y Fernanda M. Frank ..... 3**

### ARTÍCULOS

La respuesta del sistema científico tecnológico frente al COVID-19 como oportunidad para repensar el diagnóstico de Chagas  
**Rocío Rivero y Margarita Bisio .....5**

La enfermedad de Chagas, una perspectiva psicosocial  
**Stella M. López, Yolanda Hernández Vásquez y Adelina Riarte ..... 14**

Nuevos enfoques terapéuticos de la infección por *T. cruzi*/ Enfermedad de Chagas  
**Maria-Jesus Pinazo, Colin Forsyth, Tainá Marques, Fabiana Barreira y Sergio Sosa-Estani ..... 24**

¿Cómo se diagnostica la enfermedad de Chagas?  
**Silvia A. Longhi y Alejandro G. Schijman ..... 38**

Quimioterapia para la enfermedad de Chagas. Avances y perspectivas  
**Juan Bautista Rodríguez ..... 48**

Sulfatación y sulfotopes en *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la Enfermedad de Chagas  
**Vilma G. Duschak ..... 59**

**INSTRUCCIONES PARA AUTORES ..... 79**

*... La revista aspira a ser un vínculo de unión entre los trabajadores científicos que cultivan disciplinas diversas y órgano de expresión de todos aquellos que sientan la inquietud del progreso científico y de su aplicación para el bien.*

**Bernardo A. Houssay**

# Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias

## COLEGIADO DIRECTIVO

Presidente

Dra. Ester Susana Hernández

Vicepresidente

Dra. Ursula Maria Molter

Secretaria

Dra. Alicia María Sarce

Tesorero

Dr. Alberto Antonio Pochettino

Protesorero

Dra. Graciela Noemí Balerio

Miembros Titulares

Dra. Nidia Basso

Dr. Miguel Ángel Blesa

Dra. María Cristina Cambiaggio

Dra. Alicia Fernández Cirelli

Dra. Susana María Gallardo

Dra. María Lidia Herrera

Dr. Mario A.J. Mariscotti

Dr. Luis Alberto Quesada-Allué

Dr. Juan Roberto de Xammar Oro

Miembros Institucionales:

Asociación Argentina de Materiales (SAM):

Dra. Paula Regina Alonso

Asociación Argentina de Ensayos No Destructivos y Estructurales (AAENDE):

Ing. César Gustavo Belinco

Asociación Argentina de Energías Renovables y Ambiente (ASADES):

Dr. Jaime B.A. Moragues

Sociedad Argentina de Genética (SAG):

Dra. Ángela Rosaria Solano

Miembros Fundadores

Dr. Bernardo A. Houssay – Dr. Juan Bacigalupo – Ing. Enrique Butty

Dr. Horacio Damianovich – Dr. Venancio Deulofeu – Dr. Pedro I. Elizalde

Ing. Lorenzo Parodi – Sr. Carlos A. Silva – Dr. Alfredo Sordelli – Dr. Juan C. Vignaux –

Dr. Adolfo T. Williams – Dr. Enrique V. Zappi

AAPC

Avenida Alvear 1711 – 4° Piso

(C1014AAE) Ciudad Autónoma de Buenos Aires – Argentina

[www.aargentinpncias.org](http://www.aargentinpncias.org)

# DÍA NACIONAL POR UNA ARGENTINA SIN CHAGAS. APORTES A SU CONCIENTIZACIÓN DESDE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE PROTOZOOLOGÍA.

■ **María Laura Belaunzarán<sup>1</sup> y  
Fernanda M. Frank<sup>2</sup>\***

1 Secretaria de la Sociedad Argentina de Protozoología. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPaM), Facultad de Medicina UBA-CONICET

2 Presidente de la Sociedad Argentina de Protozoología. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPaM), Facultad de Medicina UBA-CONICET y Cátedra de Inmunología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

\* E-mail: fermfrank@yahoo.com.ar

Desde el año 2011 se conmemora los últimos viernes del mes de agosto el "**Día Nacional por una Argentina sin Chagas**", por iniciativa del Ministerio de Salud de la Nación y adhesión de las provincias. Esta conmemoración tiene por objetivo "promover la participación y el compromiso comunitarios, a partir del trabajo conjunto entre la comunidad científica, sanitaria, escolar y la comunidad en general para desnaturalizar la enfermedad de Chagas, tomar conciencia acerca de esta problemática y romper el silencio que la rodea".

En esta fecha particular, desde la Sociedad Argentina de Protozoología (SAP) nos propusimos acompañar esta iniciativa con artículos de divulgación científica, en los cuales nuestros socios puedan compartir parte de su labor científica cotidiana

La SAP, fundada en el año 1984, tiene como objetivos promover y difundir la investigación científica y tecnológica de la Protozoología en particular y de la Parasitología en general, fortaleciendo la formación científica de sus miembros. La SAP está integrada por investigadores dedicados a parasitología básica y clínica, como así también eco-epidemiología, bioquímica, inmunología, patología y biología celular y molecular. Si bien el alcance de nuestra sociedad es muy amplio, un importante porcentaje de sus miembros ha dedicado su carrera al estudio de distintos aspectos de la Enfermedad de Chagas, cuyo agente causal es el protozoo *Trypanosoma cruzi*, su vector (vinchuca), sus vías de transmisión, factores implicados en la patogénesis de la enfermedad, medidas de profilaxis, etc. Por este motivo nos propusimos, con la colaboración de la Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias (AAPC), acompañar el Día Nacional por una Argentina sin Chagas con este número especial de la Revista **Ciencia e Investigación**.

Queremos agradecer muy especialmente a los socios de la SAP que se han sumado a esta propuesta con todo entusiasmo y han contribuido con estos seis artículos que pretenden ser una pequeña aproximación a la gran problemática que plantea hoy la enfermedad de Chagas.

En este sentido, el artículo de las Dras. Margarita Bisio y Rocío Rivero nos invita a reflexionar, entre otras cosas, sobre la importancia de la inversión en ciencia y el impacto que pudiera tener sobre el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Este artículo describe los avances y retrocesos ocurridos en el transcurso de estos años de pandemia por SARS CoV-2, el diagnóstico y el desarrollo de técnicas diagnósticas aplicables a distintas patologías. Es importante destacar que los conocimientos adquiridos en la emergencia sanitaria pueden impactar sobre enfermedades desatendidas, así como el estudio previo de estas, fue un insumo indispensable en el rápido desarrollo de tecnologías diagnósticas frente a la crisis de COVID-19. Las fuertes inversiones de capital impactaron no solo en herramientas para enfrentar esta crisis, sino también en la implementación sobre otras enfermedades con una amplia complejidad como lo es la Enfermedad de Chagas. Más aún, en el artículo de los Dres. Silvia Longhi y Alejandro Schijman se pone de manifiesto la complejidad para arribar al diagnóstico certero de esta enfermedad, los cuales varían según regiones geográficas, etapas de infección, vías de transmisión en la que se adquirió la infección, recursos económicos de laboratorio, etc., describiendo de manera didáctica desde las metodologías diagnósticas convencionales hasta las más modernas y los desafíos que aún quedan por resolver.

Por otra parte, a través del artículo de la Dra. Stella Maris López y col., nos acercamos a conocer los aspectos sociales de los pacientes con Enfermedad de Chagas crónico que consultan anualmente al Instituto Nacional de Parasitología (INP) Dr. Mario Fatala Chaben, destacando los factores que condicionan la vulnerabilidad de esta población.

No solo el diagnóstico es complejo en la Enfermedad de Chagas sino que existen además grandes falencias en el tratamiento y la evaluación de su efectividad. No hay dudas de la necesidad real de encontrar una quimioterapia segura basada en nuevas moléculas efectivas y efectos secundarios mínimos. La búsqueda de estas herramientas terapéuticas se concentra por un lado en el desarrollo de nuevas entidades químicas tal como lo describe el artículo del Dr. Juan Bautista Rodríguez, y por otro lado en mejorar la tolerancia y eficacia de los tratamientos actuales modificando dosis, modos de administración, duración del tratamiento, etc. El artículo de la Dra. María-Jesús Pinazo y col. nos describe las dificultades que implican el tratamiento de la enfermedad de Chagas y los diferentes ensayos clínicos que se han realizado, o se están realizando, aspirando a mejorar los resultados terapéuticos. Estos artículos nos muestran desde dos puntos de vista complementarios, como nos encontramos trabajando desde la ciencia básica o desde los ensayos clínicos en pacientes infectados, en la búsqueda de tratamientos eficaces en el control de la infección o prevención de la patología característica de la enfermedad de Chagas.

Por último, el artículo de la Dra. Vilma Duschak nos relata estrategias de biología celular parasitaria y como estas influyen sobre la respuesta inmune que se desencadenan durante la infección, dejando en evidencia la complejidad de los mecanismos que se podrían intervenir en la búsqueda de estrategias inmunopreventivas o inmunoterapéuticas.

Esperamos que este número especial de la **Ciencia e Investigación** les resulte de interés y sea además una contribución de la Sociedad Argentina de Protozoología a la comunidad en su conjunto para la comprensión de la complejidad que trae aparejada la infección por *Trypanosoma cruzi* y la problemática de la Enfermedad de Chagas.

# LA RESPUESTA DEL SISTEMA CIENTÍFICO TECNOLÓGICO FRENTE AL COVID-19 COMO OPORTUNIDAD PARA REPENSAR EL DIAGNÓSTICO DE CHAGAS

**Palabras clave:** pandemia, covid-19, sistema científico tecnológico, diagnóstico de Chagas.  
**Key words:** pandemic, covid-19, science and technology system, Chagas diagnosis.

Las consecuencias que trajo la pandemia de COVID-19 en todas las dimensiones de la vida probablemente sean producto de muchos años de análisis y trabajos de investigación. Aunque todavía no puede cuantificarse con exactitud, se considera que la repercusión negativa, social y económica, de la pandemia tanto en el corto, el mediano y el largo plazo como a nivel nacional y mundial, no tendrá precedentes. En particular, la crisis desatada en los sistemas de seguridad social puso en jaque la provisión de la salud en el mundo. Pero como toda crisis significó también espacios para generar nuevos paradigmas que pueden tener un impacto en el campo de la salud. En este trabajo nos interesa particularmente repensar las incertidumbres, certezas y desafíos que nos deja la pandemia, en materia de diagnóstico, para abordar desde la salud pública la detección de la infección por *Trypanosoma cruzi* ("Trypanosoma cruzi" en itálica) en nuestro país.

■ **Rocío Rivero<sup>1</sup>, Margarita Bisio<sup>1,2,\*</sup>**

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Parasitología "Fátala Chabén", ANLIS Malbrán

<sup>2</sup> Consejo Nacional de Investigaciones en Científicas y Técnicas, CONICET

\*E-mail: marguib@gmail.com

The consequences of the COVID-19 pandemic on all dimensions of life will probably be the product of many years of analysis and research. Although it can not yet be accurately quantified, the negative social and economic impact of the pandemic, both in the short, medium and long term, nationally and globally, will be unprecedented. The crisis of the social security system puts the provision of health in the world at risk. However, like any crisis, it is also an opportunity to generate new paradigms that could have an impact on the health field. In this paper, we are particularly interested in highlighting the uncertainties, certainties and challenges that the pandemic has left us, in terms of diagnosis, in order to address the detection of *Trypanosoma cruzi* infection ("*Trypanosoma cruzi*" va en itálica) from the public health system point of view.

*"En el escenario de la maravillosa pero también dolorosa dialéctica de la vida, la ciencia se abre camino entre los fuegos cruzados de intereses contrapuestos. Por un lado, los de aquellos poderosos que buscan constreñirla y vaciarla de toda objetividad penetrante y, por el otro, las fuerzas colectivas, forjadas alrededor de las necesidades estra-*

*tégicas de los pueblos, que anhelan una ciencia responsable, buscando un conocimiento independiente, holístico, profundo, veraz y liberador que acompañe sus luchas por la vida en equidad y por la salud"*

Jaime Breilh

## ■ LA CRISIS DEL COVID-19 Y LA RESPUESTA DEL SISTEMA CIENTÍFICO TECNOLÓGICO

La presión sin precedentes producto del COVID-19 sobre los servicios de salud ha exigido una pronta respuesta para el manejo de la pandemia. Como consecuencia en lo que respecta a la atención de salud, en la mayoría de los países, se sus-

pendieron los servicios clínicos que no fueron de emergencia, incluidos los tamizajes diagnósticos, las cirugías electivas y hasta los suministros de medicación para algunas patologías crónicas. Al mismo tiempo, las medidas de distanciamiento físico y las restricciones en los servicios de transporte que se impusieron a principio del 2020, así como el miedo al contagio, dificultaron la movilización de los pacientes hacia los centros de atención. Producto de esa situación, podría esperarse un incremento de la morbimortalidad en la población general (OPS, 2020). En todo el mundo los profesionales del área de salud alertaron sobre los cambios en los escenarios epidemiológicos y se reconoce el aumento de la mortalidad, en primer lugar por COVID-19, pero también se observó un aumento en la mortalidad por otras patologías, dado que no se detectaron y trataron a tiempo, la descompensación de enfermedades crónicas por falta de seguimiento médico y acceso a tratamiento, así como complicaciones perinatales, observándose limitaciones en el acceso a los servicios de salud sexual y reproductiva, salud materno-infantil y salud mental (Woolf y col., 2020; CEPAL, 2021).

Frente a la necesidad de dar respuesta a la atención por COVID-19, los sectores de biomedicina y tecnología tuvieron un papel destacado y la sociedad trasladó la esperanza casi mágicamente hacia las soluciones generadas por ellos. El sistema científico tecnológico se involucró en forma rápida para atender cuestiones ligadas no sólo al origen y las características del virus, sino también a resolver problemas que surgían desde los servicios de salud como el desarrollo de pruebas para la detección del virus, de vacunas, de nuevos tratamientos y de tecnologías sanitarias. Esta situación no atravesó sólo a los investigadores

del área de salud, sino a todas las ramas de las ciencias experimentales, sociales y como consecuencia se trasladó también el desafío para quienes diseñan, ejecutan y financian políticas de ciencia. Esta capacidad científico técnica generada, fomentada e instalada junto con las redes establecidas entre las distintas estructuras de los ministerios, agencias y organismos descentralizados de ciencia y técnica (CyT) vinieron, esperamos, para quedarse (Albornoz y col., 2020).

El desarrollo de respuestas desde la CyT, lógicamente no estuvo exento de las desigualdades entre las naciones ricas y los países periféricos, reproduciendo desigualdades en términos económicos y sociales. Por ejemplo, en términos de producción de vacunas los avances se dieron en tiempo récord porque los estados presionaron a las empresas de insumos de salud asumiendo los riesgos financieros. Pero la cobertura de vacunación sigue siendo desigual: se han reportado en América Latina y el Caribe 14 países y territorios que aún en el 2022 no han inmunizado al 40% de su población, ocupando Haití el último lugar con una cobertura inferior al 1,2% (PAHO, 2022).

Por otra parte, tal vez lo más destacado de la crisis, fue que los actores de la sociedad civil como organizaciones sociales, iglesias, y asociaciones barriales también se involucraron de forma activa implementando los conocimientos generados por el sistema de CyT. En nuestro país, tomaron un rol central en los dispositivos barriales de apoyo y coordinación de los elementos sanitarios derivados de la pandemia y realizaron distintas acciones en los barrios populares tendientes a restablecer algunas tramas del tejido social desdoblado sus tareas entre la asistencia alimentaria y operativos sanitarios (Di Tomas y col.,

2021). Este esfuerzo conjunto dio como resultado un rápido desarrollo y validación de nuevas pruebas de detección y tratamiento así como la planificación, tanto a nivel nacional como local, de estrategias que permitieron facilitar el testeado masivo (por ej Dispositivo Detectar, Programa el barrio cuida al barrio, etc) y el abastecimiento de insumos, respiradores y de vacunas a todo el territorio nacional.

Es por esto que sin intenciones de ofrecer un estudio exhaustivo sobre esta problemática, en este trabajo nos proponemos pensar cuáles fueron aquellas herramientas de la CyT que posibilitaron el testeado masivo para COVID-19 con el objetivo de comenzar a definir una plataforma conceptual que permita vislumbrar caminos de acción posibles y más justos para un mayor acceso al diagnóstico, tomando como modelo el abordaje de Chagas.

#### ■ CERTEZAS APRENDIDAS: PARA GESTIONAR UNA PANDEMIA SE NECESITA ASIGNAR RECURSOS A CYT

Sin pretender realizar un análisis económico, vamos a mencionar algunos valores generales provenientes de las asignaciones presupuestarias de nuestro país porque pensamos que fue central para lograr una rápida respuesta. Si observamos los datos de la partida destinada al ministerio de salud, en nuestro país, la pandemia significó un aumento que alcanzó en el 2020 los \$ 55.121.278.515 millones de pesos (Presupuesto 2021), muy por encima de los \$ 39.456.784.916 del 2019 aunque es necesario analizar el porcentaje inflacionario para tener certezas del aumento neto.

En el área de CyT ocurrió algo similar pero con números que todavía quedan por debajo de los



aportes que realizan otros países que apuestan fuertemente al crecimiento de esta área (por ejemplo Israel le asigna 4,21% del Producto Bruto Interno (PBI)). Para que la actividad científica y tecnológica tenga impacto en la calidad de vida se requiere de inversiones de magnitud adecuada y continuidad durante décadas (Stefani, 2017). En Argentina, en el año 2015 se destinó 0,35% del PBI a CyT. Sin embargo, en los últimos años esta cifra decayó y finalizó en el 2019 con un porcentaje del 0,23% del PBI, la más baja desde 2006. Esta asignación de presupuesto volvió a subir durante la emergencia de COVID y finalizó en 0,25% (Presupuesto 2021). Además este año se sancionó la Ley 27614, que propone un aporte para llegar a incrementar al 1% del PBI en el 2032 (Boletín oficial). Por otro lado, hubo un re direccionamiento de las líneas estratégicas hacia COVID-19 y se lanzaron desde el inicio de la pandemia, 9 convocatorias para que los profesionales investiguen, potencien sus capacidades y desarrollen soluciones a los principales desafíos que trajo el virus. Esto significó 1.200 millones de pesos en más de 130 proyectos que fueron ejecutados (Ideas Proyecto, IP COVID-19). Cerca del 40% de los proyectos financiados estuvieron enfocados en biología molecular, biotecnología y farmacéutica (Poth y col., 2022).

Pero también es necesario destacar, que esta asignación de recursos fue recibida por un sistema de CyT con una tradición centenaria que, con sus debilidades y fortalezas (que no es interés de este artículo discutir), ya estaba en funcionamiento. El inicio de la pandemia coincidió con la reasignación de jerarquía al Ministerio de Ciencia y Técnica (MinCyT), creado en 2007 “para priorizar y jerarquizar las políticas de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva”, el cual había sido reba-

jado a secretaría en el gobierno anterior. Por otro lado, la mayor parte de los grupos de científicos que recibieron financiamiento producto de estas iniciativas no fueron generados para tal fin, sino que habían sido conformados y venían trabajando para dar respuesta a otras problemáticas de salud (CONICET, 2020). Es más, algunos de los temas a los que se abocaban algunos de estos grupos de investigación, previamente a la pandemia, eran aquellos considerados estratégicos por el MinCyT, como ser el desarrollo de pruebas de diagnóstico para infecciones usualmente desatendidas en la agenda de las empresas de insumos médicos, como ser enfermedad de Chagas, sífilis congénita o leishmaniasis entre otras (Plan Argentina Innovadora 2020).

#### ■ LAS ENDEMIAS Y LA PANDEMIA, EL FOCO EN CHAGAS

La enfermedad de Chagas, pertenece desde el año 2005 al grupo de enfermedades infecciosas desatendidas, debido a que por muchos años ha recibido insuficiente atención de la industria farmacéutica y de insumos médicos. Siendo endémica en 21 países, sigue siendo un problema de salud pública para la Región de las Américas. Sin embargo, como consecuencia de las migraciones, la urbanización, la modificación de las estrategias agrícolas y el cambio climático, la enfermedad ha traspasado el marco rural y latinoamericano y ha logrado instalarse en las ciudades y en países de América del Norte, Europa, Asia y Oceanía, transformándose en un problema de salud pública global (Lidani y col., 2019).

La discusión sobre el registro de casos y la estimación del número de infectados es compleja y sobrepasa el interés de este artículo. Pero entendemos que no sólo la cantidad de infectados define la importancia del

problema: en la medida en que su reproducción está asociada a condiciones materiales de pobreza, escasez de información y falta de acceso a servicios sanitarios básicos, el Chagas es un símbolo de las profundas inequidades que arrastra el continente sudamericano (Zabala, 2010). Se estima que dos terceras partes de las personas con Chagas (también llamada infección por *Trypanosoma cruzi*) viven actualmente en zonas urbanas y que sólo el 10%, a nivel mundial lo saben (Sanmartino y col., 2015; Klein y col., 2017; Danesi y col., 2019; Cucunumbá y col., 2017). Por lo tanto, si en condiciones de normalidad existió para esta infección un subdiagnóstico, nada nos orienta a pensar que durante la crisis COVID-19 esto haya cambiado. De hecho, si bien la OMS estimó en 2015 que en la Argentina se producen 1078 nuevos casos anuales producto de la transmisión vectorial el último boletín integrado de vigilancia epidemiológica disponible, registra sólo un caso de Chagas agudo vectorial desde la semana 1 a la semana 52 para los años 2018 - 2019 (Boletín Integrado de Vigilancia, 2020).

Esta patología genera en la Región de las Américas una pérdida de aproximadamente 66.200 años de vida ajustados por discapacidad. El abordaje médico de los pacientes supera en más del 80% los costos de usar insecticidas para controlar los vectores en las áreas endémicas (OPS, 2018a). Si bien los avances en prevención y control del vector han sido abordados por distintas iniciativas en los países endémicos, los alcances se limitan al control de una de las aristas del problema, quedando la atención médica de las personas infectadas rezagada en función de las dificultades diagnósticas y terapéuticas (OPS, 2018a) por ello la cobertura en el diagnóstico continúa siendo deficiente y aunque creció

en las últimas décadas no llega a los objetivos previstos.

En América Latina, los países tienen una variada estructura sanitaria y procesos de descentralización donde el diagnóstico se realiza tanto en efectores públicos como privados de los servicios de salud. La multiplicidad de actores, la inestabilidad del recurso humano y la mayor complejidad en la estructura de la red de servicios impone cada vez mayores retos a los países para poder garantizar la calidad de la atención. Esto es crucial para la atención de la salud de pacientes con infección por *T. cruzi* que pueden curarse si el tratamiento se administra al poco tiempo de producirse la infección y así evitar la aparición de lesiones (cardiológicas, digestivas o de sistema nervioso central) con el tiempo o la transmisión vertical de la infección en el caso de personas gestantes. Por ese motivo, el diagnóstico oportuno de la infección es una estrategia propuesta por la OPS/OMS para reducir la morbimortalidad por Chagas

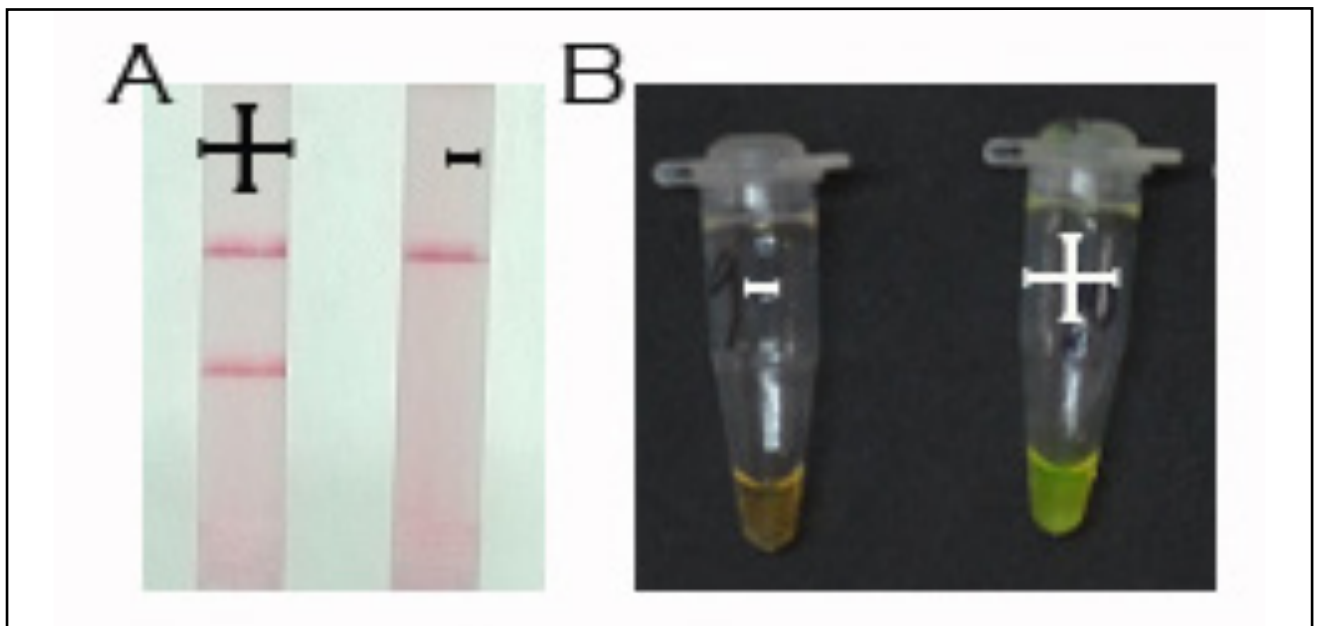
(OPS, 2017 y 2019). La implementación de políticas que garanticen acceso a un tratamiento adecuado se fundamenta necesariamente en la existencia de un sistema de atención que ofrezca con oportunidad acceso al diagnóstico confiable (OPS, 2018b).

### ■ EL DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO EN LA ERA POST COVID-19

En la actualidad estamos asistiendo a un cambio importante en los laboratorios de microbiología clínica, en el que se incluyen avances tecnológicos tales como la utilización de PCR y pruebas rápidas en los puntos de atención y más recientemente la secuenciación de patógenos y el uso de espectrometría de masas para caracterización de las cepas (Figura 1). Sin embargo, estos avances no han tenido un impacto real en el diagnóstico de la infección por *T. cruzi* porque sigue siendo escasa, aún hoy, la inversión en desarrollo, evaluación de desempeño y calidad de las pruebas de detección. Por otro lado,

la inversión en CyT, analizada a partir de la producción científica, (Arza y Colonna, 2021) está fuertemente alineada con otros problemas que otorgan mayor visibilidad y legitimidad científica internacional (como por ejemplo el control de vectores) en lugar de producir conocimientos que se puedan aplicar fácil y rápidamente para abordar problema locales como ser el diagnóstico de la infección vertical por *T. cruzi*.

Debido a que la infección por *T. cruzi* es asintomática o genera síntomas inespecíficos el diagnóstico es básicamente responsabilidad del laboratorio, es decir es necesario realizar un análisis de sangre para saber si una persona está o no infectada (Ver Longhi y col. en esta misma edición). En pacientes con infección aguda se requiere detectar el parásito al microscopio, para lo cual se necesita un operador de laboratorio entrenado en la visualización de este microbio, o realizar una PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), técnica que hasta hace



**Figura 1:** Ejemplos de “pruebas rápidas” para las que el resultado puede conocerse por una lectura visual sin necesidad de equipamiento de laboratorio. A) Pruebas rápidas serológicas (aparición de una línea roja en el caso positivo). B) Pruebas rápidas isotérmicas (cambio de color naranja a verde en el caso positivo)

unos años no estaba disponible en muchos centros de atención de salud. En pacientes con infección crónica se requiere la realización de al menos dos pruebas serológicas con principios diferentes, lo que supone un reto logístico y económico, ocasionando que muchas veces el diagnóstico de calidad sólo se limite a laboratorios de referencia (Cucunubá y col., 2017). En síntesis, el diagnóstico de laboratorio de esta



**Figura 2:** A) Imagen de la “Jornada para la elaboración de recomendaciones sobre la inclusión de PCR en el diagnóstico de infección vertical por *Trypanosoma cruzi*” realizada en el Instituto Nacional de Parasitología “Dr Mario Fatala Chaben”, ANLIS-Malbrán, Buenos Aires, 10 de Noviembre de 2021. B) Representantes de diferentes institutos de investigación del CONICET, Hospitales, Organizaciones no gubernamentales nacionales e internacionales y el Ministerio Salud de la Nación.

infección no es una tarea fácil, implica un alto costo de insumos, equipamiento y personal entrenado. Esto genera que en sectores que tienen poco acceso a la atención de salud pocas veces se llegue al diagnóstico (ver más arriba).

Durante la pandemia términos como epidemiología, curvas de contagio, "PCR" o "test rápido" (o prueba de detección rápida) han devenido populares (Figura 1). Para COVID-19, al 30 de marzo de 2022 se habían realizado 35.371.141 tests en la Argentina, producto a que se involucró en esa tarea a los centros de atención de la salud, universidades, institutos de investigación, organizaciones sociales y de la sociedad civil en su conjunto. Este logro en la masiva cobertura diagnóstica fue un hito en la historia de la salud pública. Si observamos las estimaciones que se conocen hoy para la población expuesta al riesgo de infección por *T. cruzi* en Argentina (2.242.528 de infectados) (OMS, 2015), podemos reconocer que el problema de diagnóstico de Chagas es abordable fácilmente con la capacidad instalada pos COVID-19.

Nuestro país ha impulsado históricamente el desarrollo de técnicas de diagnóstico de la infección por *T. cruzi* (como el microhematocrito, serología, desarrollo de antígenos recombinantes y PCR). Si observamos, por ejemplo el diagnóstico por PCR, nuestro país ha sido pionero desde los años 90 en la evaluación de estas técnicas para el diagnóstico y seguimiento de infección. En efecto, fue sede y organizador de dos workshops realizados por OPS/OMS para la estandarización y validación de este tipo de pruebas (Schijman y col., 2010 y Ramirez y col., 2015). En 2012 el MinCyT destinó 2,3 millones de pesos a 3 proyectos de investigación llevados a cabo por con-

sorcios público privados para que desarrollen y validen pruebas de diagnóstico para la detección de la infección vertical (convocatoria FITS Salud 2011 del Fondo Argentino Sectorial (FONARSEC) de la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica). En ese marco, se desarrollaron dos pruebas de diagnóstico, una de las cuales consiste en una prueba de PCR para detección de Chagas vertical que ha sido validada para su uso en bebés (Benatar y col., 2021). Sin embargo, fue gracias a las capacidades instaladas durante la pandemia para detección por PCR de SARS-CoV-2 las que dieron impulso a que en noviembre del 2021, se pudiera incluir la recomendación de utilizar la PCR en el algoritmo de diagnóstico de Chagas vertical del Ministerio de Salud (Figura 2). Si bien la recomendación se basa en la evidencia disponible a partir de estudios prospectivos de cohorte realizados en nuestro país (Bisio y Rivero y col., 2021, Benatar y col., 2021), tuvo un gran impacto en esta decisión la disponibilidad de recursos, equipamiento y personal formado para pruebas del tipo PCR, logrado en el sistema de salud durante la pandemia.

Hitos como este deben replicarse para que no se diluyan los avances logrados y permanezcan en nuestra agenda de salud. Otras pruebas de detección de *T. cruzi* desarrolladas por la industria local podrían aumentar el acceso al diagnóstico como por ejemplo las pruebas isotérmicas o las pruebas rápidas, que fomenten la detección en distintos puntos de atención. También deben continuar en agenda estudios prospectivos de cohorte realizados en terreno que evalúen el desempeño de las pruebas de detección, nuevos marcadores para la eficacia del tratamiento, otros fármacos y la posibilidad de una vacuna.

## ■ NOTAS FINALES

En este trabajo se intentó remarcar que producto de la pandemia existió un aumento de la inversión en salud y el financiamiento de investigación y desarrollo en CyT y que ese apoyo económico rápidamente fue percibido por la sociedad en su conjunto como beneficioso para su calidad de vida. Durante este tiempo fue necesario deshacerse de las ineficiencias del mercado para desarrollar vacunas/fármacos/insumos de diagnóstico para SARS-CoV-2. Si anhelamos una ciencia emancipadora debemos hacerlo también para el desarrollo de insumos médicos que permitan una mejor atención de pacientes con otras enfermedades infecciosas cuya producción se vio históricamente afectada por la falta de inversión e interés del sector privado. Por otro lado, nos parece importante destacar que diferentes actores de la sociedad civil expusieron durante la pandemia un saber propio de sus experiencias en el territorio que el sistema de CyT debería reconocer como valioso e indispensable para implementar las soluciones que desarrolla, ya que ésto resultó por ejemplo en una rápida validación e implementación de nuevas pruebas de detección durante la crisis COVID-19.

Las epidemias a veces también pueden servir para repensar y recordar las deudas pendientes con nuestras sociedades y Estados (Basilé 2020). El desafío que se nos presenta entonces, a los grupos que trabajamos hace años en investigación sobre enfermedad de Chagas o biología de *T. cruzi*, es cómo derivamos este interés social y capacidad instalada post COVID-19 hacia la implementación de los desarrollos locales para el abordaje de la atención de la salud. Creemos que dimensiones desde lo social, lo co-

municacional, en vínculo con las organizaciones sociales y políticas, que se involucraron para la lucha contra el COVID-19, pueden fácilmente adoptarse para las enfermedades endémicas, permitiendo un abordaje rápido y masivo de estas infecciones que por años permanecieron en el olvido. Repensar el abordaje del diagnóstico de la enfermedad de Chagas es un desafío que debemos asumir para alcanzar la cobertura que se logró durante la pandemia por SARS-CoV-2 y así contribuir a la eliminación del Chagas como problema en la agenda de la salud pública.

## ■ GLOSARIO

**Chagas vertical:** El Chagas vertical (anteriormente llamado Chagas congénito) se produce cuando el parásito se transmite desde la embarazada al feto, situación que puede suceder en cualquier estadio de la enfermedad y momento del embarazo.

**PCR:** las pruebas de PCR (por sus siglas en inglés polymerase chain reaction, en español reacción en cadena de la polimerasa) son una forma rápida y muy precisa de diagnosticar ciertas enfermedades infecciosas y cambios genéticos. Las pruebas detectan el ADN o el ARN de un patógeno (el organismo que causa una enfermedad) o células anormales en una muestra de sangre u otros tejidos.

**Serología:** las pruebas de serología de anticuerpos comprueban la presencia o el nivel de anticuerpos específicos en la sangre. Los anticuerpos son proteínas que el sistema inmunitario produce para combatir sustancias extrañas. Estas sustancias suelen ser patógenos (gérmenes que causan enfermedades) como virus, bacterias y parásitos. Cuando una persona tiene una infección, su

cuerpo produce anticuerpos dirigidos al patógeno causante.

**Pruebas rápidas:** también conocidas como pruebas de detección rápido o RDT (por sus siglas en inglés), son pruebas fáciles de usar que suelen dar resultados en 20 minutos o menos. A diferencia de la mayoría de las pruebas de diagnóstico convencionales, que hay que enviar a un laboratorio, las pruebas rápidas se hacen y dan resultados en el punto de atención. El punto de atención es el lugar donde se está atendiendo a la persona que se hace el test. Puede ser el consultorio de su médico, una clínica o incluso su propia casa (Figura 1).

**Microhematocrito:** es una técnica de laboratorio que permite detectar el parásito *T. cruzi* utilizando muy poco volumen de sangre que por lo tanto permite realizar el diagnóstico en bebés. Fue puesta a punto y descrita por médicos argentinos en los años 80 y es ampliamente utilizada en toda América Latina.

**Pruebas isotérmicas:** En los últimos años se han desarrollado diferentes técnicas de amplificación de ácidos nucleicos isotérmicos. El objetivo de las mismas es trasladar las pruebas que detectan el ADN o el ARN de un patógeno en una muestra de sangre u otros tejidos hacia laboratorios de baja complejidad que no necesiten equipos sofisticados como por ejemplo los que se usan para hacer PCR (termocicladores) (Figura 1).

## ■ REFERENCIAS

Organización Panamericana de la Salud (2020). Recomendaciones para adaptar y fortalecer la capacidad resolutoria del primer nivel de atención durante la pandemia de COVID-19. OPS/IMS/HSS/COVID-19/20-0032 Septiembre.

Comisión Económica para América Latina y el Caribe (2021). Panorama Social de América Latina, 2020. LC/PUB.2021/2-P/Rev.1.

Cucunubá ZM, Manne-Goehler JM, Díaz D, Nouvellet P, Bernal O, Marchiol A, Basáñez MG, Conteh L (2017). How universal is coverage and access to diagnosis and treatment for Chagas disease in Colombia? A health systems analysis. *Soc Sci Med* Feb;175:187-198.

Woolf SH, Chapman DA, Sabo RT, Weinberger DM, Hill L (2020). Excess Deaths From COVID-19 and Other Causes. *JAMA* March-April 324(5):510-513.

Albornoz M, Barrere R, Osorio L, Sokilla J (2020). Respuesta de la ciencia ante la crisis del COVID-19. Colección Papeles Del Observatorio Septiembre N°16.

La OPS entrega cien millones de vacunas de COVAX contra la COVID-19 en América Latina y el Caribe. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/15-2-2022-ops-entrega-cien-millones-vacunas-covax-contra-covid-19-america-latina-caribe>. Accedido el 10 de Mayo de 2022.

Di Tomas M, Garcia F, Rivero R, Utges ME, Santini MS (2021). Estrategias socio-sanitarias desplegadas por las organizaciones sociales ante la pandemia de COVID-19 en el barrio popular "El Playón de Chacarita" de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. XIV Jornadas de la Carrera de Sociología "Sur, pandemia y después". Noviembre, Universidad de Buenos Aires.

Presupuesto 2021 Disponible en: <https://www.economia.gob.ar/>

- onp/presupuesto\_ciudadano/seccion2.php#sa. Accedido el 30 de abril de 2022.
- Ley 2761456: Ley De Financiamiento del Sistema Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación. Boletín oficial. Disponible en: <https://www.boletinoficial.gob.ar/detalleAviso/primera/241782/20210312>. Accedido el 30 de abril de 2022.
- Stefani F (2017). Evolución del presupuesto del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (MINCYT), y de la función Ciencia y Técnica del presupuesto nacional. Disponible en: <https://cibion.conicet.gov.ar/wp-content/uploads/sites/22/2017/10/Evolucion-de-presupuesto-MINCYT-y-f-CyT.pdf>. Accedido el 30 de abril de 2022.
- Poth C, Cufre S, Blaustein M (2022). Inversión en ciencia y tecnología durante la pandemia: un análisis interdisciplinario e interseccional sobre derechos, prioridades, estrategias y desafíos. En: Ciencias y pandemia. Una epistemología para los derechos humanos. La Plata, Editorial de la Universidad Nacional de La Plata.
- Más de 70 institutos de todo el país comprometidos en la lucha contra el COVID-19 (2020). Disponible en: <https://www.conicet.gov.ar/mas-de-70-institutos-de-todo-el-pais-comprometidos-en-la-lucha-contra-el-covid-19/> Accedido el 12 mayo de 2022
- Plan Argentina Innovadora 2020. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/pai2020.pdf>. Accedido el 15 de mayo de 2022.
- Lidani KCF, Andrade FA, Bavia L, Damasceno FS, Beltrame MH, Messias-Reason IJ and Sandri TL (2019). Chagas Disease: From Discovery to a Worldwide Health Problem. *Front. Public Health* July, 7:166.
- Zavala JP (2010). La enfermedad de Chagas en Argentina. Investigación científica, problemas sociales y políticas sanitarias (2010). Bernal, Editorial Universidad Nacional de Quilmes.
- Sanmartino M, Avaria A, Gómez i Prat J, Parada Barba MA, Albajar-Viñas P (2015). Que no tengan miedo de nosotros: el Chagas según los propios protagonistas. *Interface (Botucatu)*, 19(55):1063-75.
- Klein K, Burrone MS, Alonso JP, Rey Ares L, García Martí S, Lavenia A, y col. (2017). Estrategia para mejorar el acceso al tratamiento etiológico para la enfermedad de Chagas en el primer nivel de atención en Argentina. *Rev Panam Salud Publica*, 41:e20.
- Danesi E, Codebó MO, Sosa-Estani S (2019). Transmisión congénita de *Trypanosoma cruzi*. Argentina 2002-2014. *Medicina (B Aires)*, 79:81-9.
- Cucunubá ZM, Manne-Goehler JM, Díaz D, Nouvellet P, Bernal O, Marchiol A y col. (2017) How universal is coverage and access to diagnosis and treatment for Chagas disease in Colombia? A health systems analysis. *Feb*;175:187-198.
- Boletín Integrado de Vigilancia (2020). Ministerio de Salud de la Nación. Semana Epidemiológica 02/2020. Disponible en: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/biv\\_481\\_edicion ampliada.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/biv_481_edicion ampliada.pdf). Accedido el 30 de abril de 2022
- Organización Panamericana de la Salud (2018). Enfermedad de Chagas en las Américas: una revisión de la situación actual de salud pública y su visión para el futuro. Informe: Conclusiones y recomendaciones. Washington D.C.
- Organización Panamericana de la Salud (2018). Guía para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Washington, D.C.
- Organización Panamericana de la Salud (2019). Control, interrupción de la transmisión y eliminación de la enfermedad de Chagas como problema de salud pública. Guía de evaluación, verificación y validación. Washington, D.C.
- Organización Panamericana de la Salud (2017). ETMI PLUS. Marco para la eliminación de la transmisión maternoinfantil del VIH, la sífilis, la hepatitis y la enfermedad de Chagas. Washington, DC.
- Arza V, Colonna A (2021). Exploring the links between research demand and supply: The case of Chagas. SWPS 2021-01
- (Ver longhi y col en esta misma edición)
- World Health Organization (2015) Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. *Weekly Epidemiological Record*, 90 (06), 33 - 44.
- Schijman AG, Bisio M, Orellana L, Sued M, Duffy T, Mejía Jaramillo

- AM y col. (2011). International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. *PLoS Negl Trop Dis* 5(1):e931.
- Ramirez JC, Cura CI, da Cruz MO, Lages-Silva E, Juiz N, Pavia P y col. (2015). Analytical validation of quantitative real-time PCR methods for quantification of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. *J Mol Diagn*, 17(5):605–615.
- Benatar AF, Danesi E, Besuschio SA, Bortolotti S, Cafferata ML, Ramirez JC y col. (2021). Prospective multicenter evaluation of real time PCR kit prototype for early diagnosis of congenital Chagas disease. *EBioMedicine*, 69:103450.
- Bisio MMC, Rivero R, Gonzalez N, Ballering G, D'Amico I, Kessler C y col. (2021).. Diagnostic accuracy of two molecular tools for diagnosis of congenital Chagas Disease. *Mol Diagn Ther*, Nov;25(6):791-801.
- Basile, G (2020). Coronavirus en América Latina y Caribe: entre la terapia de shock de la enfermedad pública y la respuesta de la salud colectiva/salud internacional Sur Sur. IV Dossier de Salud Internacional Sur Sur, Ediciones GT Salud Internacional CLACSO.

# LA ENFERMEDAD DE CHAGAS, UNA PERSPECTIVA PSICOSOCIAL

**Palabras clave:** Determinantes sociales e Incertidumbre- Enfermedad de Chagas- Migraciones.

**Key words:** Social determinants - Uncertainty - Chagas disease-Migrations.

La enfermedad de Chagas (ECh) es una enfermedad tropical desatendida que se ha globalizado con impacto en el ámbito físico, psicológico, familiar y social de las personas afectadas. Es una enfermedad tradicionalmente de enfoque biomédico. Este es un eje esencial pero diferentes factores intervienen en la continuidad de esta problemática presentando hoy un abordaje multidisciplinario. Este estudio se apoyó en las personas con ECh que concurren anualmente a control médico al INP Fátala Chabén y se basó en datos y encuestas semiestructuradas realizadas durante el período 2009-2021. El objetivo fue evaluar aspectos sociales, demográficos y étnicos, de género, laborales, etc. dado que estos factores condicionan la vulnerabilidad de la población con ECh. Las migraciones y el migrante se asocian a la ECh desde hace décadas con su consecuencia más relevante el origen del Chagas Urbano. En el cuidado de la salud la mujer muestra un rol activo y accede a un diagnóstico temprano personal y prenatal mientras que el hombre accede en general cuando existen síntomas de la ECh. El estigma vinculado a la ECh, la incertidumbre alrededor de la evolución, las etnias regionales que aún permanecen ocultas, las esperanzas de tratamientos más efectivos y más seguros, un sistema de salud con mayor capacitación e interacción con el sistema educativo requieren de un abordaje integral con perspectiva de género para lograr mayor equidad. Políticas sociales inclusivas son hoy cada vez más necesarias.

Chagas disease (CHD) is a neglected tropical disease that has become globalized with an impact on the physical, psychological, family and social spheres of the affected people. It is a disease traditionally biomedical approach. This is an essential axis but different factors intervene in the continuity of this problem presenting today a multidisciplinary approach. This study was based on persons with CHD who attend the INP Fátala Chabén annually for medical control and was based on semi-structured surveys carried out during the period 2009-2021. The objective was to evaluate social, demographic and ethnic, gender, labor aspects, etc. given that these factors determine the vulnerability of the population with CHD. Migrations and the migrant have been associated with CHD for decades, with its most relevant consequence being the origin of Urban Chagas. In health care, women play an active role and have access to an early personal and prenatal diagnosis, while men generally have access when there are symptoms of CHD. The stigma associated with CHD, the uncertainty surrounding the evolution of its disease, the regional ethnic groups that are still hidden, the hopes for more effective and safer treatments, a health system with greater training and interaction with the educational system require a comprehensive approach with a gender perspective to achieve greater equity. Inclusive social policies are increasingly necessary today.

Ramón Carrillo *"No puede haber política sanitaria sin política social"*

## ■ INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Chagas (ECh) o tripanosomiasis americana, es una infección causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*. Está considerada por la Organización Mundial

de la Salud (OMS) (30) dentro del grupo de las enfermedades tropicales desatendidas. Es endémica en 21 países de la región y afecta de 6 a 8 millones de personas, tiene una mortalidad promedio, estimada en 12.000 muertes al año y puede causar lesiones irreversibles y crónicas esencialmente cardíacas pero también digestivas. Aproximadamente 8.600 recién nacidos de madres

■ **Stella M. López<sup>1\*</sup>, Yolanda Hernández Vásquez<sup>2</sup>, Adelina Riarte<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Psicóloga social. <sup>2</sup>Médica cardióloga. <sup>3</sup>Médica investigadora clínica.

Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fátala Chabén" INP ANLIS. Ciudad de Buenos Aires. Argentina.

\*E-mail: stmlopez@yahoo.com

infectadas por *T. cruzi* nacen con infección perinatal. La dispersión mundial de la ECh (36) se produjo a través de los movimientos poblacionales en América Latina; actualmente está presente en los Estados Unidos, Canadá, en muchos países europeos, como España, en África, en países del Mediterráneo Oriental y del Pacífico Occidental.



La OMS fijó un plan para eliminar la ECh como un problema de salud pública. El plan forma parte de la nueva hoja de ruta 2021-2030 (31) que la agencia sanitaria de Naciones Unidas elaboró para las 20 enfermedades más desatendidas.

La ECh es una enfermedad tradicionalmente de enfoque biomédico. Si bien este es un eje esencial, actualmente su abordaje es multidisciplinario. "Los determinantes sociales en salud (DSS) (32) son las circunstancias en las que las personas nacen, crecen, viven, trabajan y envejecen, incluido el sistema de salud. Dichas circunstancias son resultado del contexto socio-económico y político y explican la mayor parte de las inequidades sanitarias". Existen diferentes modelos para explicar los DSS y entender cómo se generan las desigualdades sociales

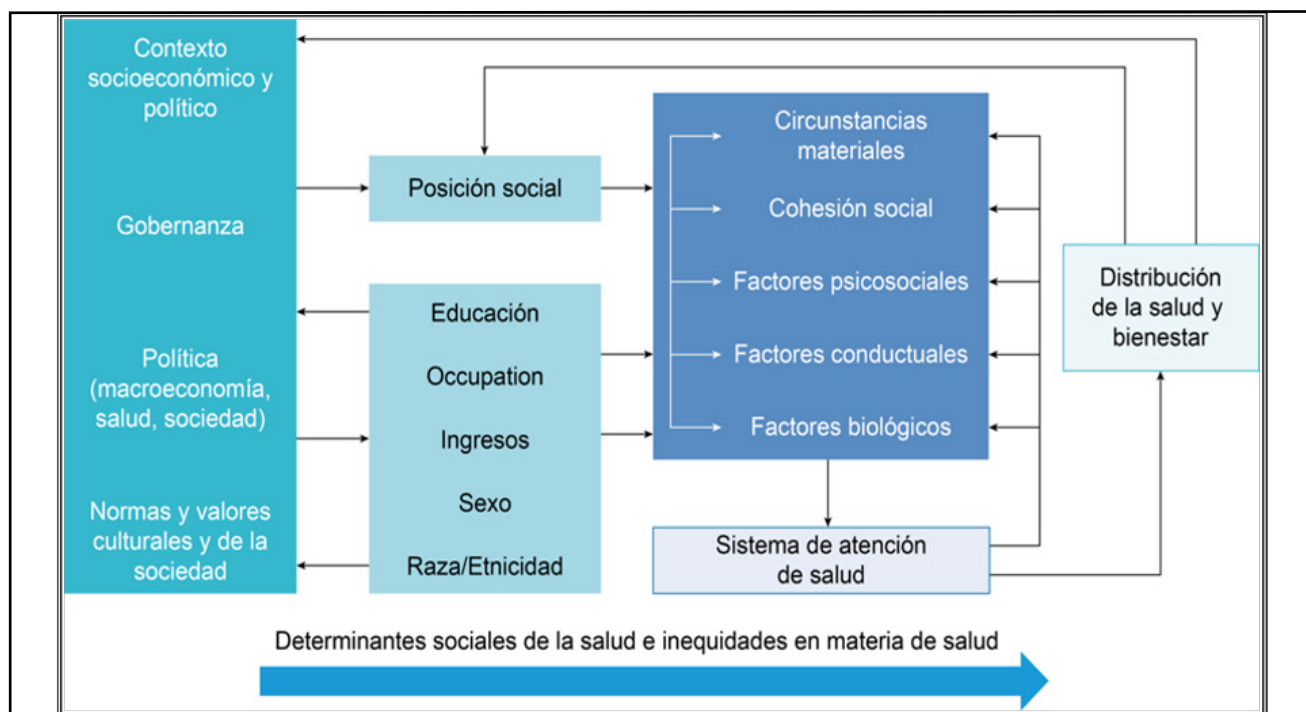
en salud. Uno de los más utilizados ha sido el modelo del arco iris (5) que explica cómo las desigualdades sociales en salud son resultado de las interacciones entre los diferentes niveles individual, comunitario y a nivel de las políticas nacionales de la salud. En el centro se encuentran los factores que no pueden modificarse como la edad, el sexo y los genéticos que influyen en el potencial de salud, como también influyen las conductas personales y estilos de vida. Las personas en situación económica desfavorable presentan una mayor prevalencia de factores de riesgo como tabaquismo, mala alimentación etc. También enfrentan barreras financieras para la elección de un estilo de vida saludable.

Las influencias sociales inciden en los comportamientos personales ya sea de forma positiva o negativa,

al acceso de las instalaciones y servicios esenciales. Las condiciones de vivienda precarias, la exposición a trabajos de mayor riesgo y estrés crean riesgos diferentes para las personas socialmente desfavorecidas.

Las condiciones económicas, culturales y ambientales de una sociedad, así como las condiciones del mercado laboral, las creencias culturales sobre el lugar de la mujer en la sociedad o las actitudes dominantes en las comunidades de minorías étnicas, pueden influir en los estándares de vida y posición socioeconómica. (1)

En 2005 (28) fue creada la Comisión sobre Determinantes Sociales en Salud (CDSS) por el Dr. Lee J.W, Director General de la OMS, para ayudar a los países a abordar los factores sociales que conducen a la



**Figura 1:** El modelo DSS incluye los factores tradicionales de ingreso y educación como así también reconoce como estratificación el género, etnicidad y sexo. Los determinantes intermedios fluyen de la configuración de estar debajo de la estratificación social y a su vez determinan las diferencias en la exposición y la vulnerabilidad de la salud. Se incluye en términos intermedios: las condiciones de vida, de trabajo, disponibilidad de alimentos, comportamiento de la población y barreras para adoptar estilos de vida saludables y los servicios de salud. (32)

mala salud e inequidades. La CDSS reconoce que la salud es una meta social y una responsabilidad de toda la sociedad. La evidencia muestra que es posible mejorar la coordinación y el liderazgo para hacer frente a las dimensiones sociales de la salud en todos los procesos de elaboración de políticas públicas para lograr una mejor calidad en la salud y mayor acceso a la atención sanitaria; la comisión ha adoptado el modelo DSS que genera estratificación social. La Figura 1 visualiza los DSS y las interacciones entre los mismos.

## ■ **METODOLOGÍA**

A los fines de ilustrar los aspectos psicosociales nos apoyaremos en nuestra experiencia en la atención de personas con infección por *T.cruzi*-ECh crónica quienes concurren anualmente al control médico. El estudio se sustentó en datos y respuestas obtenidas de encuestas semi-estructuradas durante el periodo 2009 a 2021. Ello nos permitió obtener información sobre las circunstancias sociales, el contexto demográfico y étnico y nos acercó a la preocupación de la población por la ECh que se atiende en un centro urbano de referencia nacional como es el INP "Dr. Mario Fatala Chaben".

## ■ **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### ■ **LA ATENCIÓN DE UNA ENFERMEDAD CRÓNICA**

#### **ASPECTOS SOCIO DEMOGRÁFICOS Y MOVIMIENTOS MIGRATORIOS**

De acuerdo con nuestros datos (16, 17, 18) la mayoría de las personas que concurren a la atención médica son adultos que han completado la escolaridad primaria, algunos no están escolarizados y unos pocos tienen educación superior. En

su mayoría son migrantes de zonas del noreste y noroeste argentino, y países limítrofes principalmente Bolivia y Paraguay, que residen desde hace varias décadas en ciudades del Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA), con el objetivo de mejorar su calidad de vida. Estas migraciones caracterizan lo que actualmente se define como Chagas Urbano. El censo 2010 registró la migración más alta de países limítrofes 3,1% en relación a censos anteriores que oscilaba entre 2 y 2,9%. Este cambio en el patrón migratorio fue favorecido por la modificación en la Ley de Migraciones N° 25.781(13) que destaca la integración del migrante a la sociedad argentina teniendo en cuenta sus derechos humanos. Las migraciones favorecen la reducción de las desigualdades en diferentes zonas de un mismo país y entre los países, la movilidad de la población trata de alcanzar un balance entre el acceso a los mercados laborales y entre los beneficios y costos de estos desplazamientos (2). En este marco parte de las personas que se atienden han seguido esta trayectoria.

Algunas de las personas se auto-identifican como pertenecientes a pueblos originarios: Quechua, Guaraní y Mocoví (17). El último censo (INDEC, 2010) arrojó un promedio nacional de 2,4% habitantes, aproximadamente 950 mil personas, que se reconocían pertenecientes o descendientes de pueblos indígenas u originarios (9). En las visitas estas personas llegaban a la consulta con un acompañante debido a la barrera idiomática, dado que no recordaban demasiado su idioma de origen después de tantos años de vivir en la ciudad, recordando cuando llegaron siendo niños o jóvenes la obligación de aprender el idioma nacional, antes de comenzar la escolaridad. R. Segato, 2007 (35) dirá que "nacionalizar, significó, moldear una especie de "etnicidad ficticia", férreamente

uniformada. El sujeto étnico nacional tuvo que moldearse en un perfil neutro, vaciado de toda particularidad". Esta es una realidad que se ha repetido a lo largo del proceso histórico de invisibilización, discriminación, negación, sometimiento, entre otros factores de las lenguas indígenas. (20)

### **IMPORTANCIA DEL CONTROL CLÍNICO Y EL CONOCIMIENTO SOBRE LA ENFERMEDAD**

El padecer una enfermedad crónica puede ser considerado un acontecimiento traumático en la vida de una persona, que la ubica en una situación de vulnerabilidad. La persona le dará un significado propio, vinculado a su historia personal, familiar y social, los rasgos de personalidad, como ha atravesado los duelos, como ha sido su vivencia de relación con la enfermedad a lo largo de su historia. Según la apreciación o valoración del diagnóstico movilizará estrategias, conductas, ideas, pensamientos para afrontar la angustia o temores que produce. (39) El afrontamiento o coping es un modo relativamente estable y característico de respuesta del individuo a situaciones estresantes. (12)

Las primeras reacciones al conocer el diagnóstico son, en general, de negación e incredulidad: "no puede ser" "¿por qué a mí?" La consideran una enfermedad grave, vinculada a las afecciones cardíacas, la falta de tratamiento y la posibilidad de una muerte súbita (18). Aparecen los miedos: al deterioro físico, a perder la autonomía, pérdidas del rol social, al abandono, a la discriminación; a la pérdida del trabajo que es un suceso que tiene un fuerte impacto en la red de relaciones sociales, por la pérdida del rol de trabajador, colega, compañero y empobrecimiento económico. (39)

El control clínico anual, le va permitir conocer y asimilar el nuevo estatus de persona infectada por *T. cruzi* ya que el paso a la enfermedad puede no suceder a lo largo de la vida o aparecer unas cuantas décadas después; de ahí la importancia de aceptar la necesidad de controlarse anualmente. Esta diferenciación entre infección-enfermedad suele no ser tan clara para la persona afectada, quienes suelen usar la expresión "mi Chagas está dormido", lo cual acrecentará su incertidumbre y algunos temores se reactivarán en cada control.

El concepto de "incertidumbre de enfermedad" lo ha definido Mishel, 1988 (25) como la incapacidad para determinar el significado de los eventos relacionados con la enfermedad. Las características de ambigüedad, vaguedad, imprevisibilidad, falta de familiaridad, inconsistencia y falta de información, subyacen al proceso de incertidumbre (21). El mismo se ha explorado tanto en enfermedades agudas como crónicas

(26,27) y se ha descubierto que es un factor de estrés psicosocial adicional en los pacientes y familias. (4)

### TENDENCIAS DE GÉNERO

La mayoría de las consultas son realizadas por mujeres. El conocimiento de su diagnóstico se da a partir de una sospecha por haber estado en contacto con el vector (*vinchuca*), por bancos de sangre y/o en los controles prenatales, lo que permite que se acerquen precozmente a la consulta médica y se detecten en los estadios iniciales de la infección/enfermedad. La Figura 2 presenta la distribución por género y edad. (16)

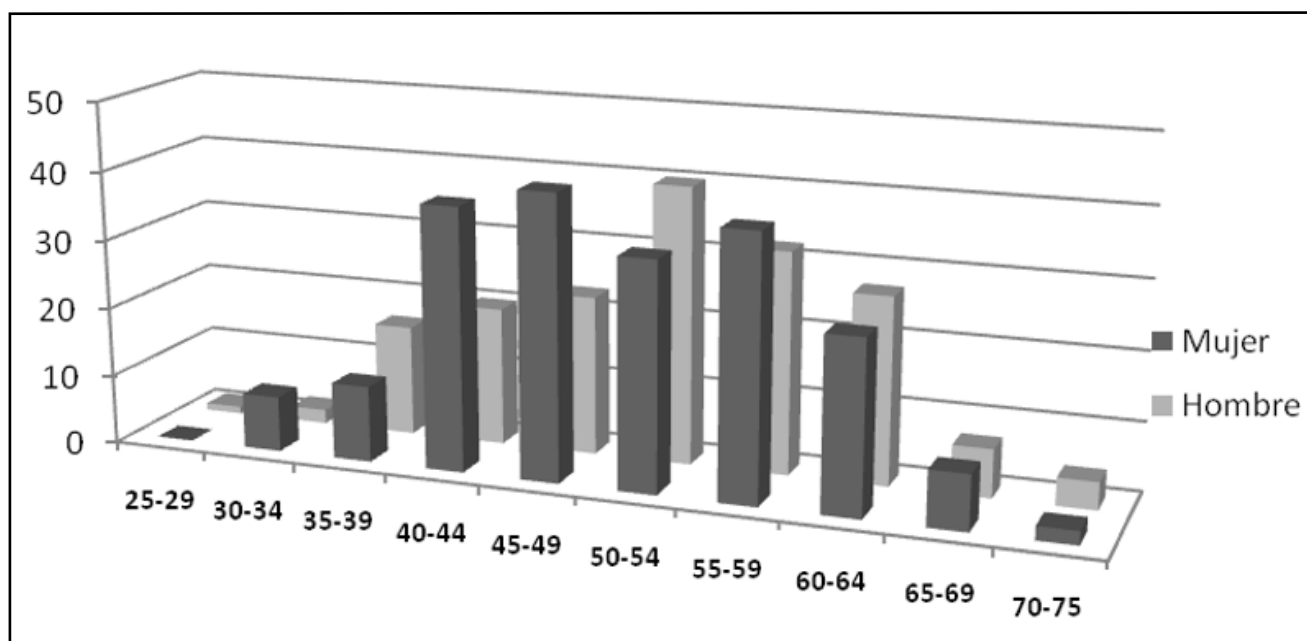
En este sentido las tendencias sobre la demanda de atención médica son coincidentes con los estudios sobre género; donde el rol de la mujer en los cuidados de la salud es mayor, con alta presencia en las consultas de madres y mujeres acompañantes. En general las mujeres tienen una percepción más sensible sobre su estado de salud

estando más dispuestas a realizar tratamiento para mejorar su calidad de vida.

En el caso de los hombres, las consultas espontáneas las realizan más tardíamente, cuando presentan algún síntoma asociado a la ECh, por un familiar con diagnóstico similar, por derivación por banco de sangre, por la necesidad de un apto médico laboral, etc.

### ANTECEDENTES SOBRE EL TRATAMIENTO TRIPANOCIDA

Las normas sobre el tratamiento etiológico de la ECh han atravesado diferentes períodos. En 1983 (22) fue aprobada por las autoridades nacionales la primera Norma para el tratamiento de la infección por *T. cruzi*, con recomendación para tratar los casos agudos de la ECh. Para esa época no se recomendaba el tratamiento antiparasitario en pacientes jóvenes y adultos debido a la elevada frecuencia de aparición de reacciones adversas provocadas por las



**Figura 2:** Se observa la distribución por género y edad de las consultas médicas. Muestra que los hombres consultan a partir de los 50 años ( $P < 0.05$ ), en tanto que las mujeres comienzan antes sus controles médicos. (16)

drogas específicas como el Benznidazol (Bz) y el Nifurtimox, así como también, por la persistencia de la reactividad serológica. La intolerancia descrita para el Bz alcanza hasta el 50% en varios estudios clínicos, lo que lleva a la suspensión del tratamiento hasta el 18 - 22 % (40) de los individuos tratados, siendo las reacciones adversas más frecuentes las dermatológicas por hipersensibilidad, gastrointestinales, neurotoxicidad periférica y mioartralgias.

Las investigaciones acerca de la utilización de estas drogas originó la revisión de las Normas, aprobándose los nuevos procedimientos por Resolución N°1870/06 del Ministerio de Salud de la Nación. Las nuevas guías se han actualizado a través de la consulta de paneles de expertos y evidencia científica generando recomendaciones y sugerencias en realizar o no el tratamiento tripanocida.

En 2012 la Guía del Ministerio de Salud de la Nación (23) siguiendo la metodología GRADE recomienda el tratamiento específico para todos los pacientes en fase aguda de cualquier naturaleza, fase crónica en niños y adolescentes menores de 19 años, donante reactivo en trasplantes de órganos y accidentes de laboratorio y quirúrgicos. Probablemente indicar tratamiento en adultos con infección crónica sin patología demostrada o con cardiopatía incipiente en menores de 50 años. El uso de tratamiento tripanocida en pacientes con lesión orgánica moderada o grave era todavía motivo de investigación.

En 2018 la Guía de la OPS/OMS (29) usando también la metodología GRADE además de las indicaciones previas recomienda el tratamiento tripanocida para: niños con ECh (infección crónica), en las mujeres en edad fértil con ECh (infección crónica) y en pacientes con infec-

ción aguda perinatal por *T. cruzi*. En pacientes adultos con infección crónica por *T. cruzi* sin daño orgánico específico se sugiere indicar tratamiento tripanocida (recomendación condicional, basada en una certeza baja sobre los efectos de la intervención). Se recomienda no indicar tratamiento tripanocida en adultos con infección crónica y daño orgánico específico.

Más allá del tratamiento tripanocida específico, cuando los pacientes presentan signos o síntomas asociados a cardiopatía por ECh se administran los tratamientos correspondientes.

#### **ALGUNAS EXPERIENCIAS SOBRE LAS EXPECTATIVAS EN EL TRATAMIENTO ESPECÍFICO**

La enfermedad y las preocupaciones por la salud son universales, están presentes en todas las sociedades. Cada grupo social desarrolla prácticas en respuesta a las experiencias o episodios de enfermedad. El sistema de salud no está disociado de estos aspectos culturales (11). Haremos referencia a respuestas sobre las expectativas del tratamiento en un estudio realizado a pacientes que participaban de un ensayo clínico TRAENA (18). Las mismas reflejaban la esperanza con diferentes matices, confluyendo elementos socioculturales y del modelo biomédico develando la representación de la enfermedad y salud. En tanto los médicos tenían ciertas expectativas en el tratamiento en su hipótesis de trabajo y resultados; por su parte los pacientes también asumían expectativas sobre el papel del médico y el tratamiento.

En esta cohorte las expectativas se centraron para algunos pacientes en la eficacia del tratamiento, en mejorar su calidad de vida, en curar la ECh, *en el resultado del análisis,*

*en una serología negativa.* Otros esperaban la palabra del profesional médico: *"la Doctora me dirá"* si se curó o no. El haber realizado el tratamiento, sea tratamiento activo o placebo, ya significó, para muchos, sentirse mejor, haciendo referencia a la atención y acompañamiento médico, sus expectativas ideales se centraban en la figura del médico, el tratamiento y en nuevas investigaciones.

Para otros pacientes la expectativa estaba en el proceso de seguimiento, en la relación médico-paciente, en el acceso y continuidad de la atención; y se expresaba en la esperanza de mejorar y de sentirse bien. Estas respuestas correspondían a quienes tenían un diagnóstico confirmatorio temprano y en algunos casos en estadios más avanzados de la enfermedad; los mismos resaltaron el cumplimiento de sus expectativas de atención médica sintiéndose más controlados, atendidos, escuchados y con más información. Dentro de las barreras enunciadas se destacan algunos costos directos e indirectos como faltar al trabajo, dejar los hijos en la casa, el costo del viaje. Como así también cumplir con la dieta y la ingesta de pastillas. En este sentido encontramos similitudes con lo descrito por Forsyth, 2017 (7) sobre las barreras observadas por los afectados sobre el tratamiento de la ECh.

La actitud del empleador tuvo impacto en la asistencia a los controles. Se observó que algunos se sintieron acompañados, otros no, relacionado a la pérdida del día laboral. También aquellos que ocultaron su afección en su lugar de trabajo dando otros motivos para su ausencia. Lo que nos lleva a preguntarnos sobre la discriminación laboral, Rissech, 2001(34). Recién en 2007 la ley 26.281 (14) en su artículo 5to prohíbe realizar reacciones serológicas para los aspirantes a cualquier

tipo de empleo o actividad y viene a resolver años de ambigüedad en las normas sobre discriminación y abandono. Sin embargo otros factores como la baja demanda social, disminución de expectativas, carencia de información y capacitación etc.(3), condicionan un ingreso laboral en su mayoría informal resolviendo su calidad de vida aunque en forma precaria.

**SITUACIÓN LABORAL**

Un estudio realizado a partir de la base de datos de registro de pacientes (16) en el INP muestra que la mayoría tenía trabajo remunerado formal o informal distribuidos en las siguientes categorías: Trabajadores asalariados 40%. Trabajadores por cuenta propia 18%. Trabajador familiar no remunerado 34%, corresponde a las amas de casa. No trabaja 2,8%. Jubilado y pensionado 4,8%.

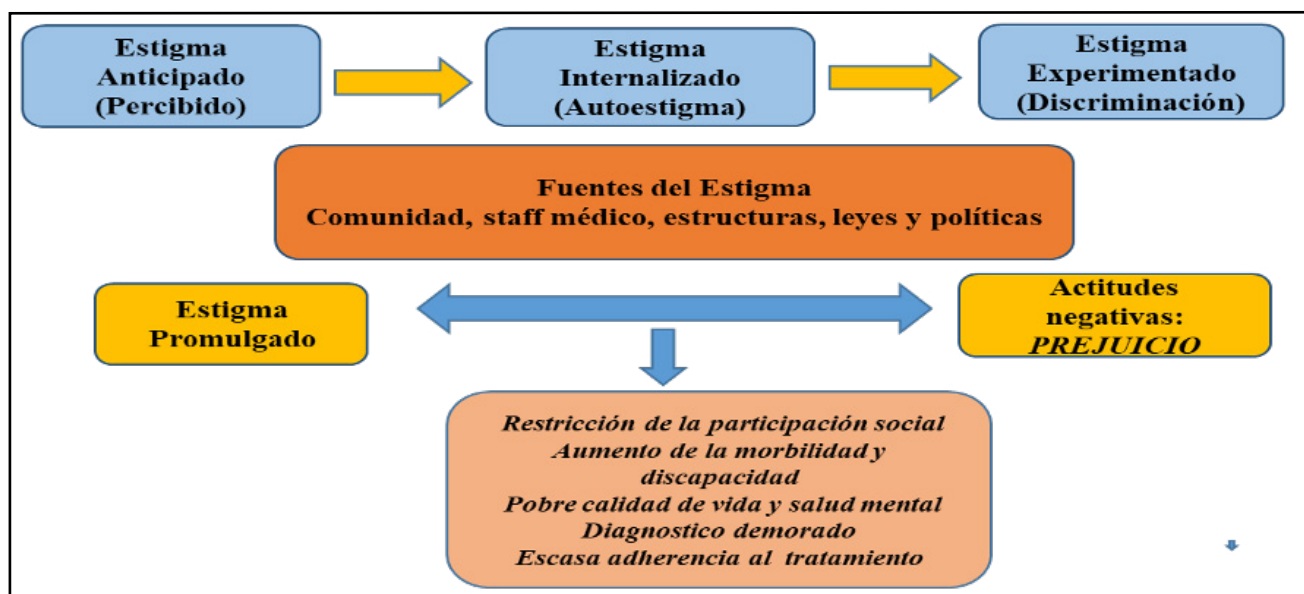
La mitad era Población Económicamente Activa (PEA). En las mujeres sobresale el trabajo en casas de familia, ventas en ferias, peluquería, costura, etc. Algunas son excepcionalmente propietarias de negocios. Se advierte que los hombres tienen mayor trabajo formal dado que presentan mayores aportes sociales que las mujeres.

La división sexual del trabajo muestra las diferencias en la participación de las mujeres y los hombres en las actividades productivas (de mercado) y en las reproductivas (fuera del mercado). Encontramos que la PEA en los hombres representa más del 90%, como empleados, operarios, etc.; en las mujeres, la tasa de ocupación alcanza menos del 50%, esta diferencia podría explicarse dado que más de la mitad de las mujeres se categorizan como “amas de casa” considerando que

según el Instituto Nacional de Estadística y Censo (INDEC), las “amas de casa” no están incluidas como PEA. Aquellas que poseen un empleo remunerado, son una extensión de su rol doméstico (trabajo en casas de familia, maestranza, etc.); en esta población muy pocas mujeres trabajan por cuenta propia.

**EL ESTIGMA EN LA SALUD**

Goffman, 1963 (8) en la teoría social define el estigma como “un fenómeno en el cual un individuo es rechazado debido a un atributo o comportamiento que está profundamente desacreditado por la sociedad”. Las implicancias que tiene el estigma en la salud pública es abordado (15) como resultado de un proceso donde intervienen varios componentes interrelacionados (estereotipos, prejuicios, separación entre “ellos” y “nosotros” etc.) La



**Figura 3:** Una definición integral del estigma relacionado con la salud que abarca diferencias en perspectivas y tipos, y que lo caracterizaron como “Un proceso social o una experiencia personal relacionada por la exclusión, el rechazo, la culpa o la devaluación que resulta de la experiencia o anticipación razonable de un juicio social adverso sobre una persona o grupo identificado con un determinado problema de salud”. Esas fases individuales y comunitarias en el desarrollo del estigma que se generan dentro del ámbito social, que constituyen las fuentes del estigma, producen consecuencias que afectan el control médico, con aumento de comorbilidades, escasa adherencia al tratamiento, discapacidad, e inhiben la participación social del individuo en este caso con una dolencia crónica. (41)

discriminación puede ser *directa*, cuando el rechazo es abierto, *estructural* es más sutil, un ejemplo es cuando los centros de tratamiento de enfermedades estigmatizadas están ubicados en entornos aislados o en barrios pobres o peligrosos.

Los procesos de estigmatización tienen impacto en la vida de las personas, en las oportunidades de empleo, vivienda y acceso a la atención médica. El estrés, el miedo a ser etiquetado con la enfermedad puede hacer que las personas retrasen o eviten buscar tratamiento por completo, mientras que aquellos que ya están etiquetados pueden decidir distanciarse, renunciar al tratamiento o no cumplir. Dado que el estigma coloca a las personas en una desventaja social con respecto a estos recursos, aumenta su exposición a los riesgos y limita el acceso a los factores de protección, lo que puede aumentar su carga de enfermedad o discapacidad, como así también su participación social. En la Figura 3 describimos el desarrollo del estigma en base a Weiss y Ramakrishna (2006) sobre la interacción social y

el impacto en la persona.

### RED SOCIAL DE APOYO

Las redes de apoyo social (38) ayudan en el bienestar, protegen contra el estrés generado por la enfermedad y capacita al paciente para reevaluar la situación y adaptarse mejor a ella, ayudándole a desarrollar respuestas de afrontamiento a situaciones adversas. Estas conexiones de apoyo pueden ser formales (institucionales) o informales (familia, amigos).

La familia es la fuente principal de apoyo social principalmente para el enfermo crónico para afrontar con éxito los problemas a que da lugar la enfermedad, la cuidadora primaria, es quien aporta el máximo apoyo instrumental, afectivo y emocional, generalmente este rol es ocupado por una figura femenina.

El acompañamiento brindado por las familias en la cohorte de TRAENA (18), fue una red social de apoyo, tanto para ingresar como para sostener el tratamiento y el lar-

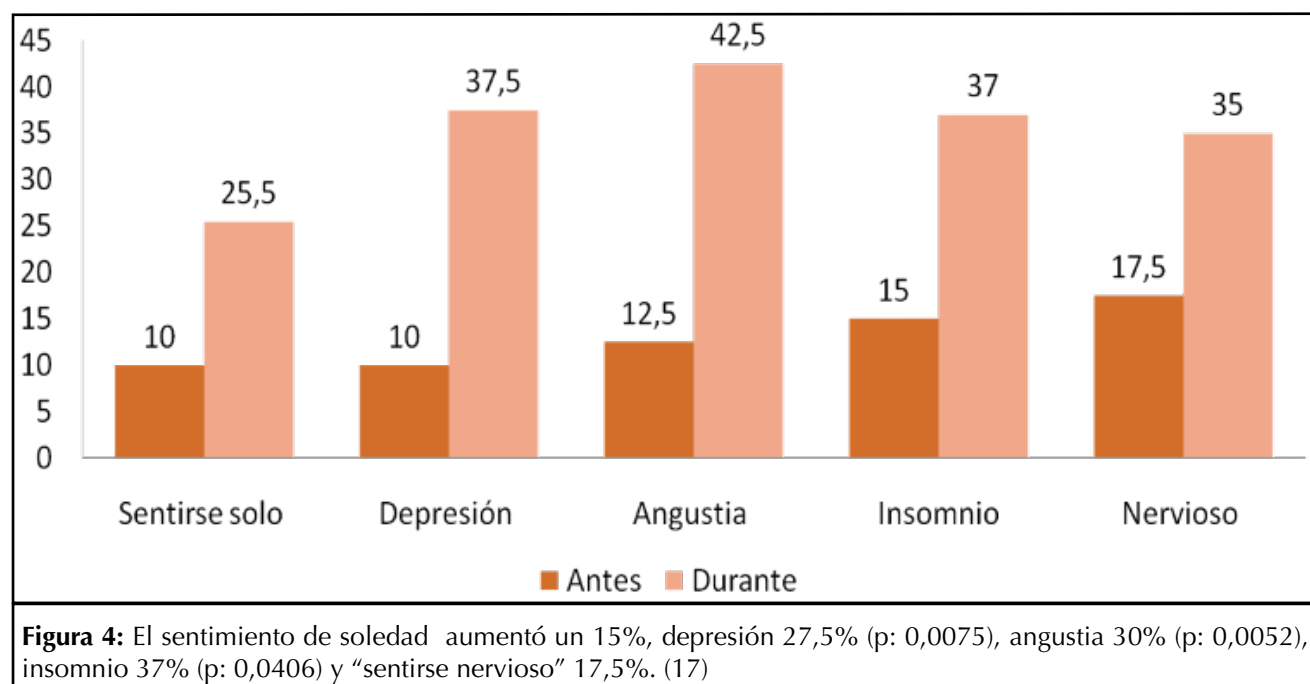
go periodo de seguimiento fueron muy importantes en la adherencia. Entendiendo que la gran mayoría convive con algún familiar, las personas se sintieron acompañados y contenidos en algunos casos estimulados por la familia para cumplir con los controles.

El hecho de que la institución donde se atienden sea pública conforma una seguridad de continuidad en el proceso de atención médica; en contraposición a la oscilación en la atención brindada por las coberturas sociales.

Otro soporte mencionado es la espiritualidad y religiosidad que proporciona un alivio al estrés y al dolor; para los creyentes que tienen una comunidad espiritual la misma representa una estructura formal de apoyo social.

### EN TIEMPOS DE PANDEMIA

Hacia mediados de marzo de 2020, se decretaba en Argentina una cuarentena como consecuencia del inicio de la pandemia de COVID19,



imponiéndose un aislamiento obligatorio como principal medida de prevención. Los trabajadores esenciales y principalmente la atención médica ambulatoria fue casi exclusiva a la atención de COVID19. En los meses posteriores al aislamiento, cuando se reinició, aunque parcialmente, la visita médica presencial y observando la alta carga emocional de los pacientes con ECh consideramos la importancia de evaluar el impacto de la pandemia en ellos (17). Más del 50% tuvo contacto con el SARS- COV 2. El confinamiento y la incertidumbre motivaron un gran estrés aumentando significativamente los estados de angustia, insomnio y depresión. La Figura 4 muestra la distribución de estas emociones en la población estudiada antes y durante la pandemia.

Uno de cada tres encuestados presentó riesgo de salud mental. Se modificaron hábitos como disminución de la actividad física y las consultas médicas, se registraron aumento de factores de riesgos como alteraciones metabólicas, aumento de glucemia, lípidos, tensión arterial, como así también deficiencia de vitamina D. Sin embargo, se incorporaron medidas de prevención como lavado de manos, uso de barbijos, etc. que ayudaron a la seguridad individual y social en la pandemia. El 75% transitó la pandemia acompañado entre 2 a 4 convivientes y más del 50% contaba con presencia de niñas, niños y adolescentes en el hogar estando la mayoría en un rango etario de 6 a 18 años.

La situación laboral afectó a 2 de cada 3 encuestados, sobre todo mujeres, quienes tuvieron problemas laborales, tales como tener que abandonar su trabajo, menor carga horaria y despidos; los trabajadores esenciales como agentes de la salud, maestranza y de la industria alimenticia, etc., tuvieron una ma-

yor carga horaria con momentos de alto estrés debido a la fuerte demanda y exposición. Según un estudio realizado por el INDEC 2020 (6) el 40% de los hogares presentaron problemas laborales desde el inicio de la pandemia de COVID-19 como despido, suspensión y disminución de ingresos laborales. La mayoría afirmó tener serias dificultades “para llegar a fin de mes” y como estrategias para mejorar los ingresos se produjo un desplazamiento hacia otra modalidad de venta ‘on line’ y de pequeños emprendimientos.

### ■ CONCLUSIONES

- La ECh es una problemática de salud pública compleja donde intervienen aspectos sociales sanitarios, ambientales, migraciones entre otros y sobre los cuales es necesario intervenir con un abordaje integral.
- Las migraciones acompañan a la humanidad desde sus orígenes, las miradas y las leyes sobre las mismas han ido cambiando, el migrante es un sujeto social incorporado al desarrollo de nuestra sociedad. Uno de los resultados más relevante de las migraciones es el Chagas Urbano. La persistencia en las próximas décadas de la ECh es principalmente por la transmisión vertical, y por bancos de sangre.
- En el cuidado de la salud, las mujeres muestran un rol más activo, coincidiendo con los roles y estereotipos de género tradicionales. La accesibilidad al diagnóstico precoz, con el impulso en el diagnóstico prenatal, es una estrategia orientada a eliminar la transmisión vertical desde 2018 por la OMS (30). Sería relevante llegar al diagnóstico precoz en los hombres. Sin embargo, señala Tajer, 2019

(37) son las propias dinámicas institucionales de salud que no responden de modo adecuado a los riesgos que enfrentan los varones.

- Como objetivo para 2030 OMS (30) destaca aumentar el diagnóstico precoz en la atención primaria, sensibilizando y capacitando al personal sanitario fortaleciendo la interacción con el sector educativo. Pastorino, 2018 (33) manifiesta la importancia de actualizar conceptos y abordajes sobre la ECh, que no arrastren prejuicios y se adapten a una urbanización de la problemática, en la preparación del futuro profesional sanitario respetando la diversidad de los afectados. También el acompañamiento de políticas de protección laboral que den respuestas a esta problemática.
- Durante mucho tiempo de la ECh sólo se hablaba en el ámbito de la familia, evidenciando su carácter estigmático. Actualmente se trabaja aunando esfuerzos públicos, gubernamentales y de ONGs para mejorar la comunicación (24). En pos de una mayor visibilidad, recientemente el Ministerio de Salud de Argentina reglamentó la Ley de Chagas 26.281/07.
- A raíz de la crisis económica y social generada por la pandemia se incrementó la vulnerabilidad de la población con ECh. La escasa red de apoyo social o familiar, sumado a las desigualdades estructurales, sustentadas en patrones de género, de clase, etarios, étnicos, nacionales, lingüísticos y la incertidumbre, confluye en una mayor vulneración de derechos y en mayores dificultades para acceder a los servicios públicos de asistencia

y prevención. Será importante fortalecer la promoción de la salud con perspectiva de género de las poblaciones más vulnerables, incluidas las poblaciones migrantes que están en muchos casos sometidas a una explotación laboral y social, lo que debería acompañarse de políticas públicas de protección. (10)

## ■ BIBLIOGRAFÍA:

1. Caballero González E., Moreno Gelis M., Sosa Cruz ME., Columbié Pérez LA. (2012) Los determinantes sociales de la salud y sus diferentes modelos explicativos. *Rev. Infodir* Nº 12 <http://www.revinfodir.sld.cu/index.php/infodir/article/view/344/389>
2. Canales C.A, Fuentes J.A, De León Escribano CR. (2019) Desarrollo y Migración: Desafíos y oportunidades en los países del norte de Centroamérica. *Cepal FAO* <https://www.cepal.org/es/publicaciones/44649-desarrollo-migracion-desafios-oportunidades-paises-norte-centroamerica>
3. Castro I. (2012) Enfermedad de Chagas, un problema complejo. *Salud Colectiva*. vol 8 (Supl 1):S23-S38
4. Chaney JM, Gamwell KL, Baraldi AN, Ramsey RR, Cushing CC, Mullins AJ, Gillaspay SR, Jarvis JN, Mullins L. (2016) Parent Perceptions of Illness Uncertainty and Child Depressive Symptoms in Juvenile Rheumatic Diseases: Examining Caregiver Demand and Parent Distress as Mediators, *Journal of Pediatric Psychology*, vol 41, Issue 9: 941–951, <https://doi.org/10.1093/jpepsy/jsw004>
5. Dahlgren G, Whitehead M. (2021) The Dahlgren-Whitehead model of health determinants: 30 years on and still chasing rainbows. *Public Health*.199:20-24. doi: 10.1016/j.puhe.2021.08.009.
6. Estudio sobre el impacto de la COVID-19 en los hogares del Gran Buenos Aires-Primer informe de resultados Agosto-octubre de 2020 Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC). [https://www.indec.gov.ar/ftp/cuadros/sociedad/EICOVID\\_primer\\_informe.pdf](https://www.indec.gov.ar/ftp/cuadros/sociedad/EICOVID_primer_informe.pdf)
7. Forsyth CJ (2017) "I Cannot Be Worried": Living with Chagas Disease in Tropical Bolivia. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 11(1): e0005251. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005251>
8. Goffman E. (1963) Estigma: la identidad deteriorada. Bs As, Amorrortu Editores.
9. Instituto Nacional de Estadística y Censos (2010) - INDEC Argentina. <https://www.indec.gov.ar/indec/web/Nivel4-Tema-2-21-99>
10. Instituto de Políticas Públicas en Derechos Humanos (2017) Derechos Humanos de personas migrantes. <https://www.ippdh.mercosur.int/wp-content/uploads/2017/06/Version-web-Manual-Derechos-humanos-de-personas-migrantes.pdf>
11. Langdon EJ, WiikFB.(2010) Antropología, salud y enfermedad: una introducción al concepto de cultura aplicado a las ciencias de la salud. *Rev. Latino-Am. Enfermagem* 18 (3): 178-185
12. Lazarus, R.S. y Folkman, S. (1984) *Stress, Appraisal and Coping*. New York: Springer Publishing Company.
13. Ley Migraciones Nº25.871(2003) <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/90000-94999/92016/texact.htm#1>
14. Ley de Prevención y Control de todas las formas de Transmisión de la Enfermedad de Chagas (2007) <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/ley-26281-131904/texto>
15. Link BG, PhelanJoC (2006) El estigma y sus implicaciones para la salud pública. *The Lancet* 367 Nº9509: 528-529 [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(06\)68184-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(06)68184-1/fulltext)
16. López SM, Hernández Vázquez Y, Prado N, Riarte A (2019) A Demographic-urban study in a cohort of patients with chronic Chagas disease in 2011- 2018 in Argentina (SAP-2019) *Medicina*. (Bs As) vol: 79 - (Suppl. IV),Pág 232.
17. López S, Hernández Vázquez Y, Fernandez M, Prado N (2022) Estudio sobre el impacto de la pandemia COVID-19 en adultos con Enfermedad de Chagas crónica. Presentado (16/3 SAP 2022) XI Congreso de la Sociedad Argentina de Protozoología
18. López SM, Rissech E, Riarte A. (2009) A nueve años de un estudio de tratamiento en adultos (TRAENA) con enfermedad de Chagas crónica: adherencia a los controles y expectativas de curación. (Trabajo presentado (5/8/2009) en: Jornadas de Salud y Población. VIII Jornadas Nacionales de Debate Interdisciplinario en Salud y Población "Instituto de Investigaciones Gino Germani" Facultad de Ciencias Sociales UBA Buenos Aires.



19. López SM, Salomón DO. (2015) "Conocimiento, Percepción y Actitud sobre la enfermedad de Chagas en un centro de referencia urbano" *Rev.de Patología Tropical*.vol.: 44 (4): 409-422.
20. Martínez Grau J. (2019) publicado: Noticia Conicet <https://www.conicet.gov.ar/la-compleja-realidad-de-las-lenguas-indigenas-en-argentina/>
21. Mc Cormick (2002) Un análisis conceptual de la incertidumbre en la enfermedad. *Journal of nursingScholarship*. vol. 24 N°2 pág. 127-131.
22. Ministerio de Salud y Acción Social, Secretaría de Salud (1983) Normas para atención médica del infectado chagásico. Buenos Aires, Argentina.
23. Ministerio de Salud de la Nación (2012) Guías para la atención al paciente infectado por *Trypanosoma cruzi* (E. de Chagas)Buenos Aires.
24. Ministerio de Salud de la Nación (2021) Lineamientos Generales para el Abordaje Comunicacional de Chagas. <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/lineamientos-generales-para-el-abordaje-comunicacional-de-chagas>
25. Mishel MH. (1988) Uncertainty in illness. *Image J NursSch*. 20(4): 225-232.
26. Mishel MH. (1983) Parents' perception of uncertainty concerning their hospitalized child. *Nurs Res*.Nov-Dec; 32(6):324-30.
27. Mishel MH. (1983) Adjusting the fit: development of uncertainty scales for specific clinical populations. *West J Nurs Res*. Fall; 5(4):355-370. doi: 10.1177/019394598300500408.
28. Organización Mundial de la salud (2009) Comisión sobre Determinantes Sociales de la Salud Informe 62ª ASAMBLEA MUNDIAL DE LA SALUD A62/9
29. Organización Panamericana de la Salud (2018) Guía para el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Chagas.
30. Organización Mundial de la Salud (OMS) [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
31. Organización Mundial de la Salud (OMS) Hoja de ruta sobre enfermedades tropicales desatendidas 2021-2030 file:///C:/Users/TI/Downloads/9789240026520-spa.pdf
32. Organización Panamericana de la Salud: Determinantes Sociales en Salud <https://www.paho.org/es/temas/determinantes-sociales-salud>
33. Pastorino IC, Huljich MM, Santmartino M. (2018) La enseñanza del Chagas en las aulas universitarias: ¿Qué imágenes circulan? *Rev. De Educación en Biología* Vol. 1 N° Extraordinario: 305-310.
34. Rissech E. (2001) Discriminación laboral de las personas enfermas: El caso de Chagas. Presentado en 5to Congreso Nacional de estudios del trabajo. BsAs<https://silo.tips/download/autor-elvira-rissech-articulo-la-discriminacion-laboral-de-las-personas-enfermas>
35. Segato R. (2007) La nación y sus otros. Ed. Prometeo Buenos Aires Pág. 30
36. Schmunis GA, Yadon ZE.(2010) Enfermedad de Chagas: un problema de salud latinoamericano convertido en un problema de salud mundial. *Rev. Acta Trop*. vol 115 Pg:14-21
37. Tajer DJ, Reid GB, Cuadra MG, Solís M, Fernández Romeral J, Saavedra LD, Lavarello ML, Fabio RP. (2019) "Varones adolescentes en la Ciudad de Buenos Aires: barreras de género en la prevención y atención de la salud" *Revista Salud Colectiva*; 15:e2256. doi: 10.18294/sc.2019.2256.
38. Vega Angarita, O.M. González Escobar, D.S (2009) Apoyo social: elemento clave en el afrontamiento de la enfermedad crónica. *Enfermería Global*, (16) Recuperado el 26 de abril de 2022, de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1695-61412009000200021&lng=es&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412009000200021&lng=es&lng=es).
39. Vidal y Benito M del C. (2012) "Psiquiatría y Psicología del Paciente con Cáncer". Edit. Polemos. Buenos Aires.
40. Viotti R, Vigliano C, Lococo B, et al. (2009) Side effects of benzimidazole as treatment in chronic Chagas disease: fears and realities, *Expert Rev Anti InfectTher*. vol. 7: 157-163.
41. Weiss MG, Ramakrishna J. (2006) Stigma interventions and research for international health. *Lancet*. 367(9509):536-8. doi: 10.1016/S0140-6736(06)68189-0.

# NUEVOS ENFOQUES TERAPÉUTICOS DE LA INFECCIÓN POR *T. CRUZI*/ ENFERMEDAD DE CHAGAS

**Palabras clave:** *Trypanosoma cruzi*, enfermedad de Chagas, tratamiento, Benznidazol, Nifurtimox, biomarcadores.

**Key words:** *Trypanosoma cruzi*, Chagas Disease, treatment, Benznidazole, Nifurtimox, biomarkers.

La enfermedad de Chagas, causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, afecta a más de seis millones de personas, principalmente en América Latina. Se trata de una infección crónica que eventualmente puede producir daños en el corazón, sistema digestivo, y/o sistema nervioso en 30-40% de los infectados. Los únicos fármacos eficaces contra *T. cruzi*, Benznidazol y Nifurtimox, fueron desarrollados hace más de 50 años y tienen serias limitaciones, incluyendo una incidencia alta de efectos adversos. Además, existen brechas en la capacidad de poder medir respuesta terapéutica en pacientes en la fase crónica. No obstante, varios estudios sugieren que el tratamiento etiológico oportuno tiene importantes ventajas que incluyen la producción de cura serológica en la gran mayoría de bebés, niños, y casos agudos; la prevención del desarrollo de complicaciones en casos crónicos; y la prevención de transmisión vertical en mujeres tratadas. A pesar de esto, menos de 1% de los afectados han recibido tratamiento etiológico para esta enfermedad desatendida, y de los que inician el tratamiento, alrededor de 20% tienen que abandonarlo debido a los efectos adversos. La búsqueda de nuevos fármacos se ha concentrado en dos vías principales: 1) identificar nuevos compuestos con mayor/igual eficacia a los existentes, y un mejor perfil de seguridad, y 2) mejorar la tolerancia de los tratamientos actuales a través de una reducción en dosis y/o duración, manteniendo una eficacia aceptable, como monoterapia o en combinación con otros compuestos. Varios estudios clínicos, recientemente completados o en curso, han explorado esta importante cuestión.

**Maria-Jesus Pinazo\*, Colin Forsyth, Tayná Marques, Fabiana Barreira, Sergio Sosa-Estani**

Programa Chagas. Drugs for Neglected Diseases initiative

\*E-mail: mpinazo@dndi.org

Chagas disease, caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi*, affects more than six million people, principally in Latin America. It is a chronic infection that can eventually produce damage to the heart, gastrointestinal system, and/or nervous system in 30-40% of those with the infection. The only effective drugs against *T. cruzi*, benznidazole and nifurtimox, were developed over 50 years ago and have serious limitations, including a high incidence of adverse effects. Moreover, there are gaps in our ability to measure therapeutic response in patients in the chronic phase of the disease. Nonetheless, various studies suggest that timely etiologic treatment has key advantages, including the production of serological cure in infants, children, and acute cases; prevention of the development of complications in chronic cases; and the prevention of vertical transmission in treated women. Despite this, less than 1% of those affected have received etiologic treatment for this neglected disease, and of those who initiate treatment, around 20% are obliged to discontinue due to adverse effects. The search for new drugs has concentrated on two principal routes: 1) identifying new compounds with equal or superior efficacy to the current drugs, and with improved safety, and 2) improving the tolerance of current treatments while maintaining an acceptable efficacy, through reducing the dose and/or duration, either as monotherapy or in combination with other compounds. Various clinical studies, either ongoing or recently completed, will help address this important question.

La enfermedad de Chagas, causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, es una enfermedad tropical desatendida endémica de América Latina, que afecta actualmente a más de seis millones de personas. (WHO, 2010) Se trata de una enfermedad zoonótica, en la que el pará-

sito circula entre los vectores y los reservorios de mamíferos silvestres y domésticos, así como en humanos. (Tarleton et al, 2007; Zingales et al, 2018). Adicionalmente, y debido a los movimientos migratorios, actualmente es emergente en países en los cuáles no se diagnosticaba previa-

mente, por lo que estamos asistiendo a la globalización de la enfermedad de Chagas (Gascon et al, 2010).

En cuanto a las vías de transmisión, la más relevante en el caso del ser humano sigue siendo la vía vectorial, a través de insectos tria-

tomos hematófagos, en áreas endémicas para la infección/ enfermedad, en la que habitan. El parásito se transmite a través de las heces contaminadas de estos insectos, que atraviesan piel y mucosas cuando son depositadas en zonas próximas al punto de la picadura, o a través de la contaminación de alimentos en contacto con estos insectos o pequeños roedores con capacidad de albergar el parásito en su forma infectiva en sus glándulas perianales (transmisión vía oral). (Aларcon de Noya et al, 2015; Kirchoff et al, 2011)

El resto de vías de transmisión en humanos son posibles tanto en áreas endémicas como no endémicas, ya que no se requiere la presencia del triatmino. Entre ellas, la más relevante en cuanto al número de nuevas infecciones adquiridas es la transmisión madre-hijo, seguida por la vía transfusional (infección a través de la transfusión de sangre o hemoderivados), trasplante de órganos infectados por el parásito, o a través de accidentes de laboratorio. (Kirchoff et al, 2011) Las vías de entrada del parásito pueden influir en la respuesta inmunitaria del huésped, el periodo de incubación y la dinámica en la interacción entre el parásito y el huésped. (Barreto de Albuquerque et al, 2018)

Tras un periodo de incubación que dura de 1 a 2 semanas, tiene lugar la fase aguda de la infección, caracterizada por la abundancia de parásitos presentes en el torrente sanguíneo. (Bern, 2015; Prata, 2001) Se estima que esta fase es sintomática solo en un 10% de los casos, asociándose a síntomas inespecíficos en la mayoría de los casos leves, como fiebre, dolor de cabeza, linfadenopatías, mialgias, o distensión y dolor abdominal. En casos excepcionales la infección puede producir casos de meningoencefalitis

y/o miocarditis aguda. (Prata, 2001)

Sin diagnóstico ni tratamiento oportuno durante la fase aguda, los pacientes pasan a una fase crónica en la que, habitualmente tras un largo periodo asintomático (en ocasiones de más de una década), pueden desarrollar síntomas cardíacos o menos frecuentemente, síntomas digestivos (Coura et al, 2010). Durante la fase crónica solo algunas personas con la infección desarrollarán afectación orgánica, por lo tanto, enfermedad, lo que se estima que ocurre entre un 30 y un 40% de los casos. (Prata, 2001) Aquellas personas en las que a lo largo de su vida no se detecta afectación orgánica, se clasifican dentro del estadio crónico asintomático o indeterminado de infección (Prata, 2001).

La patología durante la fase crónica se asocia a la persistencia de los parásitos en los tejidos que invade, fundamentalmente los cardíacos o digestivos, donde se producen los típicos megasíndromes. En la forma cardíaca crónica se produce una afectación tanto del sistema de conducción cardíaco como del miocardio. Por un lado pueden observarse alteraciones en el ritmo cardíaco, que se traducen en arritmias y se manifiestan clínicamente con palpitaciones, mareos y síncope, entre otras manifestaciones; y miocardiopatía dilatada, inicialmente de distribución parcheada, que puede traducirse en insuficiencia cardíaca, que es generalmente progresiva, a la que se asocia disnea o falta de aire en relación al ejercicio físico (o incluso al reposo en una etapa más avanzada), ortopnea, disnea paroxística nocturna, edemas y otros síntomas asociados a la insuficiencia cardíaca. En los pacientes con afectación del miocardio se pueden producir aneurismas, de localización predominante inferolateral y basal, a consecuencia de los cuáles

se pueden observar complicaciones tromboembólicas (Rassi A Jr et al, 2010).

En la forma crónica digestiva de la enfermedad de Chagas, con similar base fisiopatológica que la afectación cardíaca (afectación del sistema nervioso que regula las funciones digestivas y del musculo liso del aparato digestivo), se producen alteraciones de la motilidad, la secreción y la absorción en el tracto digestivo, especialmente en el esófago y el colon (Koeberle et al, 1955; Prata 2001; Rassi A Jr et al, 2010 ).

El diagnóstico de laboratorio de la infección por *T. cruzi* dependerá del estadio de la enfermedad en el que se encuentre el paciente. En la fase aguda, los métodos diagnósticos se basan en la detección del parásito circulante, ya sea a través de métodos parasitológicos o moleculares, dada la gran cantidad de parásitos observables en sangre periférica en esta fase. Durante la fase crónica, los métodos de elección para el diagnóstico de la infección serán los serológicos, a través de la detección de anticuerpos circulantes frente al parásito de tipo IgG (Balouz et al, 2017; Schijman et al, 2018).

Las variaciones en la presentación clínica y la respuesta inmunológica frente a la infección por *T. cruzi* son desconocidas, pero una de las causas en la base de esta diferente presentación puede radicar en el polimorfismo genético de *T. cruzi* y de las moléculas de adhesión celular del huésped y de la respuesta inmunitaria inflamatoria. (Cura et al, 2013) Este hecho es de gran importancia en el tema que vamos a desarrollar en el presente artículo, ya que la respuesta terapéutica de *T. cruzi* a los agentes antimicrobianos que se proponen para su tratamiento podría presentar diferencias debido estos factores (polimorfismo parasitario y

diferencias en la interacción entre el parásito y el huésped debido al mismo).

El tratamiento etiológico de la enfermedad de Chagas no ha cambiado desde que en los años 70 se probaran como efectivos frente a *T. cruzi* los dos fármacos que se utilizan en la actualidad, Nifurtimox y Benznidazol. Durante el presente artículo desarrollaremos por un lado, cuál es el conocimiento acerca de la eficacia y seguridad de las actuales opciones terapéuticas, y cuáles son las alternativas que se han propuesto en los últimos años para mejorar las mismas.

### ■ 1.- TRATAMIENTO ETIOLÓGICO DE LA INFECCIÓN POR *T. CRUZI* ENFERMEDAD DE CHAGAS

En la actualidad, existen solo dos fármacos aceptados para el tratamiento etiológico de la infección por *T. cruzi*, Benznidazol y Nifurtimox, ambos compuestos nitroheterocíclicos desarrollados hace más de 50 años. Existen, décadas después de la descripción de su eficacia en la infección por *T. cruzi*, importantes limitaciones en su uso. (Coura et al, 2002)

La primera de las limitaciones al tratamiento de la infección por *T. cruzi* se dio, no debida a la eficacia o disponibilidad de los fármacos en sí, sino al hecho de que en el pasado siglo se consideraba que la base fisiopatológica de la infección radicaba en una respuesta autoinmune desencadenada en el huésped. Por lo tanto, y en base a la anterior hipótesis, la persistencia de parásito en el organismo humano no debería desempeñar un papel fundamental en la patogénesis de la enfermedad. (Machado et al, 2012) Es a causa de esta antigua hipótesis que por décadas no se consideró necesario admi-

nistrar tratamiento antiparasitario en la fase crónica de la infección, y por tanto, como segundo efecto de esta consideración, el desarrollo de nuevas opciones terapéuticas antiparasitarias frente a *T. cruzi* ha estado detenido durante un largo periodo de tiempo.

No obstante, y en base a una serie de estudios publicados desde principio de este siglo, cien años después de la descripción de la infección por *T. cruzi*, se ha demostrado que la presencia del parásito de forma crónica en el organismo juega un rol fundamental en el desarrollo de la enfermedad. La presencia del parásito, ligada a una respuesta inmunitaria desequilibrada en algunos individuos que puede incluir reacciones autoinmunes, es una condición suficiente para el desarrollo de una respuesta inflamatoria sostenida que subyacen a las lesiones características de la enfermedad de Chagas crónica. (Bandariz et al, 1996; Tarleton et al, 2001) Por lo tanto, si no existe contraindicación al mismo, se debe de realizar tratamiento etiológico tanto en la fase aguda como crónica de la infección, (Machado, Tyler et al, 2012; Viotti et al, 2014) con el fin de erradicar la presencia del parásito del organismo humano, y con ello evitar la afectación orgánica asociada a la persistencia de la misma.

Una vez adoptada la idea de que la infección por *T. cruzi* se ha de tratar con agentes antiparasitarios, esta se ha visto reforzada por los resultados de algunas observaciones clínicas en las que se evidencia la falta de progresión clínica de aquellos individuos en los que se completa un régimen de tratamiento en la fase crónica de la infección. (Viotti et al, 2007; Fragata-Filho et al, 2016; Cardoso et al, 2018) Esto ocurre aún sin poder demostrarse la eliminación completa del parásito dado que la

seronegativización, que es el parámetro aceptado para la confirmación de la respuesta al tratamiento actualmente, se observa en los casos crónicos entorno a una década tras la finalización del régimen terapéutico, e incluso se ha reportado en algunas series después de más de 20 años de seguimiento. (Viotti et al 2006)

Benznidazol y Nifurtimox son altamente efectivos en casos de infección congénita, infección aguda en adultos y en edad pediátrica, así como en agudizaciones de la fase crónica de la enfermedad, que ocurren en situaciones de inmunosupresión. (Cançado 2002; Bern et al, 2007)

En estos grupos de pacientes, la eficacia del tratamiento se estima que es superior al 95% en casos de infección congénita y entorno al 60-80% en infecciones agudas en edad adulta y en casos de Chagas crónico reciente infantil. (Sosa-Estani et al, 1998; Bern et al, 2007; Alonso-Vega et al, 2013) La medida de la respuesta terapéutica en estos grupos se realiza a través de la negativización de todas las pruebas parasitológicas y serológicas convencionales. (Moscatelli et al, 2019)

Existe sin embargo una importante limitación en el uso de estos fármacos en la fase crónica. En base a ensayos clínicos previos al siglo XXI, se estimaba que la eficacia de los mismos en los casos de infección crónica era limitada. (Britto et al, 2001; Fernandes et al, 2009; Anez et al, 1999) Como indicado en este mismo texto, una de las causas de la variabilidad de la eficacia de estos tratamientos podría radicar en el hecho de que existen diferentes cepas de *T. cruzi* en base a, hasta el momento, siete unidades discretas de tipificación (DTUs), con respuesta variable frente a Benznidazol y

Nifurtimox. (Filardi et al, 1987) Asimismo, los siete DTUs están geográficamente distribuidos por diferentes países del continente americano, con lo cual, y dada la falta de conocimiento de la interacción entre el parásito y el huésped, y los mecanismos fisiopatológicos que ocurren al darse esta interacción podrían ser diferentes en cada uno de los casos, teniendo en cuenta que las personas en las que se produce esta infección a lo largo del territorio son también fenotípica y genotípicamente diferentes. La susceptibilidad de *T. cruzi* a los actuales fármacos antiparasitarios en cada una de estas circunstancias es, por lo tanto, también diferente.

Adicionalmente, ambos fármacos tienen efectos secundarios adversos que pueden llevar a la interrupción del tratamiento en el 10-25% de los pacientes (Pinazo et al, 2013; Molina et al, 2014; Morillo et al, 2015 y 2017; Torrico et al, 2018 y 2021) y están relacionados con su mecanismo de acción y con el metabolismo de ambos compuestos.

Por todo lo anterior, y dada por un lado, la escasa información disponible sobre la eficacia a largo plazo de los fármacos disponibles en la actualidad para el tratamiento de la infección crónica; y por el otro lado, la dificultad en el manejo de los mismos por parte del personal sanitario debido a la presencia de efectos adversos secundarios, en la actualidad **menos del 1% de las personas con infección por *T. cruzi* a nivel global han recibido tratamiento etiológico.** (Ribeiro et al, 2009; Costa-Chaves et al, 2017)

Es de especial importancia el hecho demostrado en los últimos años en relación a la eficacia del tratamiento etiológico en el contexto del control de la transmisión vertical. El tratamiento de mujeres seropositivas

para *T. cruzi* en edad fértil con Benznidazol (previo al embarazo), ha demostrado ser altamente efectivo en prevenir la transmisión de la infección de la madre al hijo o hija durante el embarazo. (Sosa-Estani et al, 2009; Fabbro et al, 2014; Moscatelli et al, 2015; Murcia et al, 2017; Álvarez et al, 2017)

Por todo lo anterior, existe evidencia suficiente para recomendar la indicación del tratamiento antiparasitario en la fase crónica de la infección por *T. cruzi*, en base a los beneficios clínicos de los mismos a nivel individual y como medida de salud pública. Sin embargo, existen datos incompletos y pocos datos a largo plazo que confirmen su capacidad de inducir una cura estéril. (Urbina et al, 2015)

Desde el inicio del presente siglo, y en pro de buscar nuevas opciones terapéuticas y herramientas para evaluar de forma precoz y eficaz las respuestas a las mismas, se han desarrollado una serie de ensayos clínicos que arrojan un poco más de luz sobre la eficacia del tratamiento antiparasitario frente a la infección crónica por *T. cruzi* que pasamos a describir en la siguiente sección.

## ■ 2.- NUEVAS ESTRATÉGIAS PARA EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR *T. CRUZI*

La búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas para la infección por *T. cruzi* se basa en la hasta hace pocos años incierta eficacia de Benznidazol y Nifurtimox, sumado al bajo perfil de seguridad de ambos, asociándose a los mismos a una elevada incidencia de efectos adversos (Jackson et al, 2010 and 2020; Alcheh et al, 2011; Pinazo et al, 2013; Forsyth et al, 2016) y a la posibilidad de generación de resistencias al tratamiento, lo cual ha sido pobremente estudiado.

La adaptación de los fármacos ya utilizados en la práctica clínica a nuevos regímenes sería la estrategia más rápida y segura para tratar a los pacientes con infección por *T. cruzi*. Varios han sido los ejercicios realizados hasta el momento en la búsqueda de nuevos abordajes terapéuticos para esta enfermedad, y en la actualidad se están explorando algunas posibilidades innovadoras, que pasamos a describir a continuación.

### 2.1.- NUEVOS USOS DE FÁRMACOS CONOCIDOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN CRÓNICA POR *T. CRUZI*

#### 2.1.1.- EFICACIA DE BENZNIDAZOL Y PROPUESTA DE NUEVOS REGÍMENES PARA LA MEJORA DE SU USO.

Tal y como se describe en las guías nacionales e internacionales, la dosis recomendada de Benznidazol es de 5 mg/kg/ día por 60 días, en dos o tres dosis al día. (WHO, 2015)

Hasta el momento, varios han sido los ensayos clínicos en los cuales se ha evaluado el uso de Benznidazol con el régimen recomendado, y con regímenes diferentes de lo establecido. A continuación, pasamos a repasar cuáles han sido los estudios diseñados a este respecto, cuáles son los principales resultados obtenidos de ellos, y cuáles son los retos que quedan pendientes por resolver en futuros estudios.

#### 2.1.1.1.- ENSAYOS CLÍNICOS QUE EVALÚAN LA EFICACIA DE BENZNIDAZOL

En la última década, se han diseñado varios ensayos clínicos que han evaluado la eficacia de Benznidazol en la fase crónica de la enfermedad.

Por un lado los estudios BENEFIT (Marin-Neto et al, 2008; Morillo et al, 2015) y TRAENA a través de los que se evaluó la respuesta parasitológica y clínica a los regímenes estándar de Benznidazol, ambos con diseños en pacientes en fase crónica sintomática (BENEFIT y TRAENA) y asintomática (TRAENA), y con periodos de seguimiento prolongado.

Adicionalmente a estos estudios, se incluyó la evaluación de Benznidazol como estándar de tratamiento en ensayos clínicos que evaluaron a) el uso de Posaconazol, un agente antimicótico con efecto antiparasitario *in vitro*, a través de los estudios CHAGASAZOL (Molina et al, 2014) y STOP-CHAGAS (Morillo et al, 2017); y b) el uso de nuevas entidades químicas con poder tripanocida.

**BENEFIT (BENZnidazole Evaluation For Interrupting Trypanosomiasis)** (Marin-Neto et al, 2008; Morillo et al, 2015) fue el primer ensayo clínico de fase III aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo sobre los efectos del Benznidazol a dosis estándar de 300 mg/día, 40-80 días, según el peso sobre un criterio de valoración clínico y parasitológico, en comparación con placebo. El período de seguimiento fue de 4 a 8 años (media: 6 años), de los 2850 pacientes que fueron reclutados en Brasil, Argentina, Bolivia, Colombia y El Salvador. El sesenta por ciento de los pacientes aleatorizados originalmente tenían una PCR basal positiva. La conclusión principal de los autores fue que el tratamiento tripanocida con Benznidazol en pacientes con cardiomiopatía chagásica establecida redujo significativamente la detección sérica del parásito, pero no redujo significativamente el deterioro clínico cardíaco durante 5 años de seguimiento.

Del estudio BENEFIT se obtuvieron una serie de resultados y obser-

vaciones interesantes. En relación con la eficacia, esta disminuyó con el tiempo, medida la misma a través de PCR. En análisis posteriores de la evolución clínica de los pacientes estratificados por país, fueron reveladas diferencias regionales significativas en la eficacia del tratamiento con Benznidazol. (Rassi et al, 2017) La tasa de interrupción del fármaco debido a un acontecimiento adverso fue significativamente mayor en el grupo de Benznidazol que en el de placebo (23,9% frente a 9,5%,  $P < 0,001$ ). Sin embargo, el análisis de la evolución clínica de los pacientes estratificado por la eficacia parasitológica sostenida del tratamiento con Benznidazol no se llevó a cabo ya que la carga parasitaria circulante en los pacientes tratados no se midió en todos los puntos del intervalo de seguimiento. No obstante, es relevante señalar que un porcentaje importante de los pacientes reclutados presentaban cardiopatía chagásica crónica avanzada. (Rassi et al, 2017)

**TRAENA** fue un ensayo aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo sobre los efectos del Benznidazol (5 mg/kg d, 60 días) sobre la serología convencional (c-ELISA) y no convencional (ELISA F29), la carga de *T. cruzi* en sangre (qPCR) y la evolución clínica de pacientes adultos con enfermedad de Chagas crónica con o sin compromiso cardíaco. Ingresaron en el estudio 763 pacientes (552 completaron el tratamiento, 272 con Benznidazol y 280 con placebo), con un periodo medio de seguimiento de 7 años. Los resultados preliminares del estudio se presentaron en reuniones internacionales, pero no existe hasta el momento una publicación científica con el análisis de los resultados completos del estudio. La principal conclusión comunicada por las autoras fue que el efecto parasiticida observado por serología y qPCR no se asoció con

diferencias en los eventos clínicos. No obstante, y a la espera de los definitivos de TRAENA, los resultados de los eventos parasitológicos reportados cubren un seguimiento de 12-14 meses después de la finalización del tratamiento, en comparación con un seguimiento medio de 7 años, y no permiten concluir que la fuerte supresión inicial de la carga parasitaria fuera mantenida durante el tiempo de seguimiento. En los pacientes de la cohorte, se comunicó la presencia de al menos un efecto adverso en el 77% de los casos, y de ellos, el 22% abandonaron el tratamiento por intolerancia al fármaco.

**CHAGASAZOL y STOP-CHAGAS (STudy of Oral Posaconazole in the Treatment of Asymptomatic Chronic CHAGAS Disease)** son ensayos clínicos que incluyen la prueba de un nuevo fármaco para el tratamiento de la infección por *T. cruzi*. Posaconazol es un inhibidor de la biosíntesis del ergosterol, y se propuso como agente potencial para el tratamiento etiológico de la infección crónica por *T. cruzi*, comparando el mismo con Benznidazol. Hasta el momento, la principal indicación ha sido la prevención y el tratamiento de las infecciones fúngicas invasivas. Estudios clínicos recientes han evaluado la seguridad y la eficacia parasitológica de estos compuestos, con tiempos de seguimiento relativamente cortos en relación con la lenta progresión de la enfermedad.

CHAGASAZOL (Molina et al, 2014) fue un ensayo clínico aleatorizado, en el que 78 pacientes recibieron el tratamiento asignado a alguna de las tres ramas de las que constaba: Benznidazol oral a una dosis de 150 mg dos veces al día, posaconazol oral a una dosis de 100 mg dos veces al día, o posaconazol oral a una dosis de 400 mg dos veces al día durante 60 días;

en pacientes en fase crónica indeterminada o crónica cardiológica no complicada. El principal resultado del estudio indicó que en pacientes con enfermedad de Chagas crónica el tratamiento con dosis bajas o altas de posaconazol dio lugar a un porcentaje significativamente mayor de fallos terapéuticos que el tratamiento con Benznidazol a dosis estándar. Otros resultados importantes de este estudio indicaron que, el 19.2% de los pacientes en la rama de Benznidazol no pudieron completar el estudio debido a la aparición de efectos adversos (lo que no ocurrió en las ramas de posaconazol).

El estudio STOP- CHAGAS (Morrillo et al, 2017) fue un estudio prospectivo, multicéntrico, aleatorizado y controlado con placebo realizado en 120 sujetos de América Latina y España en el que fueron aleatorizados a cuatro grupos: posaconazol 400 mg b.i.d.; Benznidazol 200 mg + placebo b.i.d.; Benznidazol 200 mg b.i.d. + posaconazol 400 mg b.i.d.; o placebo 10 mg b.i.d. La evaluación de eficacia se estableció en las evaluaciones a los 6 meses y a los 12 meses después del final del tratamiento en pacientes con resultados negativos de PCR en tiempo real (RT-PCR). Los resultados del estudio dieron como principales conclusiones que posaconazol demostró actividad tripanostática durante el tratamiento, pero se mostró ineficaz a largo plazo en los pacientes con infección crónica asintomática por *T. cruzi*, y que la monoterapia con Benznidazol es superior al tratamiento con posaconazol, con altas tasas de conversión de RT-PCR al final del seguimiento de los pacientes (12 meses). No se demostró que la terapia combinada fuera más eficaz que la monoterapia con Benznidazol. Como se ha ido observando en los estudios anteriores, la interrupción permanente del tratamiento se observó en un % elevado (31.7%)

en pacientes que recibieron Benznidazol en monoterapia o combinado con posaconazol.

#### 2.1.1.2.- ENSAYOS CLÍNICOS QUE EVALÚAN NUEVOS REGÍMENES DE BENZNIDAZOL.

En la actualidad, están en marcha diferentes ensayos clínicos que evalúan diferentes dosis y tiempos de administración de Benznidazol.

Recientes publicaciones de los resultados de modelos de farmacocinética poblacional (Bustamante et al, 2014) informan que, con los regímenes actuales, se consiguen concentraciones serológicas superiores al rango de eficacia descrito para Benznidazol. Por otro lado, se ha observado que la reducción de dosificación diaria en modelos murinos tanto de Benznidazol como de Nifurtimox tiene una eficacia parasitológica similar a la observada en los regímenes estándar. (Bustamante et al, 2014) Por otro lado, y pese a tratarse de un estudio no randomizado, Álvarez et al observaron que en el 20% de los pacientes que no completaban el tratamiento con Benznidazol pero que realizaban un régimen de al menos 10 días, se pudo confirmar la respuesta al tratamiento a través de la negativización de la serología. (Álvarez et al, 2013)

En base a todo lo expuesto, y a los resultados del ensayo clínico BENDITA, que detallamos en la siguiente sección, y pese a ser hipótesis de momento no confirmadas, que se han diseñado una serie de estudios que evalúan diferentes regímenes de Benznidazol y/o Nifurtimox, con dosis menores y en tiempos más cortos y más largos de administración, con la finalidad de mejorar la eficacia y/o la seguridad de los regímenes actualmente considerados como estándar de tratamiento. Brevemente describimos cada uno de ellos, a la

espera del análisis de los resultados de los mismos en la Tabla 1.

Adicionalmente, resultados de un estudio observacional recientemente publicado, indica que un esquema de tratamiento intermitente con Benznidazol a las dosis diarias recomendadas administrado cada cinco días durante un total de 60 días tiene la misma eficacia antiparasitaria al final del tratamiento que el esquema estándar, con una reducción importante de los eventos adversos relacionados con Benznidazol. (Álvarez et al, 2016)

## 2.2.- IDENTIFICACIÓN DE NUEVAS ENTIDADES QUÍMICAS PARA EL DESARROLLO CLÍNICO

### 2.2.1.- RAVUCONAZOL Y FOSRAVUCONAZOL

Al igual que posaconazol, ravuconazol y su profármaco, fosravuconazol son inhibidores potentes de la síntesis del ergosterol, que fueron propuestos para desarrollo clínico tras haber demostrado capacidad esterilizante frente a *T. cruzi* en ensayos *in vitro* y modelos murinos.

Se han desarrollado dos estudios en los últimos años a través de los que se ha probado la eficacia de estos fármacos en comparación con Benznidazol: son los estudio E1224 (Torricco et al, 2018) y BENDITA. (Torricco et al, 2021)

**E1224** fue una prueba de concepto, doble ciego y aleatorizado de fase 2, patrocinado por la Iniciativa Medicamentos para enfermedades olvidadas (DNDi por sus siglas en inglés), para investigar la seguridad y la eficacia de tres regímenes orales de E1224 (fosravuconazol, un profármaco hidrosoluble de ravuconazol) y Benznidazol frente a placebo en pacientes con infección crónica por *T. cruzi* sin afectación orgánica.

**Tabla 1.** Estudios actuales que evalúan nuevos regímenes de Benznidazol y/o Nifurtimox.

Ensayo clínico	Ramas experimentales	Diseño	Lugar	Periodo de seguimiento	Población de estudio	Estado actual
<b>BETTY</b> <i>ClinicalTrials.gov Identifier: NCT0367248</i>	BZN 150 mg/día por 30 días	Fase III, no inferioridad	Argentina	10 meses	Mujeres post-parto con infección crónica por <i>T. cruzi</i>	Activo
<b>EQUITY</b> <i>ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02369978</i>	BZN 150 mg/día por 120 días NFX 240 mg/día por 120 días	Fase III, no inferioridad	Colombia, Argentina	12-18 meses	Adultos con infección crónica por <i>T. cruzi</i>	Concluido, en análisis
<b>MULTIBENZ</b> <i>ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03191162</i>	BZN 400 mg/día por 15 días BZN 150 mg/día por 60 días	Fase II, no inferioridad	Argentina, Brasil, Colombia, España	12 meses	Adultos con infección crónica por <i>T. cruzi</i>	Concluido, en análisis
<b>TESEO</b> <i>ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03981523</i>	BZN 150 mg/día por 30 días BZN 300 mg/día por 60 días BZN 150 mg/día por 90 días NFX 240 mg/día por 30 días NFX 4800 mg/día por 30 días NFX 240 mg/día por 90 días	Fase II, no inferioridad	Bolivia	36 meses	Adultos con infección crónica por <i>T. cruzi</i>	Activo
<b>NUESTROBEN</b> <i>ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04897516</i>	BZN 300 mg/día por 2 sem	Fase III, no inferioridad	Argentina	12 meses	Adultos con infección crónica por <i>T. cruzi</i>	Activo

BZN: benznidazol; NFX: nifurtimox.

De los 230 pacientes reclutados, entre 46-48 se incluyeron en cada uno de los cinco grupos de tratamiento de estudio, evaluándose en el mismo la eliminación sostenida del parásito hasta los 12 meses de seguimiento post-tratamiento.

Los resultados clave fueron de un lado, la eliminación del parásito con todos los tratamientos con E1224 durante la fase de tratamiento, pero una vez más, la falta de respuesta mantenida en los regímenes de dosis bajas y cortas, siendo la respuesta

en el grupo con dosis altas de E1224 mantenida hasta los 12 meses en un 29% de los pacientes de la rama. Una vez más, Benznidazol tuvo un efecto rápido y sostenido sobre los parásitos en un 82% de pacientes superior al observado en cualquiera de los regímenes de E1224. Dada la ausencia de una respuesta sostenida a E1224 a dosis altas a los 12 meses en la mayor parte de los pacientes, y la posible necesidad de tratamientos prolongados, según el modelaje de farmacocinética y farmacodinámica (PK/PD) que hicieron en base a los

resultados de este estudio, se descartó seguir investigando el fármaco como monoterapia.

El estudio E1224 evidenció que la exposición sistémica al ravuconazol era superior con la administración del profármaco, permitiendo dada su biodisponibilidad mantenida en sangre periférica, una dosificación de una vez/ semana.

Con todo lo anterior, y dado su óptimo perfil de seguridad, sí que se hipotetizó que E1224 podría ser un



fármaco de elección para ser usado en combinación con los fármacos existentes, Benznidazol o Nifurtimox, dado que los estudios en modelos animales demostraron que la terapia combinada tiene potencial de mejorar la respuesta terapéutica y acortar su duración.

A raíz de estos resultados, y con las premisas anteriores como hipótesis, DNDi patrocinó un nuevo estudio, el ensayo **BENDITA (Benznidazol Nuevas Dosis Mejor Tratamiento y Asociaciones)**, para investigar la seguridad y eficacia de las combinaciones de fosravuconazol y Benznidazol en tratamientos más cortos. El estudio incorporó seis grupos experimentales: 1. El tratamiento estándar de 8 semanas, con una dosis diaria de 300 mg/día de Benznidazol en monoterapia; 2. Un tratamiento de 4 semanas con una dosis diaria de 300 mg/día de Benznidazol en monoterapia; 3. Un tratamiento de 2 semanas con una dosis diaria de 300 mg/día de Benznidazol en monoterapia; 4. Un tratamiento de 4 semanas con una dosis diaria inferior de 150 mg/día de Benznidazol en monoterapia; 5. Un tratamiento de 4 semanas con una dosis diaria menor de 150 mg/día de Benznidazol, en combinación con 300 mg/semana de fosravuconazol; 6. Un tratamiento de 8 semanas, con una dosis semanal inferior de 300 mg de benznidazol, en combinación con 300 mg/semana de fosravuconazol

La eficacia se midió mediante la respuesta parasitológica sostenida a los 6 meses evaluada por qPCR, con una evaluación final a los 12 meses de finalizado el tratamiento. Los resultados de este estudio mostraron que  $\geq 80\%$  de los pacientes de todos los grupos de tratamiento respondieron al tratamiento (es decir, no tenían ningún parásito detectable en los análisis de sangre tras completar el tratamiento o durante el segui-

miento hasta los 6 o 12 meses después del final del tratamiento), en comparación con el 3,3% del grupo de placebo. Los efectos secundarios relacionados con el tratamiento que provocaron su interrupción disminuyeron notablemente en los grupos de tratamiento con dosis más cortas/bajas, pasando del 20% en el tratamiento estándar a menos del 10% entre los pacientes de los grupos con regímenes cortos.

Sin embargo, y dada la limitación del tamaño de muestra de cada una de las ramas del estudio, la hipótesis que se extrae de los resultados de este estudio ha de ser confirmada con estudios específicamente diseñados para evaluar la eficacia y la seguridad de estos regímenes más cortos, y comparar la eficacia los mismo con el estándar de tratamiento actual.

### 2.2.2.- FEXINIDAZOL

Fexinidazol es un compuesto nitroimidazólico que fue descrito por Hoeschst en los 80 como agente antimicrobiano de amplio espectro. Fue redescubierto por DNDi como potente y selectivo agente tripanocida frente a *T. brucei*, demostrando eficacia tanto en modelos murinos (Torreele et al, 2010), como en casos de tripanosomiasis humana africana. (Kande Betu Ku Mesu et al, 2021) El fármaco y sus dos principales metabolitos (sulfóxido y sulfona) también son activos frente a *T. cruzi* en modelos *in vitro* y animales, siendo bien tolerados y más eficaces que el Benznidazol y el posaconazol, incluso contra las cepas resistentes a los medicamentos. (Bahia et al, 2012 and 2014)

Fexinidazol fue testado en un ensayo clínico Fase II que se llevó a cabo en Bolivia, patrocinado por la DNDi para investigar la seguridad y la eficacia del fármaco en 140 pa-

cientes adultos con infección crónica por *T. cruzi* sin afectación de órgano. Este estudio tuvo que ser interrumpido por problemas de seguridad del fármaco a las dosis y tiempos prescritos. Sin embargo, y tal y como se comunicó tras el análisis preliminar de resultados, la eficacia del mismo fue muy elevada por lo que se propuso un nuevo ensayo clínico fase II con dosis y tiempos menores que se ha llevado a cabo en cinco centros en área no endémica (España), finalizado en 2019, y cuyos resultados están actualmente siendo analizados para su publicación. (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03587766)

### ■ 3.- RETOS EN EL AVANCE DE NUEVAS ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS

Los resultados de los recientes ensayos clínicos sobre la eficacia parasitológica del tratamiento etiológico en pacientes con enfermedad de Chagas crónica dan una dirección de hacia dónde deben de ir los esfuerzos en investigación durante los próximos años, con la finalidad de contar en el menor tiempo posible con regímenes de tratamiento seguros y eficaces para los pacientes con infección crónica por *T. cruzi*.

Sin embargo, y dado el limitado número de compuestos activos, es necesario seguir buscando nuevas moléculas potencialmente activas frente a *T. cruzi* que puedan ser incluidas en ensayos clínicos a través de los cuáles se pueda demostrar su seguridad y eficacia. Actualmente existen dos moléculas identificadas en la DNDi junto con otras entidades colaboradoras que en los próximos meses entrarán en estudios de Prueba de Concepto (Fase IIa) para su evaluación de eficacia y seguridad en personas con infección por *T. cruzi*.

Por otro lado, la combinación de más de un fármaco se plantea como una opción plausible para el tratamiento de la infección crónica por *T. cruzi*, y hasta el momento han sido pobremente probados (solo en los estudios STOP-CHAGAS y BENDITA). El objetivo de la combinación sería obtener una mayor eficacia y/o una menor toxicidad, así como limitar el desarrollo de resistencia al fármaco por parte del patógeno. (Kappagoda et al, 2011) En este punto, desde la DNDi junto con otros socios y colaboradores se pretende impulsar la prueba de uso de terapias inmunomoduladoras en combinación con el uso de agentes antiparasitarios.

Adicionalmente, es aquí donde nos encontramos una de las principales limitaciones en el desarrollo de nuevas propuestas terapéuticas, así como para correlacionar la respuesta parasitológica con la progresión clínica de infección a enfermedad (Pinazo et al, 2014). Pese a que durante la última década hemos asistido a importantes avances y mejoras en este ámbito, existen limitaciones en el uso de los marcadores de respuesta terapéutica temprana disponibles para evaluar el efecto terapéutico de estas nuevas propuestas (Cortes-Serra et al, 2020).

La serología convencional, que sigue siendo el gold- estándar de respuesta terapéutica establecido hasta el momento, remite muy lentamente tras la eliminación del parásito (años o décadas). Entre las pruebas disponibles para realizar esta evaluación temprana, destacan las de amplificación de ácidos nucleicos (pruebas de reacción en cadena de la polimerasa o PCR). Sin embargo, en el caso de pacientes con infección crónica por *T. cruzi*, incluso las técnicas más sensibles tienen una sensibilidad entorno al 80% (Schijman, 2018). Para su uso en el contexto de ensayos

clínicos, con la iteración de test de PCR en cada uno de los puntos de evaluación, y la medida repetida de las mismas a lo largo de los periodos de seguimiento, se consigue un aumento de la sensibilidad (Parrado et al, 2019). No obstante, la positivización de las mismas durante el seguimiento de pacientes identifica aquellos pacientes con fallo terapéutico, siendo este su principal uso. No obstante, técnicas cuantitativas de PCR (qPCR) pueden evaluar eficazmente las modificaciones de la carga del parásito circulante por encima del límite de detección.

La evaluación de la respuesta clínica al medicamento, y su correlación con la respuesta parasitológica es otra de las grandes limitantes para el desarrollo y registro de las nuevas estrategias propuestas. Pese a que existen varios grupos de investigación dedicados a la identificación y desarrollo de estos biomarcadores, no existen hasta el momento biomarcadores de respuesta terapéutica ni de progresión clínica de la enfermedad validados. (Pinazo et al, 2014 and 2015; Cortes-Serra et al, 2020; Alonso-Padilla et al, 2021)

Para concluir, otro de los grandes retos es el de la adopción de las nuevas estrategias y abordajes una vez probados los mismos. En la actualidad es imprescindible incorporar el diagnóstico y el tratamiento en la estrategia sanitaria de países tanto endémicos como nos endémicos, aún con todas las limitaciones indicadas, como medida de Salud Pública, en pro de la mejora del control de la infección, y la prevención de la evolución clínica de casos.

## ■ AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado de forma independiente por la Iniciativa Medicamentos para Enfermedades Olvidadas (DNDi), que

agradece a sus donantes, públicos y privados, que hayan proporcionado financiación a DNDi desde su creación en 2003. La lista completa de donantes de DNDi puede consultarse en <http://www.dndi.org/donors/donors>. Los financiadores no han intervenido en el diseño del estudio, la recopilación y el análisis de los datos, la decisión de publicar o la preparación del manuscrito.

## ■ GLOSARIO

**Enfermedad tropical desatendida:** enfermedad prevalente principalmente en áreas tropicales y que afecta a personas pertenecientes a comunidades empobrecidas. Las enfermedades tropicales desatendidas son un grupo heterogéneo de 20 enfermedades causadas por agentes patógenos, como parásitos, bacterias, virus, hongos y toxinas.

**Enfermedad zoonótica:** enfermedad o infección que puede transmitirse entre animales y seres humanos. Hay más de 200 tipos conocidos de enfermedades zoonóticas.

**Vectores:** animales invertebrados por los cuáles se propaga una enfermedad entre un vertebrado infectado y un vertebrado sano.

**Reservorios:** seres vivos en los cuáles los parásitos pueden vivir y multiplicarse, siendo fuente de infección.

**Vías de transmisión:** Son tres vías de transmisión - la vía sexual, la sanguínea y la perinatal - de una enfermedad de un hospedero a otro, independientemente de que este último estuviera o no infectado.

**Vía vectorial:** vía de transmisión a través de vectores. Las enfermedades de transmisión vectorial pueden ser provocadas por bacterias, parásitos o virus.

**Insectos triatominos hematófagos:** son insectos de la familia Reduviidae del orden Hemiptera y que se alimentan de sangre de vertebrados. Algunos de estos insectos son los responsables de la transmisión vectorial de la infección por *T. cruzi*.

**Áreas endémicas:** regiones en las cuáles el número de casos de una enfermedad se mantienen relativamente estacionarios a lo largo del tiempo, con variaciones dentro de los límites proyectados.

**Respuesta inmunitaria o Respuesta inmunológica:** la forma como el cuerpo se defiende contra microorganismos y sustancias que pueden ser dañinas a su funcionamiento.

**Huésped:** ser vivo que da albergue y/o alimento a otro individuo.

**Linfadenopatías:** las inflamaciones de los ganglios linfáticos. Estos son las glándulas que tienen forma de frijol en el cuello, las axilas, la ingle y el pecho.

**Mialgias:** dolores que afectan a uno o varios músculos del cuerpo.

**Meningoencefalitis:** la infección/inflamación de las meninges y del cerebro (encefalitis).

**Miocarditis:** la inflamación del músculo del corazón (miocardio).

**Megasíndromes:** dilataciones patológicas de vísceras de un organismo, en el caso de la enfermedad de Chagas, del esófago (megaesófago) y el colon (megacolon).

**Sistema de conducción cardíaco:** las estructuras en las cuáles son producidas y transmitidas el estímulo eléctrico responsable por la contracción del corazón.

**Miocardio:** músculo cardíaco.

**Síncope:** pérdidas inesperadas de la conciencia y del tono postural, de rápida duración y con recuperación espontánea.

**Miocardopatía dilatada:** una enfermedad del músculo del corazón. El ventrículo se estira y se reduce (dilatada), por lo que no puede bombear sangre de la misma manera que lo hace un corazón sano.

**Ortopnea:** la dificultad para respirar al estar acostado.

**Disnea paroxística nocturna:** síntoma por el cuál la persona despierta repentinamente, con dificultad para respirar, durante la noche.

**Aneurismas:** ensanchamientos anormales de las paredes de las arterias o del miocardio.

**Complicaciones tromboembólicas:** procesos de coagulación de la sangre en el interior de las venas, en las formas de trombosis venosa profunda o embolismo pulmonar.

**Métodos parasitológicos o moleculares:** los métodos que confirman la existencia de una enfermedad basado en la observación directa de parásitos o la detección de ADN de parásitos.

**Métodos serológicos:** los métodos diagnósticos que confirman la existencia de una enfermedad a través de la detección de anticuerpos.

**Polimorfismo genético:** la formación de dos o más formas variantes de una secuencia específica de ADN de una misma especie.

**Eficacia y Seguridad:** se considera que un medicamento es eficaz si tiene la acción terapéutica buscada en una forma y tiempo determinados. Es seguro si los riesgos de su uso son aceptables para los pacientes en tér-

minos de riesgo-beneficio.

**Tratamiento etiológico:** tratamiento que actúa directamente sobre la causa que origina una enfermedad.

**Patogénesis:** origen y desarrollo de las enfermedades.

**Reacciones autoinmunes:** ocurre cuando el sistema inmunitario destruye células sanas por error.

**Seronegativización:** la ausencia de anticuerpos detectables en personas que los tenían previamente.

**Unidades discretas de tipificación (DTUs):** Marcadores moleculares genéticamente definidos que caracterizan las diferentes cepas, en este caso, de *T. cruzi*

**Fenotípica y genotípicamente:** la información genética que conforma a un individuo es el genotipo, que se transmite de generación en generación. El fenotipo es la expresión en forma física de las características genéticas de un individuo.

**Transmisión vertical:** la transmisión de una enfermedad de la madre al feto en el útero o al recién nacido durante el parto.

**Cura estéril:** confirmación de la ausencia de microorganismos dañinos después de un tratamiento.

**Perfil de seguridad:** toda la información sobre la seguridad o toxicidad de un medicamento, en condiciones normales de prescripción y uso.

**Efectos adversos:** un efecto dañino no deseado que resulta de la utilización de un medicamento u otra intervención médica.

**Resistencia al tratamiento:** se define como resistencia a los antimicrobianos (RAM) la que surge cuando

las bacterias, los virus, los hongos y los parásitos cambian a lo largo del tiempo y dejan de responder a los medicamentos, lo que hace más difícil el tratamiento de las infecciones e incrementa el riesgo de propagación de enfermedades, de aparición de formas graves de enfermedades y de muerte.

Como consecuencia de la farmacoresistencia, los antibióticos y otros medicamentos antimicrobianos se vuelven ineficaces, por lo que las infecciones son cada vez más difíciles o imposibles de tratar.

**Respuesta parasitológica:** la medición cuantitativa de un cambio en la cantidad de parásitos detectados después de la administración de medicamentos antiparasitarios.

**Tripanocida o Tripanostática:** proceso provocado por los medicamentos de inhibición de la multiplicación de los parásitos en la sangre del paciente. Hablamos del efecto tripanocida cuando el medicamento tiene la capacidad de eliminar al parásito. El efecto tripanostático es el que impide la replicación del mismo.

**Placebo:** sustancia que carece de actividades farmacológicas, dado en lugar de un medicamento, para controlar reacciones al uso de un medicamento o la realización de un procedimiento terapéutico o ensayo clínico.

**Período de seguimiento:** un tiempo definido por el protocolo de un ensayo clínico para la participación de un sujeto en el ensayo después del tratamiento.

**Carga parasitaria circulante:** la cantidad de parásitos que se puede identificar en circulación en la sangre periférica de un paciente.

**Efecto parasiticida:** efecto de destrucción de los parásitos provocado por los medicamentos antiparasitarios.

**PCR en tiempo real:** es la técnica de laboratorio basada en el principio de reacción en cadena de la polimerasa para detectar la existencia de material genético de los patógenos.

**Farmacocinética y farmacodinámica:** procesos de la farmacología. La respuesta del organismo a un medicamento, en términos de absorción, distribución, metabolización y excreción, es la farmacocinética. El estudio de la actuación de un medicamento en el organismo es la farmacodinámica.

**Prueba de Concepto:** en el contexto de los ensayos clínicos, es un ensayo, de pequeña escala, que busca evaluar el concepto teórico establecido por una investigación, en términos de seguridad y eficacia, para ayudar la exploración de potenciales fármacos.

**Gold- estándar:** también denominado test de referencia, son las pruebas de diagnóstico que tienen la máxima fiabilidad al momento de diagnosticar una enfermedad o evaluar el estado de la misma en un preciso momento en el tiempo.

## ■ BIBLIOGRAFIA

Alarcón de Noya B, Noya González O. An ecological overview on the factors that drives to *Trypanosoma cruzi* oral transmission. *Acta Trop.* 2015;151:94–102.

Alonso-Padilla J, López MC, Esteva M, Zrein M, Casellas A, Gómez I, Granjon E, Méndez S, Benítez C, Ruiz AM, Sanz S, Gascón J, Thomas MC, Pinazo MJ; NHEPACHA Study Group. Serological

reactivity against *T. cruzi*-derived antigens: Evaluation of their suitability for the assessment of response to treatment in chronic Chagas disease. *Acta Trop.* 2021 Sep;221:105990.

Alonso-Vega C, Billot C, Torrico F. Achievements and challenges upon the implementation of a program for national control of congenital Chagas in Bolivia: results 2004-2009. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013 Jul 11;7(7):e2304.

Altcheh J, Moscatelli G, Moroni S, Garcia-Bournissen F, Freilij H. Adverse events after the use of benznidazole in infants and children with Chagas disease. *Pediatrics.* 2011 Jan;127(1):e212-8.

Alvarez MG, Vigliano C, Lococo B, Petti M, Bertocchi G, Viotti R. Seronegative conversion after incomplete benznidazole treatment in chronic Chagas disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2012 Oct;106(10):636-8.

Álvarez MG, Vigliano C, Lococo B, Bertocchi G, Viotti R. Prevention of congenital Chagas disease by benznidazole pre-treatment in reproductive-age women. An observational study. *Acta Trop.* 2017;174:149–52.

Álvarez MG, Hernández Y, Bertocchi G, Fernández M, Lococo B, Ramírez JC, et al. New scheme of intermittent benznidazole administration in patients chronically infected with *Trypanosoma cruzi*: a pilot short-term follow-up study with adult patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(2):833–7.

Anez N, Carrasco H, Parada H, Crisante G, Rojas A, Fuenmayor C, et al. Myocardial parasite per-

- sistence in chronic chagasic patients. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60(5):726–32.
- Bahia MT, de Andrade IM, Martins TA, do Nascimento AF, Diniz Lde F, Caldas IS, et al. Fexinidazole: a potential new drug candidate for Chagas disease. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(11):e1870.
- Bahia MT, Nascimento AF, Mazzei AL, Marques LF, Gonçalves KR, Mota LW, et al. Antitrypanosomal activity of fexinidazole metabolites, potential new drug candidates for Chagas disease. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(8):4362–70.
- Balouz V, Agüero F, Buscaglia CA. Chagas disease diagnostic applications: present knowledge and future steps. *Adv Parasitol.* 2017;97:1–45.
- Barreto de Albuquerque J, Silva dos Santos D, Stein JV et al (2018). Oral versus intragastric inoculation: similar pathways of *Trypanosoma cruzi* experimental infection? From target tissues, parasite evasion, and immune response. *Front Immunol* 9:1734.
- Bern C, Montgomery SP, Herwaldt BL, Rassi A Jr, Marin-Neto JA, Dantas RO, Maguire JH, Acquattella H, Morillo C, Kirchhoff LV, Gilman RH, Reyes PA, Salvatella R, Moore AC. Evaluation and treatment of chagas disease in the United States: a systematic review. *JAMA.* 2007 Nov 14;298(18):2171–81.
- Bern C. Chagas' disease. *N Engl J Med.* 2015;373:456–66.
- Bern C. A new epoch in antitrypanosomal treatment for chagas disease. *J Am Coll Cardiol.* 2017;69(8):948–50.
- Brandariz S, Schijman A, Vigliano C, Viotti R, Levin MJ. Role of parasites in the pathogenesis of Chagas' cardiomyopathy. *Lancet.* 1996;347:914–20.
- Britto C, Silveira C, Cardoso MA, Marques P, Luquetti A, Macedo V, Fernandes O. Parasite persistence in treated chagasic patients revealed by xenodiagnosis and polymerase chain reaction. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001;96(6):823–6.
- Bustamante JM, Craft JM, Crowe BD, Ketchie SA, Tarleton RL. New, combined, and reduced dosing treatment protocols cure *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *J Infect Dis.* 2014;209(1):150–62.
- Cancado JR. Long term evaluation of etiological treatment of chagas disease with benznidazole. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2002;44(1):29–37.
- Cardoso CS, Ribeiro ALP, Oliveira CDL, Oliveira LC, Ferreira AM, Bierrenbach AL, et al. Beneficial effects of benznidazole in Chagas disease: NIH sami-trop cohort study. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018;12(11):e0006814. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006814>.
- Cortes-Serra N, Losada-Galvan I, Pinazo MJ, Fernandez-Becerra C, Gascon J, Alonso-Padilla J. State-of-the-art in host-derived biomarkers of Chagas disease prognosis and early evaluation of anti-*Trypanosoma cruzi* treatment response. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2020 Jul 1;1866(7):165758.
- Costa-Chaves G, Abi-Saab Arrieché M, Rode J, Mechali D, Ouverney Reis P, Vieira Alves R, Stobbaerts E, Girón Aguilar N, Ribeiro I. Estimación de la demanda de medicamentos antichagásicos: una contribución para el acceso en América Latina. *Rev Panam Salud Publica.* 2017; 41: e45.
- Coura JR, de Castro SL. A critical review on Chagas disease chemotherapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2002;97(1):3–24.
- Coura JR, Albajar PV. Chagas disease: a new worldwide challenge. *Nature.* 2010;465(7301):S6–7.
- Cura C, Schijman AG. Relación entre los genotipos de *T. cruzi* y la presentación clínica de la enfermedad de Chagas. *Rev Esp Salud Pública.* 2013;86:9–16.
- Fabbro DL, Danesi E, Olivera V, Cobebó MO, Denner S, Heredia C, et al. Trypanocide treatment of women infected with *Trypanosoma cruzi* and its effect on preventing congenital Chagas. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(11):e3312.
- Fernandes CD, Tiecher FM, Balbinot MM, Liarte DB, Scholl D, Steindel M, Romanha A. Efficacy of benznidazol treatment for asymptomatic chagasic patients from state of Rio grande do Sul evaluated during a three years follow-up. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009;104(1):27–32.
- Filardi LS, Brener Z. Susceptibility and natural resistance of *Trypanosoma cruzi* strains to drugs used clinically in chagas disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1987;81(5):755–9.
- Forsyth CJ, Hernandez S, Olmedo W, Abuhamidah A, Traina MI, Sanchez DR, Soverow J, Meymandi SK. Safety Profile of Nifurtimox for Treatment of Chagas Disease in the United States. *Clin Infect Dis.* 2016 Oct 15;63(8):1056–1062.

- Fragata-Filho AA, França FF, Fragata Cda S, Lourenço AM, Faccini CC, Costa CA Evaluation of parasiticide treatment with benznidazol in the electrocardiographic, clinical, and serological evolution of Chagas disease. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(3):e0004508.
- Gascón J, Bern C, Pinazo MJ. Chagas disease in Spain, the United States and other nonendemic countries. *Acta Trop*. 2010;115:22-7
- Jackson Y, Alirol E, Getaz L, Wolff H, Combesure C, Chappuis F. Tolerance and safety of nifurtimox in patients with chronic chagas disease. *Clin Infect Dis*. 2010 Nov 15;51(10):e69-75.
- Jackson Y, Wyssa B, Chappuis F. Tolerance to nifurtimox and benznidazole in adult patients with chronic Chagas' disease. *J Antimicrob Chemother*. 2020 Mar 1;75(3):690-6.
- Kande Betu Ku Mesu V, Mutombo Kalonji W, Bardonneau C, Valverde Mordt O, Ngolo Tete D, Blesson S, Simon F, Delhomme S, Bernhard S, Mahenzi Mbembo H, Mpia Moke C, Lumeya Vuvu S, Mudji E'kitiak J, Akwaso Masa F, Mukendi Ilunga M, Mpo-yi Muamba Nzambi D, Mayala Malu T, Kapongo Tshilumbwa S, Botalema Bolengi F, Nkieri MATHO M, Lumbala C, Scherrer B, Strub-Wourgaft N, Tarral A. Oral fexinidazole for stage 1 or early stage 2 African *Trypanosoma brucei gambiense* trypanosomiasis: a prospective, multicentre, open-label, cohort study. *Lancet Glob Health*. 2021 Jul;9(7):e999-e1008. doi: 10.1016/S2214-109X(21)00208-4.
- Kappagoda S, Singh U, Blackburn BG. Antiparasitic therapy. *Mayo Clin Proc*. 2011;86(6):561-83.
- Kirchhoff LV. Epidemiology of American trypanosomiasis (Chagas disease). *Adv Parasitol*. 2011;75:1-18.
- Koeberle F, Nador E. Etiologia e patogenia do megalosôfago no Brasil. *Rev Paul Med*. 1955;47:643-61.
- Machado FS, Dutra WO, Esper L, Gollob KJ, Teixeira MM, Factor SM, et al. Current understanding of immunity to *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas disease. *Semin Immunopathol*. 2012;34(6):753-70.
- Machado FS, Tyler KM, Brant F, Esper L, Teixeira MM, Tanowitz HB. Pathogenesis of Chagas disease: time to move on. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2012;4:1743-58.
- Marin-Neto JA, Rassi AJ, Morillo CA, Avezum A, Connolly SJ, Sosa-Estani S, et al. Rationale and design of a randomized placebo-controlled trial assessing the effects of etiologic treatment in Chagas' cardiomyopathy: the benznidazole evaluation for interrupting trypanosomiasis (BENEFIT). *Am Heart J*. 2008;156(1):37-43.
- Molina I, Gómez i Prat J, Salvador F, Treviño B, Sulleiro E, Serre N, Pou D, Roure S, Cabezos J, Valerio L, Blanco-Grau A, Sánchez-Montalvá A, Vidal X, Pahissa A. Randomized trial of posaconazole and benznidazole for chronic Chagas' disease. *N Engl J Med*. 2014 May 15;370(20):1899-908.
- Morillo CA, Marin-Neto JA, Avezum A, Sosa-Estani S, Rassi A, Rosas F, et al. Randomized trial of benznidazole for chronic Chagas' cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2015;373(14):1295-306.
- Morillo CA, Waskin H, Sosa-Estani S, Del Carmen Bangher M, Cuneo C, Milesi R, Mallagray M, Apt W, Beloscar J, Gascon J, Molina I, Echeverria LE, Colombo H, Perez-Molina JA, Wyss F, Meeks B, Bonilla LR, Gao P, Wei B, McCarthy M, Yusuf S; STOP-CHAGAS Investigators. Benznidazole and Posaconazole in Eliminating Parasites in Asymptomatic *T. Cruzi* Carriers: The STOP-CHAGAS Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2017 Feb 28;69(8):939-47.
- Moscatelli G, Moroni S, García-Bournissen F, Ballering G, Bisio M, Freilij H, Altchek J. Prevention of congenital Chagas through treatment of girls and women of childbearing age. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110(4):507-9.
- Moscatelli G, Moroni S, García-Bournissen F, González N, Ballering G, Schijman A, Corral R, Bisio M, Freilij H, Altchek J. Longitudinal follow up of serological response in children treated for Chagas disease. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019 Aug 29;13(8):e0007668.
- Murcia L, Simón M, Carrilero B, Roig M, Segovia M. Treatment of infected women of childbearing age prevents congenital *Trypanosoma cruzi* infection by eliminating the parasitemia detected by PCR. *J Infect Dis*. 2017;215(9):1452-8.
- Parrado R, Ramirez JC, de la Barra A, Alonso-Vega C, Juiz N, Ortiz L, Illanes D, Torrico F, Gascon J, Alves F, Flevaud L, Garcia L, Schijman AG, Ribeiro I. Usefulness of Serial Blood Sampling and PCR Replicates for Treatment Monitoring of Patients with Chronic Chagas Disease. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019 Jan 29;63(2):e01191-18.

- Pinazo MJ, Guerrero L, Posada E, Rodríguez E, Soy D, Gascon J. Benznidazole-related adverse drug reactions and their relationship to serum drug concentrations in patients with chronic Chagas disease. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Jan;57(1):390-5.
- Pinazo MJ, Thomas MC, Bua J, Perrone A, Schijman AG, Viotti RJ, Ramsey JM, Ribeiro I, Sosa-Estani S, López MC, Gascon J. Biological markers for evaluating therapeutic efficacy in Chagas disease, a systematic review. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2014 Apr;12(4):479-96.
- Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis.* 2001;1:92-100.
- Rassi A Jr, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet.* 2010 Apr 17;375(9723):1388-402.
- Rassi A, Marin JA, Rassi A. Chronic Chagas cardiomyopathy: a review of the main pathogenic mechanisms and the efficacy of aetiological treatment following the benznidazole evaluation for interrupting trypanosomiasis (BENEFIT) trial. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2017;112(3):224-35.
- Ribeiro I, Sevcsik AM, Alves F, Diap G, Don R, Harhay MO, et al. New, improved treatments for Chagas disease: from the R&D pipeline to the patients. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009;3(7):e484.
- Schijman AG. Molecular diagnosis of *Trypanosoma cruzi*. *Acta Trop.* 2018;184:59-66.
- Sosa Estani S, Segura EL, Ruiz AM, Velazquez E, Porcel BM, Yampotis C. Efficacy of chemotherapy with benznidazole in children in the indeterminate phase of Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg.* 1998 Oct;59(4):526-9.
- Sosa-Estani S, Cura E, Velazquez E, Yampotis C, Segura EL. Etiological treatment of young women infected with *Trypanosoma cruzi*, and prevention of congenital transmission. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009;42(5):484-7.
- Tarleton RL. Parasite persistence in the aetiology of Chagas disease. *Int J Parasitol.* 2001;31(5-6):550-4.
- Tarleton RL, Reithinger R, Urbina JA, et al. The challenges of Chagas disease—grim outlook or glimmer of hope? *PLoS Med.* 2007;4(12):e332.
- Torreele E, Bourdin Trunz B, Tweats D, Kaiser M, Brun R, Mazue G, et al. Fexinidazole—a new oral nitroimidazole drug candidate entering clinical development for the treatment of sleeping sickness. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4(12):e923.
- Torrico F, Gascon J, Ortiz L, Alonso-Vega C, Pinazo MJ, Schijman A, et al. Treatment of adult chronic indeterminate Chagas disease with benznidazole and three E1224 dosing regimens: a proof-of-concept, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(4):419-30.
- Torrico F, Gascón J, Barreira F, Blum B, Almeida IC, Alonso-Vega C, Barboza T, Bilbe G, Correia E, Garcia W, Ortiz L, Parrado R, Ramirez JC, Ribeiro I, Strub-Wourgaft N, Vaillant M, Sosa-Estani S; BENDITA study group. New regimens of benznidazole monotherapy and in combination with fosravuconazole for treatment of Chagas disease (BENDITA): a phase 2, double-blind, randomised trial. *Lancet Infect Dis.* 2021 Aug;21(8):1129-40.
- Urbina JA, McKerrow JH. Drug susceptibility of genetically engineered *Trypanosoma cruzi* strains and sterile cure in animal models as a criterion for potential clinical efficacy of anti-*T. cruzi* drugs. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(12):7923-4.
- Viotti R, Vigliano C, Lococo B, Bertocchi G, Petti M, Alvarez MG, Postan M, Armenti A. Long-term cardiac outcomes of treating chronic Chagas disease with benznidazole versus no treatment: a nonrandomized trial. *Ann Intern Med.* 2006 May 16;144(10):724-34.
- Viotti R, Vigliano C. Etiological treatment of chronic Chagas disease: neglected 'evidence' by evidence-based medicine. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2007;5(4):717-26.
- Viotti R, Alarcón de Noya B, Araujo-Jorge T, Grijalva MJ, Guhl F, López MC, et al. Towards a paradigm shift in the treatment of chronic Chagas disease. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(2):635-9.
- World Health Organization. Chagas diseases in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. *Weekly Epidemiological Record* No. 6. 2015; 90:33-442.
- Zingales B. *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity. *Acta Trop.* 2018;184:38-52.

# ¿CÓMO SE DIAGNOSTICA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS?

**Palabras clave:** Diagnóstico, Métodos parasitológicos, Métodos serológicos, Métodos moleculares.

**Key words:** : *Diagnosis, Parasitological methods, Serological methods, Molecular methods.*

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana es una enfermedad potencialmente mortal causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Se estima que en el mundo hay más de 6 millones de personas infectadas. Esta enfermedad está presente en áreas endémicas de 21 países del continente americano, abarcando desde el sur de los Estados Unidos hasta Chile y Argentina y es, además, una preocupación global emergente en áreas no endémicas debido a las migraciones de personas infectadas. Al ser una enfermedad desatendida, la gran mayoría de los pacientes con enfermedad de Chagas tiene un acceso limitado a un diagnóstico y tratamiento adecuados, especialmente en las regiones endémicas donde los laboratorios de diagnóstico son escasos y están mal equipados. Las diferentes fases de la enfermedad y los diferentes modos de transmisión determinan qué estrategias diagnósticas o pruebas se deben utilizar. Sin embargo, no hay un consenso sobre los algoritmos de diagnóstico para varios escenarios clínicos de la infección por *T. cruzi*, lo que dificulta el establecimiento de pautas gubernamentales en países endémicos y no endémicos.

■ **Silvia A. Longhi\*, Alejandro G. Schijman**

Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas (LaBMECh)  
Instituto de Ingeniería Genética y Biología Molecular "Dr. Héctor Torres"  
INGEBI-CONICET

\*E-mail: longhi@dna.uba.ar

Chagas disease or American trypanosomiasis is a life-threatening disease caused by the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). It is estimated that there are more than 6 million infected people in the world. This disease is present in endemic areas of 21 countries of the American continent, ranging from the southern United States to Chile and Argentina, and is also an emerging global concern in non-endemic areas due to the migration of infected people. Being a neglected disease, most patients with Chagas disease have limited access to proper diagnosis and treatment, especially in endemic regions where diagnostic laboratories are few and poorly equipped. The different phases of the disease and the different modes of transmission determine which diagnostic strategies or tests should be used. However, there is no consensus on diagnostic algorithms for various clinical scenarios of *T. cruzi* infection, making it difficult to establish government guidelines in endemic and non-endemic countries.

## ■ INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*. Se transmite principalmente por triatominos que reciben diferentes nombres en diferentes lugares de América: "vinchucas", "chinchas", "chirimachas", "pitos", "barbeiro", "kissing bugs", etc (OMS, 2015). Otros modos de transmisión son: transfusiones de sangre de donantes infectados con *T. cruzi* (OMS, 2014; Angheben et al, 2015); transplacentaria o vertical, que se encuentra en 2% a 11% de los recién nacidos de madres infectadas (Carlier et al, 2019); a través del consumo de alimentos contaminados con *T. cruzi* (Shikanai-Yasuda

et al 2012); y otros modos potenciales de transmisión, como el trasplante de órganos, el contacto accidental con ciclos zoonóticos silvestres y accidentes de laboratorio (Rassi A Jr et al, 2010). Con una incidencia anual de 28.000 casos en América Latina, se estima que la enfermedad de Chagas afecta alrededor de seis millones de personas y causa casi 12.000 muertes cada año. Se calcula que alrededor de 65 millones de personas se encuentran en riesgo de contraer la enfermedad (OPS, 2019). Si bien se han logrado avances significativos en la prevención y el control de la transmisión del parásito (Carlier et al, 2019), la atención médica de las personas in-

fectadas por *T. cruzi* se ha rezagado durante muchos años debido a los problemas en el diagnóstico y el tratamiento.

La infección pasa por una fase aguda, evolucionando a una fase crónica con ausencia de síntomas detectables en el 60-70 % de los pacientes infectados, o crónica sintomática, con diferentes grados de progresión y gravedad que incluyen trastornos cardíacos y/o digestivos como consecuencia de la enfermedad (Rassi A Jr et al, 2010). La fase aguda se caracteriza por una elevada parasitemia, con parásitos detectables en sangre. Sin embargo, la mayoría de los casos pasan desap-



cibidos porque los síntomas suelen ser escasos e inespecíficos, y el personal médico puede no sospechar la infección por *T. cruzi*. En general, la fase aguda se resuelve con una disminución de la carga parasitaria después del primer mes de la infección primaria (Rassi A Jr et al, 2010). Así, la mayoría de las infecciones agudas por *T. cruzi* progresan a una fase crónica silenciosa, también denominada enfermedad de Chagas crónica indeterminada o asintomática que se caracteriza por una parasitemia baja e intermitente. Como la mayoría de las personas con enfermedad de Chagas crónica asintomática desconocen su estado de infección, es posible que solo se les diagnostique cuando donen sangre o se sometan a un control de salud.

El diagnóstico de infección por *T. cruzi* debe incluir, como en cualquier enfermedad infecciosa datos respaldados por la clínica y la epidemiología, confirmados o no por pruebas de laboratorio. El diagnóstico de laboratorio incluye pruebas parasitológicas (detección directa o indirecta del parásito en sangre) y serológicas (detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* en el suero) (Luquetti et al, 2017). Los individuos infectados excepcionalmente buscan atención médica durante la fase aguda estableciéndose la infección sin un diagnóstico oportuno, y como se mencionó anteriormente, los síntomas suelen ser muy leves y atípicos, por lo que a menudo se confunden clínicamente. En contraposición, durante la fase crónica, es más frecuente la consulta médica aumentado las chances del debido diagnóstico. Las pruebas de laboratorio que se ordenarán dependen de la sospecha de cuál es la fase de la enfermedad que atraviesa el individuo infectado. Para aquellos casos inusuales durante la fase aguda, que dura solo por 1-2 meses, las pruebas parasitológicas son obligatorias.

Por otra parte, en la fase crónica que dura toda la vida, las pruebas serológicas son el método de diagnóstico de elección. Como ninguna prueba de diagnóstico serológico actual tiene la precisión requerida, la OPS/OMS recomiendan al menos dos pruebas con diferentes principios técnicos para confirmar la infección por *T. cruzi*.

## ■ 1-MÉTODOS PARASITOLÓGICOS

**1a- Directos:** Los principales métodos directos se esquematizan en la Figura 1. Su formato más simple consiste en buscar los parásitos en una gota de sangre fresca, colocada entre dos láminas de vidrio (Figura 1A). Con la ayuda de lentes de objetivo de 40X (aumenta 40 veces) o reconociéndolos entre los glóbulos rojos por contraste de fase, se pueden detectar los parásitos con su movimiento ondulante característico. Otro método de observación al microscopio óptico es la técnica de gota gruesa, donde se colocan 2 o 3 gotas de sangre en un portaobjetos y luego se realiza un frotis o barrido para fijar la muestra y una coloración para una mejor observación de los parásitos con un aumento de 100 veces (Figura 1A) (Apt et al, 2008). Cuando no se observan al microscopio y persiste la sospecha clínica, se puede aplicar un método de concentración para aumentar la sensibilidad (Luquetti et al, 2000).

El método de Strout requiere de 2 a 5 mL de sangre venosa sin anticoagulantes y conlleva pasos de centrifugación de la sangre a fin de concentrar los parásitos en un volumen menor (Figura 1 A) (Strout, 1962). Al igual que en otros procedimientos de observación microscópica, la sensibilidad de este método depende en gran medida de la experiencia del operador y del tiempo de trabajo disponible para dedicar al examen de la muestra, que suele ser limitado

en los establecimientos de salud que atienden a comunidades de zonas endémicas.

En recién nacidos o neonatos, dado que se dispone de un volumen de sangre muy bajo, se debe utilizar el método de microhematocrito llenando hasta 4 - 6 capilares (Figura 1B), o el micrométodo en tubo (Figura 1B), que después de centrifugar, se observa la interfaz entre los glóbulos rojos y el plasma en un microscopio (Freilij et al, 1994, Mora et al, 2005).

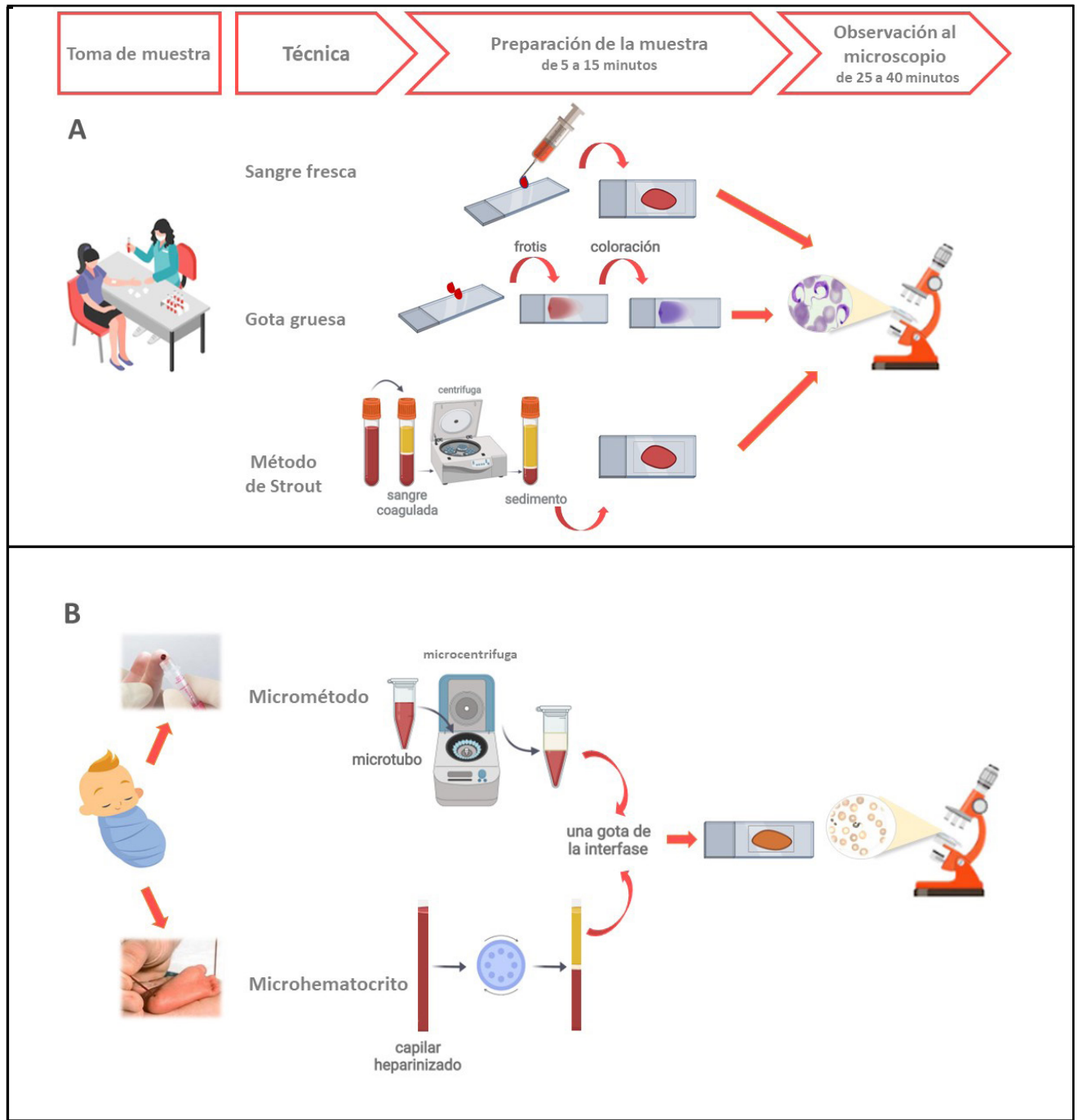
**1b- Indirectos:** Se basan en la proliferación de parásitos en animales o en sistemas de cultivo *in vitro*. El xenodiagnóstico fue el primer procedimiento utilizado cuando se describía la enfermedad. Consiste en alimentar a los insectos triatominos con la sangre de los pacientes y, luego de 30 a 60 días de haberlos alimentado, se examina sus heces (excrementos) para detectar la presencia de parásitos (Figura 2). Antiguamente, se colocaban los insectos triatominos en una caja sobre los brazos y las piernas de las personas analizadas, pero hoy en día, la sangre heparinizada extraída del paciente es accesible a los insectos a través de una membrana de látex (xenodiagnóstico artificial) (dos Santos et al, 1995) Sin embargo, estas técnicas han quedado en desuso, ya que sólo puede realizarse en centros de referencia donde se crían triatominos.

El hemocultivo se basa en la recolección de sangre del caso sospechoso, y el agregado de medio estéril para favorecer el crecimiento de los tripomastigotes (forma sanguínea del parásito) presente en la muestra (Figura 2). La observación del cultivo debe realizarse mensualmente durante seis meses para llegar a un diagnóstico y los parásitos en este cultivo pasan a la forma epimastigo-

te (forma presente en la vinchuca). (de Castro et al, 2006; Mora et al, 2005).

La inoculación de ratones con sangre de pacientes o con heces de insectos después del xenodiagnóstico es otro procedimiento factible pero rara vez

empleado (Figura 2). En este caso, la sangre de la cola de los ratones inoculados debe examinarse diariamente durante 1 a 2 meses. (Oliveira et al, 1993).



**Figura 1: Métodos parasitológicos directos.** Son métodos que se utilizan en la fase aguda de la enfermedad. Consisten en la observación al microscopio de la sangre del paciente para detectar los parásitos. **A.** Métodos utilizados principalmente en adultos **B.** Métodos que se utilizan al nacimiento y en los primeros meses del bebé. Estas técnicas de diagnóstico se deben realizar en el mismo día que se extrae la sangre, a medida que transcurre el tiempo se pierde sensibilidad porque los parásitos dejan de moverse de forma ondulante. (Figura creada con BioRender.com y freepik.com).

La gran dificultad de todos estos métodos parasitológicos indirectos es la baja y variable sensibilidad (alrededor del 20%), que depende en gran medida de la habilidad y experiencia del operador. Si se repite el método, la probabilidad de detección aumenta (hasta un 60% de sensibilidad), pero para algunos pacientes con parasitemia muy baja, incluso los exámenes sucesivos darán resultados negativos. (Cerisola et al, 1971)

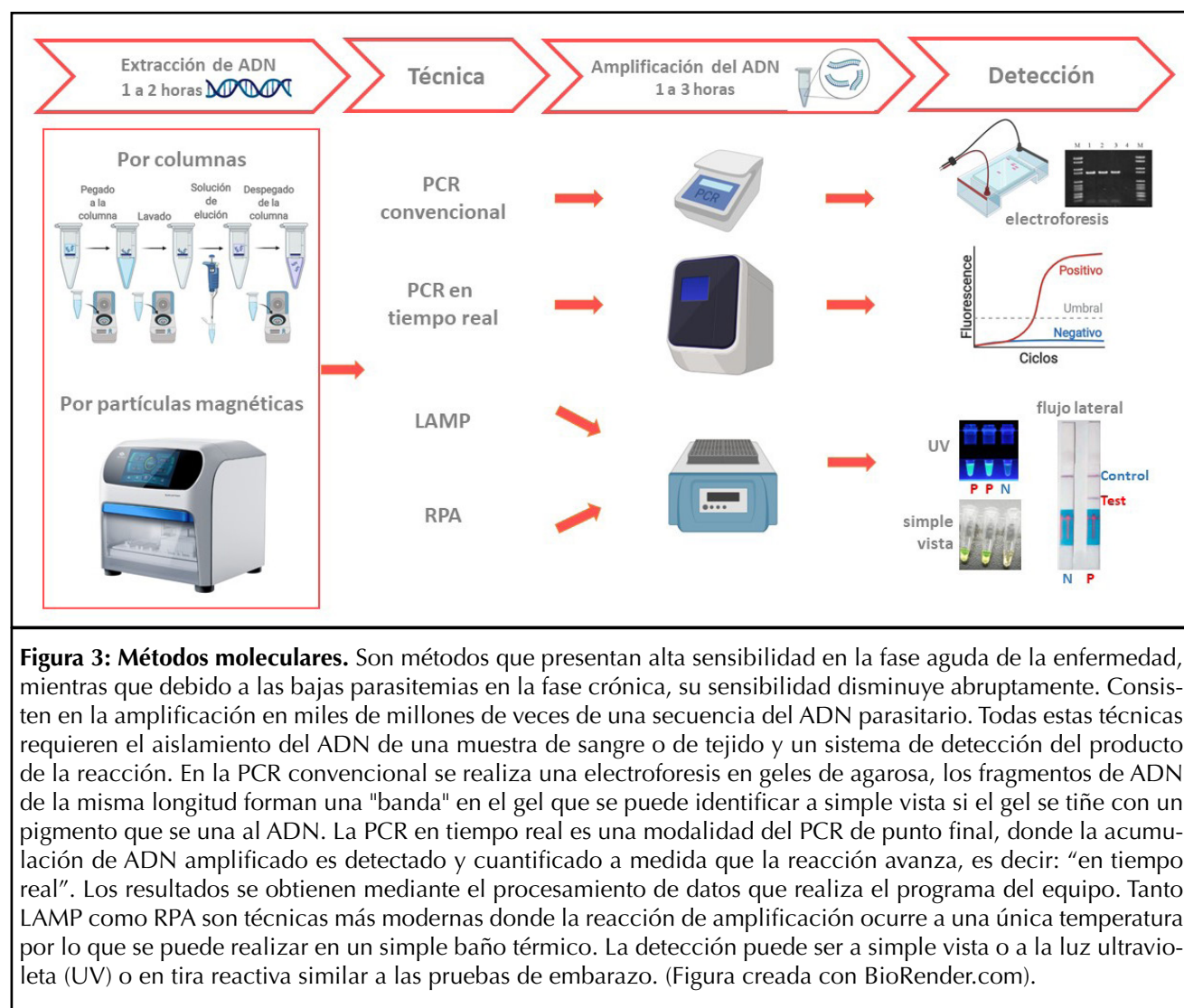
En la práctica clínica, con la introducción de las técnicas moleculares, las estrategias basadas en los métodos parasitológicos indirectos van quedando en desuso. A principio de la década de 1990, los métodos moleculares basados en la

detección del ADN del parásito por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) surgieron como una alternativa atractiva con alta sensibilidad para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas (Figura 3) (Alonso-Padilla et al, 2017). Las primeras técnicas de diagnóstico molecular utilizaban la PCR convencional o punto final, detectando mediante una electroforesis en geles de agarosa el tamaño de la molécula de ADN específica del parásito. Una década más tarde, se comenzó a utilizar una variante de la PCR convencional que simultáneamente amplifica y cuantifica el ADN parasitario (Freitas et al, 2005, Piron et al, 2007) (Figura 3). Sin embargo, requiere de un equipamiento costoso y de personal capacitado, que no siempre está disponible en

los centros de salud. Para subsanar estas dificultades, actualmente se están investigando nuevos métodos moleculares basados en la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), el cual es más adecuado para laboratorios con recursos limitados, pues no requiere un termociclador, sino solo un bloque térmico o baño de agua (Figura 3) (Mori et al, 2001; Notomi et al, 2000, Besuschio et al, 2017, 2020). Además, la visualización del producto puede hacerse a simple vista. Más allá de PCR y LAMP, se están investigando otras tecnologías de amplificación, como la amplificación de polimerasa de recombinasa (RPA). Esta reacción isotérmica necesita una temperatura de amplificación más baja y tiempos de amplificación más cortos que



**Figura 2: Métodos parasitológicos indirectos.** Son métodos que se utilizan en la fase aguda de la enfermedad. Consisten en la amplificación del número de parásitos por crecimiento de estos en medio de cultivo o en un ratón seguida de la observación al microscopio de los parásitos. Son técnicas laboriosas que requieren mayor infraestructura que los métodos directos (bioterio de animales, larvario, cuarto de cultivo, etc.) que conllevan mucho tiempo, desde semanas hasta meses, para observar los parásitos al microscopio. (Figura creada con BioRender.com y freepik.com).



**Figura 3: Métodos moleculares.** Son métodos que presentan alta sensibilidad en la fase aguda de la enfermedad, mientras que debido a las bajas parasitemias en la fase crónica, su sensibilidad disminuye abruptamente. Consisten en la amplificación en miles de millones de veces de una secuencia del ADN parasitario. Todas estas técnicas requieren el aislamiento del ADN de una muestra de sangre o de tejido y un sistema de detección del producto de la reacción. En la PCR convencional se realiza una electroforesis en geles de agarosa, los fragmentos de ADN de la misma longitud forman una "banda" en el gel que se puede identificar a simple vista si el gel se tiñe con un pigmento que se une al ADN. La PCR en tiempo real es una modalidad del PCR de punto final, donde la acumulación de ADN amplificado es detectado y cuantificado a medida que la reacción avanza, es decir: "en tiempo real". Los resultados se obtienen mediante el procesamiento de datos que realiza el programa del equipo. Tanto LAMP como RPA son técnicas más modernas donde la reacción de amplificación ocurre a una única temperatura por lo que se puede realizar en un simple baño térmico. La detección puede ser a simple vista o a la luz ultravioleta (UV) o en tira reactiva similar a las pruebas de embarazo. (Figura creada con BioRender.com).

LAMP, que ha mostrado un buen desempeño en comparación con la PCR en muestras de reservorios domésticos en México. (Jiménez-Coello et al, 2018).

## ■ 2-MÉTODOS SEROLÓGICOS

La mayoría de los ensayos empleados durante los últimos 40 años para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica son las pruebas serológicas convencionales para detectar los niveles de inmunoglobulinas G (IgG) anti-*T. cruzi*. En la actualidad, los métodos serológicos más ampliamente utilizados son:

**2a-** El ensayo de hemaglutinación indirecta **-HAI-**: es el ensayo más simple y menos costoso. El procedimiento tiene pocos pasos, lo que reduce los errores de manipulación. Se ponen en contacto glóbulos rojos sensibilizados de una especie animal (generalmente ovino) y suero del paciente durante 1 ó 2 horas. Después de este tiempo, si los anticuerpos específicos del parásito están presentes en el suero, los glóbulos rojos forman una red en el fondo del tubo o pozo, que se lee a simple vista (Figura 4).

**2b-** El ensayo de inmunofluorescencia indirecta **-IFI-**: requiere

microscopía de fluorescencia, exige varios pasos de incubación, por lo que requiere mucho tiempo y la interpretación de los resultados depende del operador. Su principal ventaja es su alta sensibilidad (>99%), pero la especificidad no es tan buena (>96%), especialmente debido a la reactividad cruzada con varias enfermedades (Figura 4).

**2c-** El ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas **-ELISA-**: incluye el contacto del suero de los pacientes con antígenos del parásito adheridos al material plástico tratado de un pocillo de una microplaca. Las pruebas de ELISA de primera ge-

neración se desarrollaron originalmente utilizando homogeneizados de parásitos totales y, más tarde, usando fracciones antigénicas purificadas del parásito (Figura 4).

Para todas estas pruebas convencionales, los resultados obtenidos pueden ser no reactivos (negativos), reactivos (positivos) o "borderline" (zona gris), y dos de ellos deben ser concordantemente positivos o negativos para garantizar la confianza en los resultados.

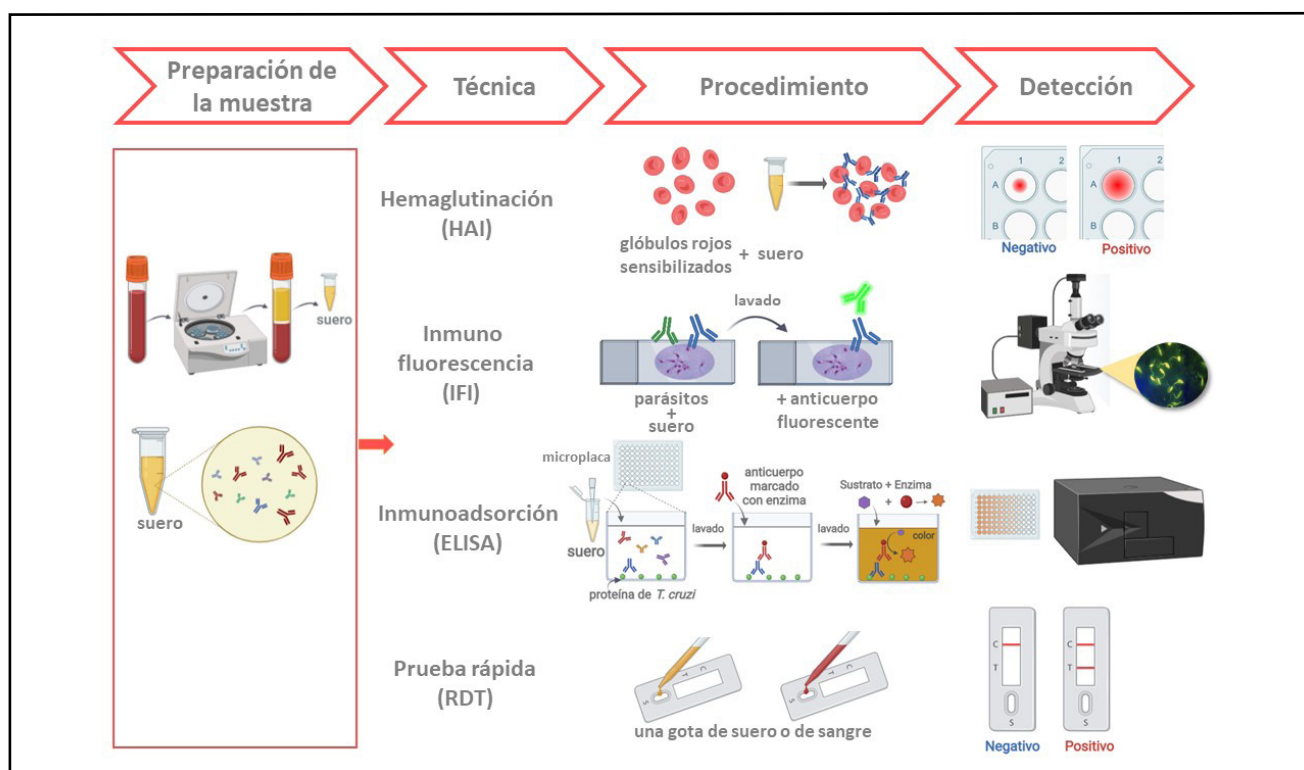
También se han empleado pruebas serológicas no convencionales basadas en diferentes principios para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas crónica. Estos han sido desarrollados tras el descubri-

miento y validación de familias antigénicas inmunogénicas de *T. cruzi*. Las estrategias de ingeniería genética han logrado la construcción de antígenos recombinantes adecuados a diferentes formatos de ensayos inmunológicos, tales como mezcla de antígenos recombinantes (Umezawa et al, 2003) péptidos cortos (Mucci et al, 2017) o matrices antigénicas basadas en proteínas quiméricas compuestas por fragmentos de aminoácidos inmunodominantes repetitivos y conservados de varias proteínas de *T. cruzi*. (Del Rei et al, 2019).

Dichos antígenos recombinantes se han utilizado en pruebas ELISA de última generación que tienen mayor sensibilidad y especificidad que los ensayos basados en antígenos de

lisado completo. Alternativamente, los ensayos inmunológicos recombinantes pueden utilizar formatos de detección de alta sensibilidad, siendo la quimioluminiscencia la más empleada. Este formato de ensayo está disponible comercialmente a un alto costo y se usa en muchos bancos de sangre y algunos laboratorios clínicos. Su sensibilidad ronda el 100% y su especificidad también es notablemente alta, lo que llevó a algunos autores a sugerir que podría utilizarse como diagnóstico único.

Otras pruebas no convencionales son los ensayos líticos que incluyen la citometría de flujo (no disponible comercialmente) y RIPA (radioinmunoensayo), que no están disponibles comercialmente. (Luquetti et al, 2017).



**Figura 4: Métodos serológicos.** Son métodos que presentan alta sensibilidad en la fase crónica siendo el estándar de oro para el diagnóstico de la enfermedad. El HAI y los RDT son los métodos más sencillos que pueden ser interpretados a simple vista por comparación con el control. El método más utilizado es el ELISA, pero requiere de un lector de placas y lleva dos días en total para tener el resultado. El IFI se suele utilizar como tercer método cuando se tienen resultados discordantes (es decir: una prueba positiva, segunda prueba negativa), pues según la OMS es necesario dos pruebas positivas para el diagnóstico certero por *T. cruzi*. (Figura creada con BioRender.com).

Las pruebas Western Blot o Dot Blot también se emplean para confirmar la infección mediante el reconocimiento de antígenos específicos. El TESA blot (*Trypanosoma Excreted secreted antigens*) se utiliza en algunos países de América Latina para la confirmación del serodiagnóstico (Umezawa et al, 2009).

**2d-** Las Pruebas de Diagnóstico Rápido **-RDT-** (del inglés, "*Rapid Diagnostic Test*") son una alternativa valiosa para regiones remotas, donde las demoras en el procesamiento de las pruebas de ELISA dificultan el diagnóstico de infecciones crónicas por *T. cruzi* (Angheben et al, 2019). Estos ensayos inmunocromatográficos de RDT son similares a los que se utilizan para el diagnóstico del embarazo, el VIH, etc. En el caso de infecciones por *T. cruzi*, se sensibiliza una membrana con varios antígenos recombinantes y se pone en contacto con la muestra del paciente (Figura 4). Algunos de ellos trabajan con un pequeño volumen de sangre entera que se puede obtener por pinchazo en el dedo, lo que facilita mucho la logística y la predisposición de los pacientes a hacerse la prueba. No requieren equipo específico para la incubación o lectura de resultados y permiten una rápida entrega de resultados entre 10 min a menos de 1 hora, lo que facilita que la persona analizada pueda salir de la consulta con un resultado.

#### ■ ALCANCES, LIMITACIONES Y PERSPECTIVAS

Todavía son necesarias mejoras adicionales en los algoritmos y métodos de diagnóstico, así como un acceso más amplio a ellos, para poder controlar la enfermedad de Chagas. En las encuestas epidemiológicas y el diagnóstico de sujetos con infección crónica, se espera que las pruebas rápidas amplíen el acceso al diagnóstico en grandes áreas don-

de comúnmente no se encuentran laboratorios bien equipados y personal calificado (Luquetti et al, 2003; Shah et al, 2014). Sería ideal contar con un único método serológico rápido (RDT) para diagnosticar Chagas en áreas endémicas.

También se requieren métodos más sencillos y rápidos de extracción de ácidos nucleicos para fines de diagnóstico molecular en puntos de atención de salud, de baja complejidad y equipamiento no sofisticado. Estudios prospectivos de campo son necesarios para establecer su verdadero potencial para el diagnóstico de la enfermedad aguda, incluida la transmisión congénita. En este sentido, es necesario reevaluar la precisión de la detección molecular de la infección a partir de muestras de sangre de cordón umbilical para un diagnóstico precoz del Chagas congénito. Todavía no está claro cuál es la tasa de resultados falsos positivos cuando se usa esta fuente de muestra, ya que es probable que pueda contaminarse con ADN del parásito de la sangre materna y, por lo tanto, dé lugar a detecciones de falsos positivos (Benatar et al, 2021).

Por otro lado, dado que varios estudios reportaron el uso de sangre seca en papel filtro tanto para diagnóstico serológico (Zicker et al, 1990; Holguín et al, 2013) como para detectar ADN parasitario, (Sánchez et al, 2016) explorando el uso de las tarjetas Whatman 903 actualmente empleadas para el tamizaje neonatal de enfermedades genéticas (Besuschio et al, 2020) o tarjetas FTA, (Ahmed et al, 2011; Hashimoto et al, 2019), el uso de estos soportes sólidos sería muy interesante para apoyar los ensayos de diagnóstico molecular, una vez que se demuestre una alta sensibilidad y especificidad. Su combinación con un sistema de aislamiento de ADN de bajo costo con una impresora 3D modi-

ficada ya se ha explorado, (Chan et al, 2018; Wehrendt et al, 2020), por lo que valdría la pena diseñar estudios para validarlos en terreno como diagnóstico de *T. cruzi*.

Por último, actualmente se están explorando métodos de diagnóstico más sensibles, rápidos y económicos basados en nanotecnología, que utilizan nano-biosensores capaces de detectar cantidades muy pequeñas del parásito (Castro-Sesquen et al, 2014) o basados en aptámeros -secuencias de ADN o ARN de cadena simple que adoptan la forma de estructuras tridimensionales únicas que reconocen un blanco específico con gran afinidad- (Nagarkatti, et al, 2014), lo que permitirá avanzar un paso más en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.

#### ■ REFERENCIAS

- Ahmed, H. A., MacLeod, E. T., Hide, G., Welburn, S. C., & Picozzi, K. (2011). The best practice for preparation of samples from FTA® cards for diagnosis of blood borne infections using African trypanosomes as a model system. *Parasites & vectors*, 4, 68.
- Alonso-Padilla, J., Gallego, M., Schijman, A. G., & Gascon, J. (2017). Molecular diagnostics for Chagas disease: up to date and novel methodologies. *Expert review of molecular diagnostics*, 17(7), 699–710.
- Angheben, A., Boix, L., Buonfrate, D., Gobbi, F., Bisoffi, Z., Pupella, S., Gandini, G., & Aprili, G. (2015). Chagas disease and transfusion medicine: a perspective from non-endemic countries. *Blood transfusion*, 13(4), 540–550.
- Angheben, A., Buonfrate, D., Cruciani, M., Jackson, Y., Alonso-

- Padilla, J., Gascon, J., Gobbi, F., Giorli, G., Anselmi, M., & Bisoffi, Z. (2019). Rapid immunochromatographic tests for the diagnosis of chronic Chagas disease in at-risk populations: A systematic review and meta-analysis. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(5), e0007271.
- Apt B, W., Heitmann G, I., Jercic L, M. I., Jofré M, L., Muñoz C Del V, P., Noemí H, I., San Martín V, A. M., Sapunar P, J., Torres H, M., & Zulantay A, I. (2008). Parte V. Diagnóstico de laboratorio [Part V. Laboratory diagnosis of Chagas disease]. *Revista chilena de infectología : organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectología*, 25(5), 380–383.
- Benatar, A. F., Danesi, E., Besuschio, S. A., Bortolotti, S., Cafferata, M. L., Ramirez, J. C., Albizu, C. L., Scollo, K., Baleani, M., Lara, L., Agolti, G., Seu, S., Adamo, E., Lucero, R. H., Irazu, L., Rodriguez, M., Poeylaut-Palena, A., Longhi, S. A., Esteva, M., Althabe, F., ... Congenital Chagas Disease Study Group (2021). Prospective multicenter evaluation of real time PCR Kit prototype for early diagnosis of congenital Chagas disease. *EBioMedicine*, 69, 103450.
- Besuschio, S. A., Llano Murcia, M., Benatar, A. F., Monnerat, S., Cruz, I., Picado, A., Curto, M., Kubota, Y., Wehrendt, D. P., Pavia, P., Mori, Y., Puerta, C., Ndung'u, J. M., & Schijman, A. G. (2017). Analytical sensitivity and specificity of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) kit prototype for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in human blood samples. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(7), e0005779.
- Besuschio, S. A., Picado, A., Muñoz-Calderón, A., Wehrendt, D. P., Fernández, M., Benatar, A., Diaz-Bello, Z., Irurtia, C., Cruz, I., Ndung'u, J. M., Cafferata, M. L., Montenegro, G., Sosa Estani, S., Lucero, R. H., Alarcón de Noya, B., Longhi, S. A., & Schijman, A. G. (2020). *Trypanosoma cruzi* loop-mediated isothermal amplification (*Trypanosoma cruzi* Loopamp) kit for detection of congenital, acute and Chagas disease reactivation. *PLoS neglected tropical diseases*, 14(8), e0008402.
- Carlier, Y., Altcheh, J., Angheben, A., Freilij, H., Luquetti, A. O., Schijman, A. G., Segovia, M., Wagner, N., & Albajar Vinas, P. (2019). Congenital Chagas disease: Updated recommendations for prevention, diagnosis, treatment, and follow-up of newborns and siblings, girls, women of childbearing age, and pregnant women. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(10), e0007694.
- Castro-Sesquen, Y. E., Gilman, R. H., Galdos-Cardenas, G., Ferrufino, L., Sánchez, G., Valencia Ayala, E., Liotta, L., Bern, C., Luchini, A., & Working Group on Chagas Disease in Bolivia and Peru (2014). Use of a novel chagas urine nanoparticle test (chunap) for diagnosis of congenital chagas disease. *PLoS neglected tropical diseases*, 8(10), e3211.
- Cerisola, J. A., Rohwedder, R. W., & Del Prado, C. E. (1971). Rendimiento del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica humana utilizando ninfas de diferentes especies de triatominos [Yield of xenodiagnosis in human chronic Chagas' infection using nymphs of different species of triatomid bugs]. *Boletín chileno de parasitología*, 26(1), 57–58.
- Chan, K., Wong, P. Y., Parikh, C., & Wong, S. (2018). Moving toward rapid and low-cost point-of-care molecular diagnostics with a repurposed 3D printer and RPA. *Analytical biochemistry*, 545, 4–12.
- de Castro, A. M., Luquetti, A. O., Rassi, A., Chiari, E., & Galvão, L. M. (2006). Detection of parasitemia profiles by blood culture after treatment of human chronic *Trypanosoma cruzi* infection. *Parasitology research*, 99(4), 379–383.
- Del-Rei, R. P., Leony, L. M., Celedon, P., Zanchin, N., Reis, M., Gomes, Y. M., Schijman, A. G., Longhi, S. A., & Santos, F. (2019). Detection of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies by chimeric antigens in chronic Chagas disease-individuals from endemic South American countries. *PloS one*, 14(4), e0215623.
- dos Santos, A. H., da Silva, I. G., & Rassi, A. (1995). Estudo comparativo entre o xenodiagnóstico natural e o artificial, em chagásicos crônicos [A comparative study between natural and artificial xenodiagnosis in chronic Chagas' disease patients]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 28(4), 367–373.
- Freilij H, Altcheh J. (1994) Chagas congénito. In: *Enfermedad de Chagas*, Ed. Storino R, Milei J. Buenos Aires, Edit. Doyma.
- Freitas, J. M., Lages-Silva, E., Crema, E., Pena, S. D., & Macedo, A. M. (2005). Real time PCR strategy for the identification of major lineages of *Trypanosoma cruzi* directly in chronically infected human tissues. *International journal for parasitology*, 35(4), 411–417.
- Hashimoto, M., Bando, M., Kido, J. I., Yokota, K., Mita, T., Kajimoto, K., & Kataoka, M. (2019). Nu-

- cleic acid purification from dried blood spot on FTA Elute Card provides template for polymerase chain reaction for highly sensitive Plasmodium detection. *Parasitology international*, 73, 101941.
- Holguín, A., Norman, F., Martín, L., Mateos, M. L., Chacón, J., López-Vélez, R., & Pérez-Molina, J. A. (2013). Dried blood as an alternative to plasma or serum for *Trypanosoma cruzi* IgG detection in screening programs. *Clinical and vaccine immunology : CVI*, 20(8), 1197–1202.
- Jimenez-Coello, M., Shelite, T., Castellanos-Gonzalez, A., Saldarriaga, O., Rivero, R., Ortega-Pacheco, A., Acevedo-Arcique, C., Amaya-Guardia, K., Garg, N., Melby, P., & Travi, B. L. (2018). Efficacy of Recombinase Polymerase Amplification to Diagnose *Trypanosoma cruzi* Infection in Dogs with Cardiac Alterations from an Endemic Area of Mexico. *Vector borne and zoonotic diseases (Larchmont, N.Y.)*, 18(8), 417–423.
- Luquetti, A. O., Ponce, C., Ponce, E., Esfandiari, J., Schijman, A., Revollo, S., Añez, N., Zingales, B., Ramgel-Aldao, R., Gonzalez, A., Levin, M. J., Umezawa, E. S., & Franco da Silveira, J. (2003). Chagas' disease diagnosis: a multicentric evaluation of Chagas Stat-Pak, a rapid immunochromatographic assay with recombinant proteins of *Trypanosoma cruzi*. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 46(4), 265–271.
- Luquetti AO, Rassi A. In: Brener Z, Andrade AZ, Barral-Neto M, editors. (2000) *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas. Diagnostico Laboratorial da Infecção pelo Trypanosoma cruzi*. 2nd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 344-378.
- Luquetti AO, Schmuñis GA. In: Telleria J, Tibayrenc M. (2017) *American Trypanosomiasis. Chagas Disease. One Hundred Years of Research. Diagnosis of Trypanosoma cruzi Infection*. 2nd. Edition. Elsevier, Amsterdam, 29: 687-730.
- Mora, M. C., Sanchez Negrette, O., Marco, D., Barrio, A., Ciaccio, M., Segura, M. A., & Basombrío, M. A. (2005). Early diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection using PCR, hemoculture, and capillary concentration, as compared with delayed serology. *The Journal of parasitology*, 91(6), 1468–1473.
- Mori, Y., Nagamine, K., Tomita, N., & Notomi, T. (2001). Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochemical and biophysical research communications*, 289(1), 150–154.
- Mucci, J., Carmona, S. J., Volcovich, R., Altcheh, J., Bracamonte, E., Marco, J. D., Nielsen, M., Buscaglia, C. A., & Agüero, F. (2017). Next-generation ELISA diagnostic assay for Chagas Disease based on the combination of short peptidic epitopes. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(10), e0005972.
- Nagarkatti, R., de Araujo, F. F., Gupta, C., & Debrabant, A. (2014). Aptamer based, non-PCR, non-serological detection of Chagas disease biomarkers in *Trypanosoma cruzi* infected mice. *PLoS neglected tropical diseases*, 8(1), e2650.
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N., & Hase, T. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic acids research*, 28(12), E63.266
- Oliveira, E. C., Stefani, M. M., Luquetti, A. O., Vêncio, E. F., Moreira, M. A., Souza, C., & Rezen-de, J. M. (1993). *Trypanosoma cruzi* and experimental Chagas' disease: characterization of a stock isolated from a patient with associated digestive and cardiac form. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 26(1), 25–33.
- OMS - World Health Organization. (2015) Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates [Internet]. Geneva: WHO. Available from: <http://www.who.int/wer/2015/wer9006.pdf?ua=1>.
- OMS. (2014) Blood donor counselling: implementation guidelines, Geneva: World Health Organization.
- Organización Panamericana de la Salud (2019). Guía para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad de Chagas. [Spanish] Available at: <http://iris.paho.org/xmlui/handle/10665.2/49653>
- Pérez-Molina, J. A., & Molina, I. (2018). Chagas disease. *Lancet (London, England)*, 391(10115), 82–94.
- Piron, M., Fisa, R., Casamitjana, N., López-Chejade, P., Puig, L., Vergés, M., Gascón, J., Gómez i Prat, J., Portús, M., & Sauleda, S. (2007). Development of a real-time PCR assay for *Trypanosoma cruzi* detection in blood samples. *Acta tropica*, 103(3), 195–200.



- Rassi, A., Jr, Rassi, A., & Marin-Neto, J. A. (2010). Chagas disease. *Lancet* (London, England), 375(9723), 1388–1402.
- Sánchez, A. G., Alvarellos, E., Kohout, I., Rodríguez Schulz, D. G., Cordeiro, E., Caeiro, J. P., & Alvarellos, T. (2016). Detection of *Trypanosoma cruzi* and Treatment Monitoring by PCR from Dried Blood Spot Samples in Children. *Detección de Trypanosoma cruzi y Monitoreo del tratamiento con PCR en gotas de sangre en papel. Revista de la Facultad de Ciencias Médicas* (Cordoba, Argentina), 73(3), 176–180.
- Santos, E. F., Silva, Â., Leony, L. M., Freitas, N., Daltro, R. T., Regis-Silva, C. G., Del-Rei, R. P., Souza, W. V., Ostermayer, A. L., Costa, V. M., Silva, R. A., Ramos, A. N., Jr, Sousa, A. S., Gomes, Y. M., & Santos, F. (2020). Acute Chagas disease in Brazil from 2001 to 2018: A nationwide spatiotemporal analysis. *PLoS neglected tropical diseases*, 14(8), e0008445.
- Shah, V., Ferrufino, L., Gilman, R. H., Ramirez, M., Saenza, E., Malaga, E., Sanchez, G., Okamoto, E. E., Sherbuck, J. E., Clark, E. H., Galdos-Cardenas, G., Bozo, R., Flores-Franco, J. L., Colanzi, R., Verastegui, M., & Bern, C. (2014). Field evaluation of the In-Bios Chagas detect plus rapid test in serum and whole-blood specimens in Bolivia. *Clinical and vaccine immunology : CVI*, 21(12), 1645–1649.
- Shikanai-Yasuda, M. A., & Carvalho, N. B. (2012). Oral transmission of Chagas disease. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 54(6), 845–852.
- Strout RG. (1962). A method for concentrating hemoflagellates. *The Journal of parasitology*, 48, 100.
- Umezawa, E. S., Bastos, S. F., Coura, J. R., Levin, M. J., Gonzalez, A., Rangel-Aldao, R., Zingales, B., Luquetti, A. O., & da Silveira, J. F. (2003). An improved serodiagnostic test for Chagas' disease employing a mixture of *Trypanosoma cruzi* recombinant antigens. *Transfusion*, 43(1), 91–97.
- Umezawa, E. S., Souza, A. I., Pinedo-Cancino, V., Marcondes, M., Marcili, A., Camargo, L. M., Camacho, A. A., Stolf, A. M., & Teixeira, M. M. (2009). TESA-blot for the diagnosis of Chagas disease in dogs from co-endemic regions for *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma evansi* and *Leishmania chagasi*. *Acta tropica*, 111(1), 15–20.
- Wehrendt, D. P., Gómez-Bravo, A., Ramirez, J. C., Cura, C., Pech-May, A., Ramsey, J. M., Abril, M., Guhl, F., & Schijman, A. G. (2019). Development and evaluation of a duplex TaqMan qPCR assay for detection and quantification of *Trypanosoma cruzi* infection in domestic and sylvatic reservoir hosts. *Parasites & vectors*, 12(1), 567.
- Zicker, F., Smith, P. G., Luquetti, A. O., & Oliveira, O. S. (1990). Mass screening for *Trypanosoma cruzi* infections using the immunofluorescence, ELISA and haemagglutination tests on serum samples and on blood eluates from filter-paper. *Bulletin of the World Health Organization*, 68(4), 465–471.

# QUIMIOTERAPIA PARA LA ENFERMEDAD DE CHAGAS. AVANCES Y PERSPECTIVAS

**Palabras clave:** *Trypanosoma cruzi*; enfermedad de Chagas; quimioterapia; agentes antiparasitarios.  
**Key words:** *Trypanosoma cruzi*; Chagas disease; chemotherapy; antiparasitic agents.

*Trypanosoma cruzi* es el parásito responsable de la tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas, la cual es endémica desde el sur de los Estados Unidos hasta el sur de Argentina. Esta enfermedad es una infección oportunista bien reconocida en pacientes con SIDA. El número de personas infectadas con *T. cruzi* disminuyó de 18 millones en 1991 a 6 millones en 2010, pero sigue siendo la enfermedad parasitaria más prevalente en América. La quimioterapia actual para la enfermedad de Chagas sigue siendo deficiente. Los dos medicamentos disponibles para el tratamiento, nifurtimox y benznidazol están asociados a tratamientos prolongados con efectos secundarios graves. Además, benznidazol está aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos solamente para uso pediátrico; por lo tanto, en ese país, sólo está disponible bajo protocolos CDC. Un blanco molecular útil para la identificación de nuevas moléculas contra los trypanosomátidos es la biosíntesis de isoprenoides. Las enzimas involucradas en la síntesis de esteroides y difosfato de farnesilo, se consideran como excelentes blancos moleculares contra parásitos patógenos. Sobre la base de la hipótesis que la biosíntesis de isoprenoides constituye un target válido para el tratamiento de enfermedades parasitarias, se han desarrollado numerosos compuestos y evaluado su acción como agentes antiparasitarios contra *T. cruzi*. También existen otras rutas metabólicas que serán tratadas brevemente.

*Trypanosoma cruzi* is the parasite responsible for American trypanosomiasis or Chagas disease, which is endemic from the southern United States to southern Argentina. This disease is a well-recognized opportunistic infection in AIDS patients. The number of people infected with *T. cruzi* declined from 18 million in 1991 to 6 million in 2010, but it remains the most prevalent parasitic disease in America. Current chemotherapy for Chagas disease remains deficient. The two drugs available for treatment, nifurtimox and benznidazole are associated with prolonged treatments with serious side effects. In addition, benznidazole is approved by the Food and Drug Administration (FDA) of the United States only for pediatric use; therefore, in that country, it is only available under CDC protocols. A useful molecular target for the identification of new molecules against trypanosomatids is the biosynthesis of isoprenoids. Enzymes involved in the synthesis of sterols and farnesyl diphosphate are considered as excellent molecular targets against pathogenic parasites. Based on this hypothesis, numerous compounds have been developed and evaluated as antiparasitic agents against *T. cruzi*. There are also other metabolic pathways that will be briefly treated.

El médico brasileño Carlos Chagas describió por primera vez a la tripanosomiasis americana, más conocida ahora como la enfermedad de Chagas, como una parasitosis crónica causada por el parásito kinetoplastido *Trypanosoma cruzi* (Rodríguez y col., 2016). Desde la primera manifestación clínica de la enfermedad de Chagas en un paciente con SIDA en 1990 (Del Castillo y col., 1990), se han informado numerosos casos de reactivación de la enferme-

dad de Chagas en estos pacientes inmunosuprimidos (Vaidian y col., 2004). El sistema nervioso central es el sitio más comúnmente afectado a través de meningoencefalitis en aproximadamente el 75% de los casos (Del Castillo y col., 1990, Gluckstein y col., 1992; Vaidian y col., 2004). También el corazón se observa habitualmente afectado con miocarditis (Vaidian y col., 2004). El número de personas infectadas con infección por *T. cruzi* disminuyó de

18 millones en 1991 a 6 millones en 2010 gracias a las políticas públicas para el control de los vectores de las enfermedades de Chagas, insectos como *Triatoma infestans* (vinchuca), *Rhodnius prolixus*, *T. dimidiata*, *T. pseudomaculata*, *Pastrongylus megistus* y otras especies (selváticas o domésticas). [3]. Sin embargo, la enfermedad de Chagas sigue siendo la enfermedad parasitaria más prevalente en América. Al igual que otros trypanosomátidos, *T. cruzi* tiene un

## Juan Bautista Rodríguez

Departamento de Química Orgánica and UMYMFOR (CONICET-FCEyN), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Pabellón 2, Ciudad Universitaria, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: jbr@qo.fcen.uba.ar

ciclo de vida complejo que implica la actividad de succión sanguínea entre insectos Reduviid y los mamíferos huéspedes (Brener, 1973). El parásito se multiplica en el intestino del insecto en la morfología conocida como epimastigote y se disemina como trypomastigotes metacíclicos, una forma no divisible y altamente infectiva presentes en las heces del insecto. Luego, invade al huésped por la contaminación de la mucosa intacta o las heridas producidas por la actividad de succión sanguínea del vector. En el huésped, una vez producida la invasión, *T. cruzi* se diferencia a la forma amastigote donde prolifera intracelularmente y, posteriormente, se libera al torrente sanguíneo como trypomastigotes no divisibles con la capacidad de invadir nuevos tejidos como se ilustra sucintamente en la Figura 1 (Brener, 1973). La transmisión de

la enfermedad de Chagas también puede ocurrir a través de la placenta o por transfusión sanguínea, la cual es responsable de la aparición de esta enfermedad en zonas geográficas donde no es endémica, probablemente debido a viajes e inmigración de personas infectadas de otras áreas. Como la forma amastigote es la forma divisible clínicamente más relevante de *T. cruzi*, se concentra en esta forma todo el esfuerzo para el desarrollo de nuevos tratamientos para la enfermedad, en particular, el diseño de nuevas moléculas con un modo de acción conocido.

En la actualidad no existen vacunas para prevenir la infección por *T. cruzi*. La quimioterapia para el tratamiento de la enfermedad de Chagas se basa en dos fármacos descubiertos empíricamente cuyas estructuras químicas se ilustran en

la Figura 2: nifurtimox (Lampit®, Bayer - El Salvador, 1) y benznidazol (Abarax®, Elea - Argentina, 2), los cuales son efectivos para lograr curas completas en al menos el 50% de las infecciones recientes (Urbina y Docampo, 2003). Ambos medicamentos producen efectos secundarios severos como vómitos, anorexia, neuropatía periférica y dermatopatía alérgica. Tanto nifurtimox como benznidazol, no son medicamentos aprobados por la FDA. En los Estados Unidos están disponibles exclusivamente bajo protocolos de investigación CDC (Center for Disease Control and Prevention). Sin embargo, benznidazol ha sido aprobado recientemente para infecciones agudas en niños. (Alpern y col., 2017). A partir de 2012, Laboratorios ELEA y Maprimed producen benznidazol. Además, estos fármacos no son adecuados para mujeres

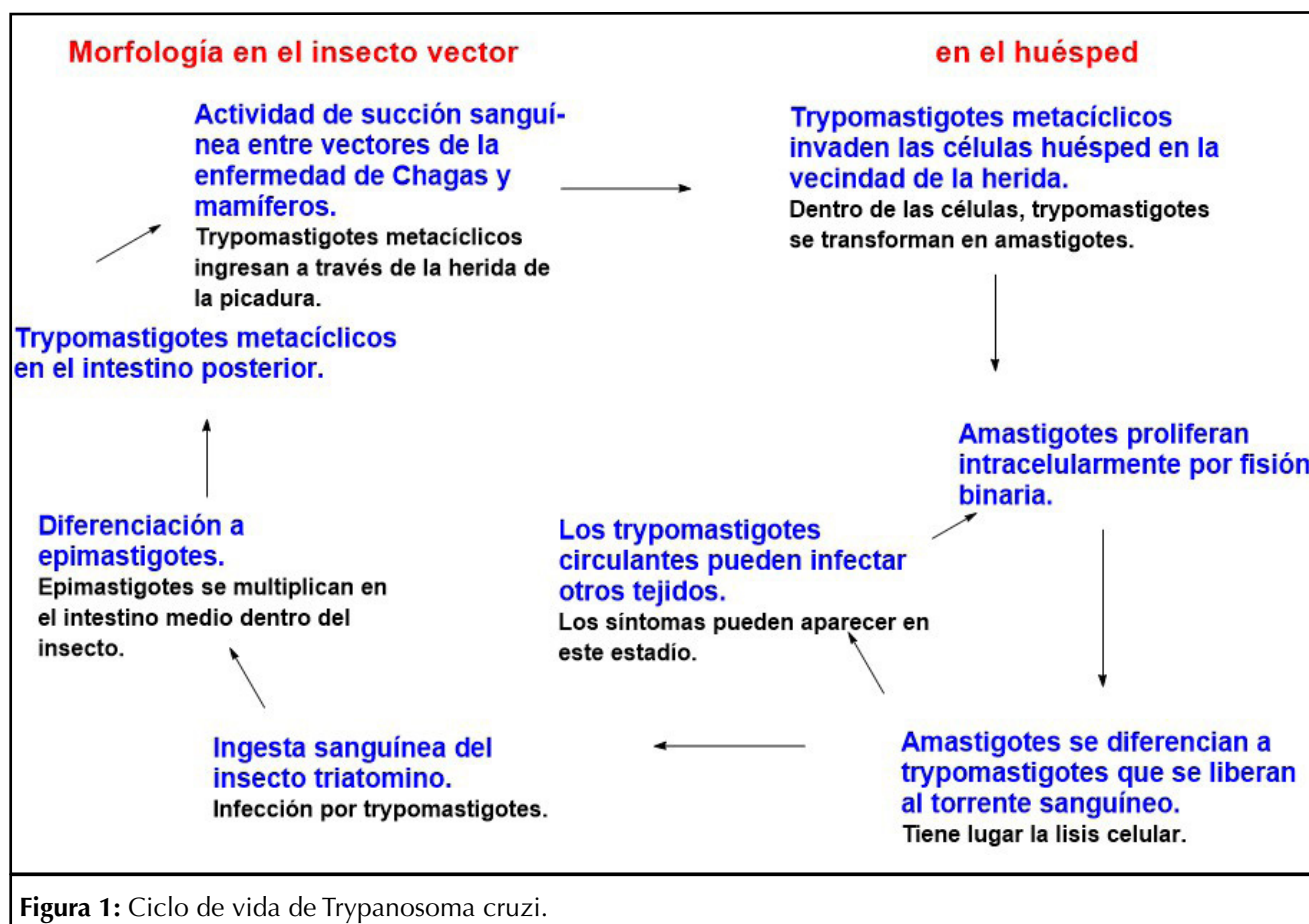


Figura 1: Ciclo de vida de Trypanosoma cruzi.

embarazadas (Docampo y Moreno, 1985). Los efectos tóxicos de estos fármacos están asociados a su modo de acción, es decir, a cómo actúan selectivamente en células del parásito sobre las células del huésped. Las primeras son más susceptibles al estrés oxidativo que generan estos compuestos afectando en menor medida a las células del huésped, de ahí su efecto tóxico. Finalmente, la principal debilidad de estos dos fármacos es su modesta actividad antiparasitaria en la fase crónica de la enfermedad. Por último, en ausencia de una reconstitución inmune, se requiere una terapia supresora crónica, este hecho está asociado a la neurotoxicidad provocada por estas moléculas (Rodríguez y col., 2016a).

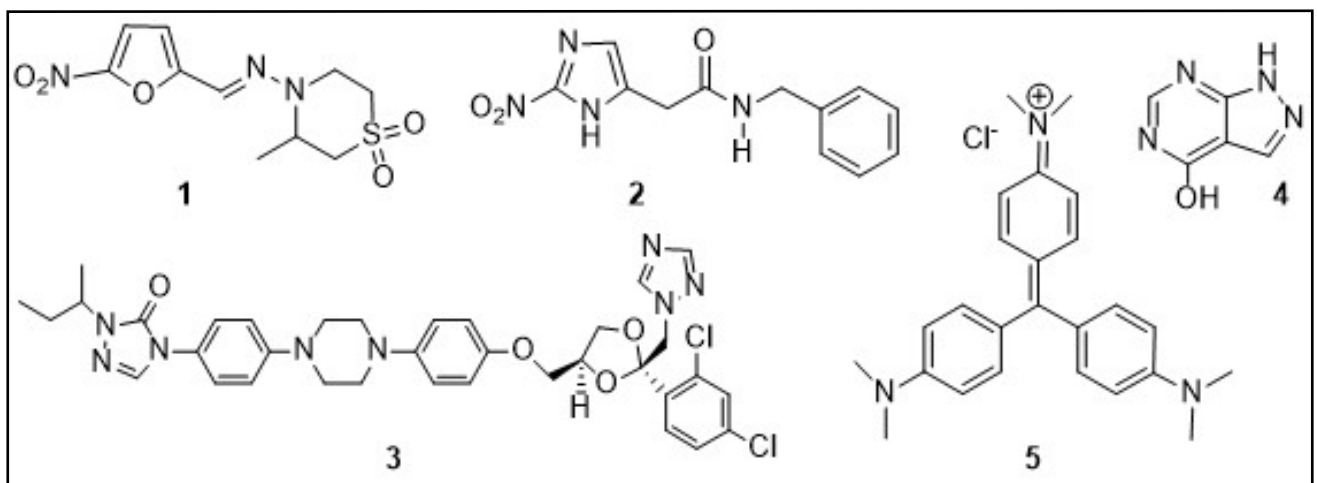
Otros fármacos disponibles para el tratamiento de la enfermedad de Chagas son itraconazol (3) y alopurinol (4). Sin embargo, ninguno de estos compuestos ofrece tratamientos satisfactorios en las etapas crónicas y agudas de la enfermedad (Urbina y Docampo, 2003). El colorante violeta de genciana (5) es un agente quimioproláctico que se ha empleado para prevenir la transmisión de la enfermedad de Chagas a través de transfusiones. Desafortunadamente, este medicamento le da un

color púrpura a la sangre y mancha la piel. Además, se han planteado problemas de seguridad, ya que se demostró que era cancerígeno en modelos animales (Figura 2) (Urbina y Docampo, 2003).

La estrategia racional para el desarrollo de una quimioterapia para el tratamiento de cualquier enfermedad parasitaria se basa en poseer un conocimiento cabal de la bioquímica y fisiología del microorganismo involucrado y sus deferencias con el huésped (Rodríguez y col., 2016a). Este conocimiento, en el caso de *T. cruzi*, ha conducido al descubrimiento de nuevos caminos metabólicos y enzimas claves para el diseño de nuevos fármacos. De esta manera, basándose en las diferencias metabólicas entre el huésped mamífero y el parásito, se han establecido distintos blancos moleculares muy interesantes para el desarrollo de una quimioterapia segura, eficaz y que sea efectiva para todas las cepas de *T. cruzi* en distintas zonas geográficas. Se pueden mencionar como los blancos moleculares más destacados y que se tienen en cuenta en la actualidad para el diseño de nuevos fármacos a la biosíntesis de esteroides, al metabolismo del pirofosfato, a la biosíntesis de tripanotionona,

las cisteín proteasas, las metacaspasas, las metalopeptidasas, las proteín preniltransferasas y otras (Rodríguez y col., 2016a).

Es importante mencionar a la biosíntesis de esteroides como el blanco de nuevas drogas. En efecto, los trypanosomatidos como *T. cruzi* requieren de un estricto suministro de esteroides endógenos. Específicamente, de ergosterol, el cual es esencial para la membrana celular. Los mamíferos biosintetizan colesterol en lugar de ergosterol, por lo tanto, este metabolito no puede obtenerse del huésped. Los isoprenoides son compuestos esenciales de la maquinaria celular de todos los organismos vivos debido a su papel en una variedad de procesos biológicos. Se han descrito a numerosas enzimas de este camino biosintético en *T. cruzi*, involucradas en la biosíntesis de esteroides (Buckner y Urbina, 2012) y difosfato de farnesilo (Docampo y Moreno, 2001) y en prenilación proteica (Gelb y col., 2003), como excelentes blancos farmacológicos contra parásitos patógenos. A pesar de su variedad estructural y funcional, todos los isoprenoides derivan de un precursor común: difosfato de isopentenilo (IPP) y de su isómero, difosfato de dimetilalilo (DMAPP).



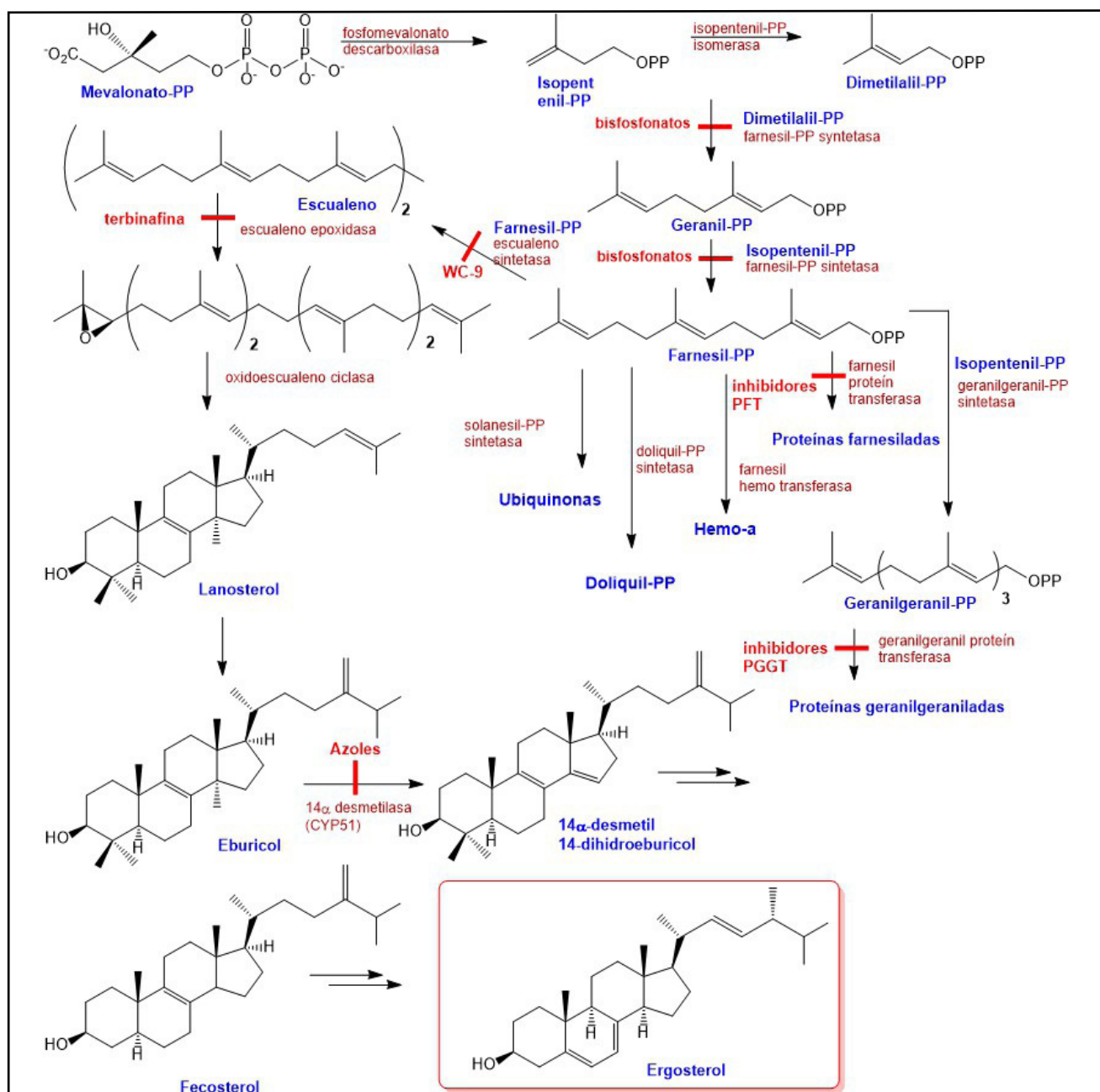
**Figura 2:** Principios activos para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

En *T. cruzi*, IPP se sintetiza sólo a través de la llamada ruta del mevalonato, que tiene a 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa) como enzima reguladora clave (Eberl y col., 2003).

Se han clonado hasta la fecha, en trypanosomátidos, los genes que codifican para farnesil difosfato sintetasa (FPPS) (Montalvetti y col., 2001,

2003). Además, ubiquinona 9 (UQ-9), el producto de condensación del ácido 4-hidroxibenzoico y difosfato de solanesilo (SPP, C45), está presente en *Leishmania spp*, *T. brucei*, *Crithida fasciculata* y *L. major*, los precursores marcados se incorporan a UQ sugiriendo la presencia de una solanesil difosfato sintetasa (SPPS) en *T. cruzi* (Ferella y col., 2006). Farnesil difosfato sintetasa (FPPS) cataliza

la condensación consecutiva de IPP con DMAPP y con difosfato de geranilo (GPP) para formar difosfato de farnesilo (FPP). FPP es el sustrato de las enzimas que catalizan el primer paso obligado para la biosíntesis de esteroides, ubiquinonas, dolicoles, hemo a y proteínas preniladas. FPP podría condensarse con una molécula adicional de IPP catalizado por geranilgeranil difosfato sintetasa



Esquema 1: Biosíntesis de isoprenoides en *Trypanosoma cruzi*.

(GGPPS) para dar lugar al isoprenoide de 20 carbonos GGPP. El gen FPPS parece ser esencial en todos los organismos (Rodríguez y col. 2016b). La comparación de la secuencia de aminoácidos de los FPPS de diferentes organismos, muestra la presencia de siete regiones conservadas que incluyen dos dominios ricos en aspartato, que son muy importantes para la acción catalítica y, muy probablemente, actúen como los sitios de unión para IPP y los sustratos alílicos. Hasta ahora todas las FPPS que se han caracterizado son enzimas homodiméricas que requieren iones metálicos divalentes como  $Mg^{2+}$  o  $Mn^{2+}$  para su actividad. Estas enzimas están localizadas en el citosol (Ferella y col., 2008). En el Esquema 1 se ilustra la biosíntesis de ergosterol siguiendo la ruta del mevalonato. Las barras rojas señalan inhibidores de la actividad enzimática de la enzima correspondiente.

Los azasteroles son conocidos inhibidores de  $\Delta^{24(25)}$ -esterol metiltransferasa. Este tipo de fármacos exhibieron efectos antiproliferativos selectivos contra los parásitos tripanosomátidos (Urbina, 2010). Por ejemplo, 22,26-azasterol (**6**) es un potente inhibidor de la actividad enzimática de la  $\Delta^{24(25)}$ -esterol metil-

transferasa. Esta actividad enzimática está asociada con una inhibición efectiva del crecimiento de células de *T. cruzi* *in vitro* e *in vivo*.

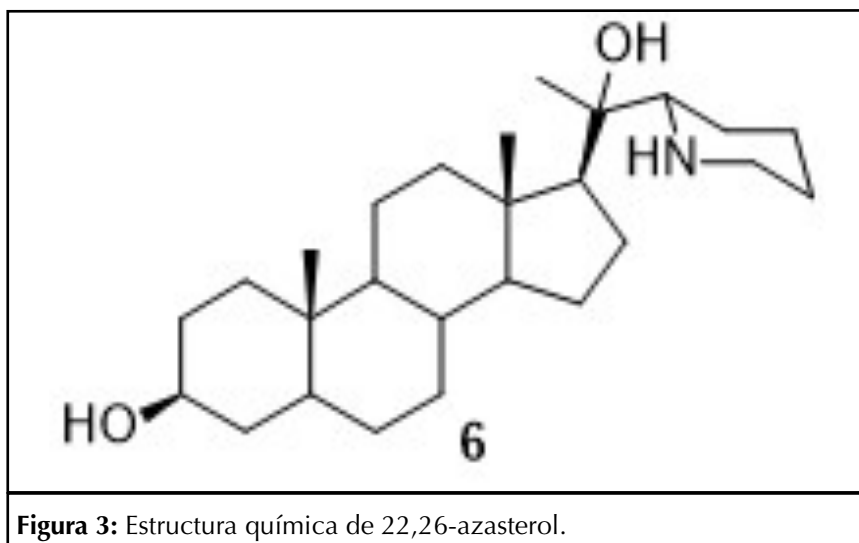
La biosíntesis de esteroides en hongos es similar a la correspondiente en tripanosomátidos, los fármacos utilizados actualmente como antifúngicos de amplio espectro podrían reutilizarse como agentes antiparasitarios. Tanto *T. cruzi* como hongos y levaduras requieren de esteroides endógenos específicos para su viabilidad y crecimiento celular. Si bien la mayoría de los inhibidores de la biosíntesis de esteroides clínicamente en uso no son capaces de inducir una cura parasitológica completa en la enfermedad de Chagas, algunos ejemplos resultan interesantes para su discusión. Un agente antifúngico de amplio espectro es ketoconazol (**7**), un derivado del imidazol que se comporta como un potente inhibidor de la proliferación de *T. cruzi* inhibiendo la actividad enzimática de  $14\alpha$ -desmetilasa (Lepesheva y col., 2011, 2010).

El derivado bis-triazólico conocido como D0870 (**8**) es un ejemplo interesante de un agente antifúngico para controlar infecciones con *T. cruzi*. Este compuesto puede lograr

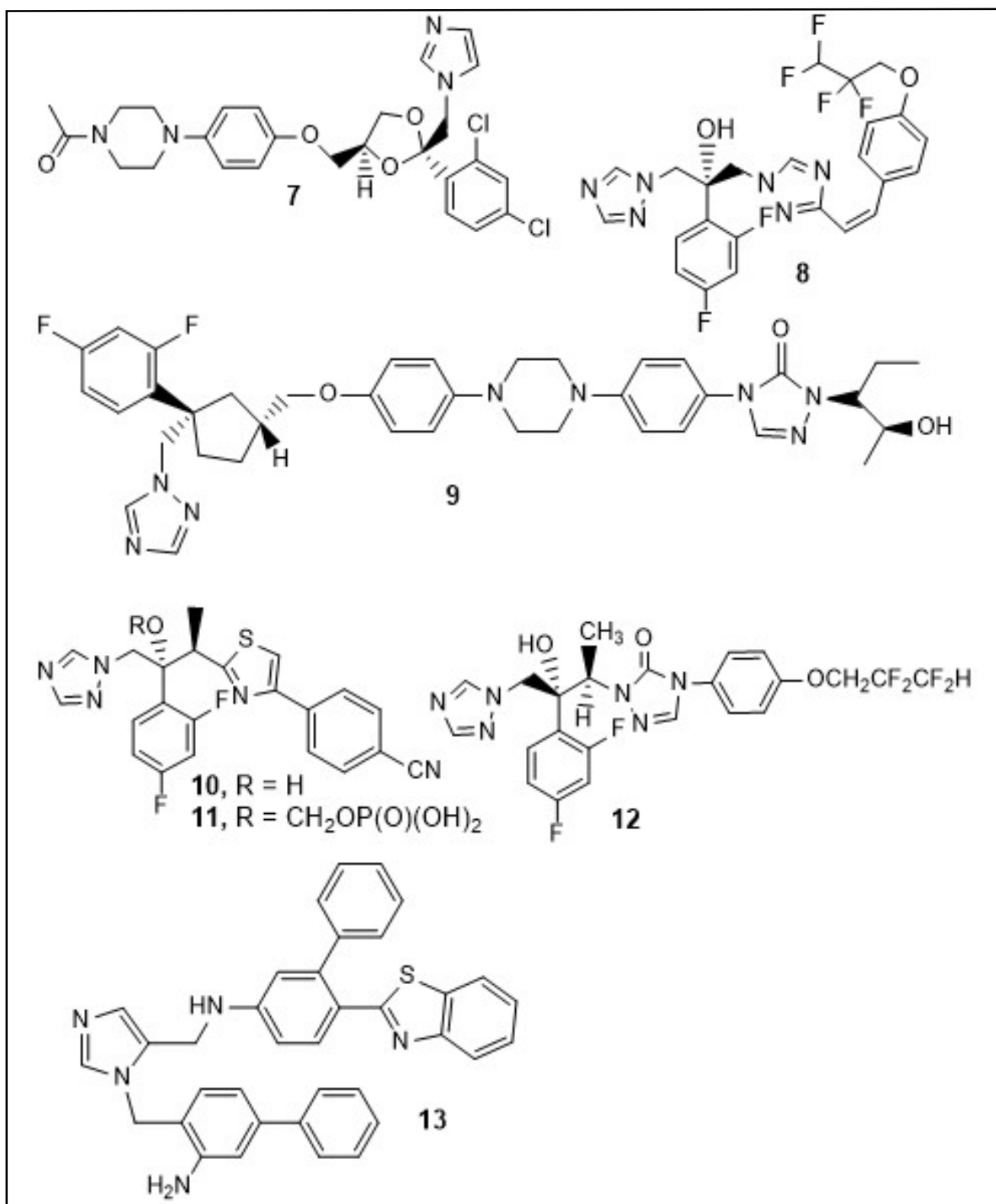
cura parasitológica completa en modelos murinos de las etapas aguda y crónica de esta enfermedad (Urbina, 2010).

Por otro lado, posaconazol (**9**) es un derivado de triazol que bloquea a  $24\alpha$ -desmetilasa exhibiendo una actividad antifúngica de amplio espectro y una acción inhibitoria de crecimiento en células de *T. cruzi*. Además, es efectivo contra una variedad de cepas de *T. cruzi* resistentes a benznidazol, nifurtimox y ketoconazol. Ravuconazol (**10**) es otro agente antifúngico potente y de amplio espectro que posee una potente acción inhibitoria contra la proliferación de *T. cruzi* inhibiendo la biosíntesis de ergosterol a nivel de esteroide  $C_{14\alpha}$  desmetilasa dependiente de citocromo P-450. Una prodroga de ravuconazol muy interesante es el fosfonooximetil derivado **11** con mucha mejor solubilidad acuosa (Ueda y col. 2003). Esta prodroga libera ravuconazol por hidrólisis catalizada por una fosfatasa alcalina para dar el hemiacetal correspondiente, el cual es muy lábil liberando ravuconazol (Ueda y col. 2003). Este compuesto estuvo en fases clínicas pero finalmente no resultó apropiado. TAK-187 (**12**) es otro antifúngico y un inhibidor nanomolar del crecimiento de amastigotes de *T. cruzi*. Recientemente, se han previsto compuestos más simples y baratos en comparación con la estructura química del posaconazol que dan lugar a potentes inhibidores de la proliferación de *T. cruzi*, como **13** que actúan en el rango bajo nanomolar (Lepesheva, 2013). Las estructuras químicas de estas drogas antifúngicas se ilustran en la Figura 4.

En resumen, la enzima esteroide  $14\alpha$  desmetilasa constituye un blanco molecular válido para el diseño de fármacos para una quimioterapia segura de la enfermedad de Chagas.



**Figura 3:** Estructura química de 22,26-azasterol.



**Figura 4:** Estructuras químicas de inhibidores representativos de la actividad enzimática de 14 $\alpha$  desmetilasa que presentan una acción inhibitoria efectiva del crecimiento de *T. cruzi*.

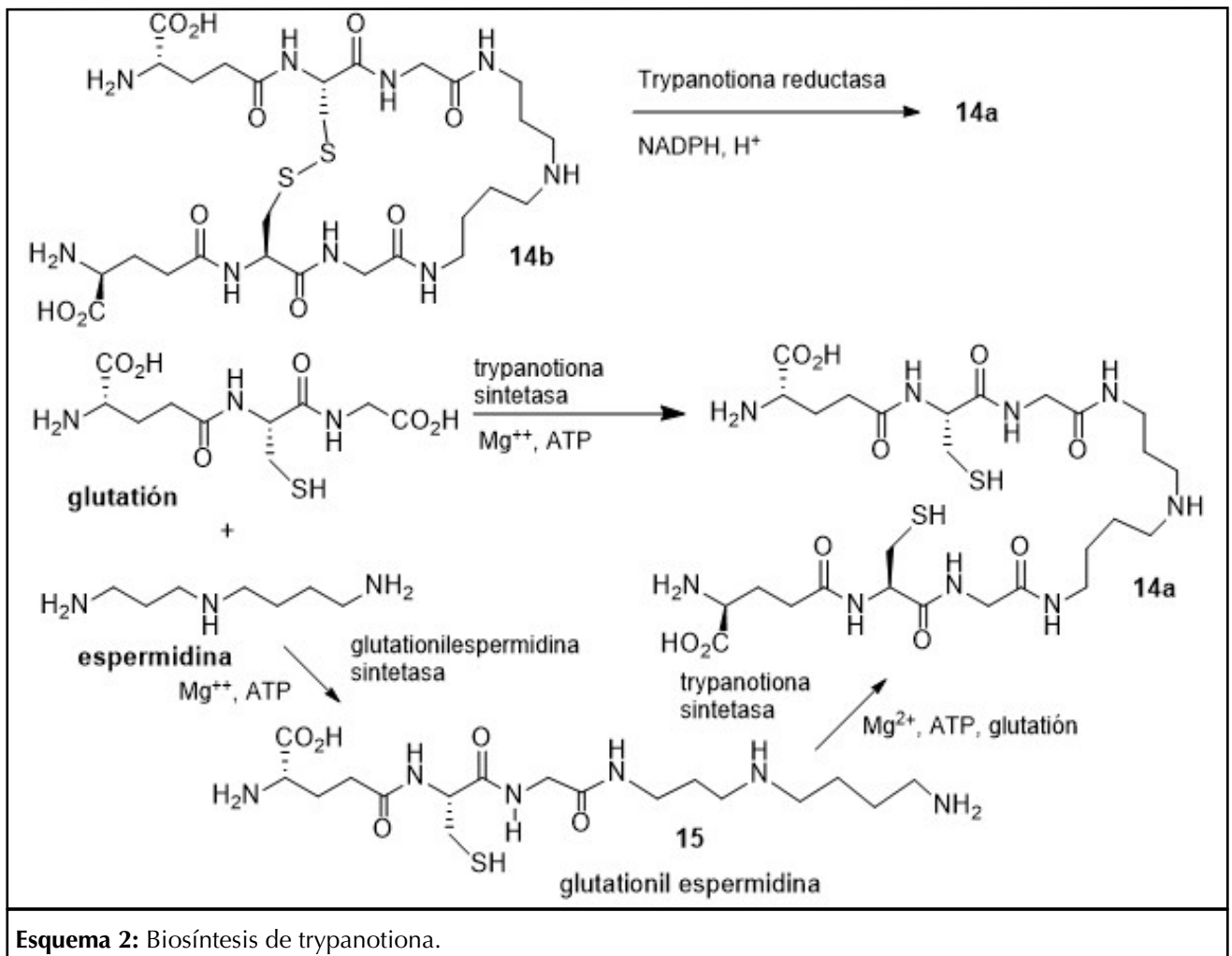
Sin embargo, a pesar que posoconazol y ravuconazol habían mostrado gran potencialidad, no superaron las fases clínicas de evaluación (Clayton, 2010). Una limitación adicional de posoconazol es su costo elevado que podría restringir su uso.

Otro blanco molecular de interés es el mecanismo particular para controlar el equilibrio redox celular basado en trypanotona ( $N^1, N^8$ -bis-glutationilespermidina; **14**) y la flavoenzima dependiente de NADPH trypanotona reductasa que protegen las células de parásitos del estrés oxidativo del mismo modo a que lo hace glutatión y glutatión reductasa en mamíferos. Los dos últimos pasos de la biosíntesis de trypanotona son los más relevantes como blancos

moleculares ya que la enzima involucrada trypanotona sintetasa (TryS) no tienen contraparte en mamíferos. La biosíntesis de trypanotona se detalla en el Esquema 2. Aún no está claro cómo tiene lugar la conjugación en todos los parásitos del orden Kinetoplastida. Estas enzimas no están presentes en mamíferos, y por esta razón, se puede postular que el defecto de este metabolito conduciría a una inhibición del crecimiento del parásito (Ravaschino y col., 2006). Si bien este metabolito ha despertado el interés de muchos grupos de investigación para una quimioterapia alternativa y moderna, aún no se ha encontrado una molécula con gran potencial.

Como se mencionó anteriormen-

te (FPPS) es una enzima clave en la biosíntesis de isoprenoides. La sustitución del átomo de oxígeno puente de pirofosfato (**16**) por grupos metileno sustituidos da lugar a compuestos metabólicamente estables conocidos como bifosfonatos (**17**), diseñados inicialmente para imitar la estructura química del pirofosfato. Varios bifosfonatos como etidronato, clodronato, pamidronato, alendronato, risedronato y otros están en uso clínico para el tratamiento de trastornos óseos (Rodríguez y col., 2016b). La acción selectiva sobre el hueso se basa en la unión del grupo bisfosfonato al mineral óseo. Los acidocalcisomas, organelas ricas en calcio y magnesio, son equivalentes en composición química al mineral óseo; entonces, la acumulación





de bisfosfonatos en estas organelas, como lo hacen en el mineral óseo, facilita la acción antiparasitaria. Por estas razones, estos compuestos fueron inhibidores del crecimiento de *T. cruzi* (amastigotes) con valores de  $ED_{50}$  en el rango bajo micromolar. **18** surge como miembro representativo ( $ED_{50} = 18 \mu\text{M}$ ). Esta actividad celular correlacionaba con la inhibición de la actividad enzimática de TcFPPS, siendo un inhibidor competitivo ( $IC_{50} = 1.94 \mu\text{M}$ ;  $K_i = 0.40 \mu\text{M}$ ). Los estudios de estructura / actividad (SAR) indicaron que la sustitución del grupo hidroxilo en C-1 en **18** por un átomo de hidrógeno resultaba en un compuesto menos eficaz (**20**) ya sea como un inhibidor de la enzima (TcFPPS) o contra células de *T. cruzi*. Por otro lado, el derivado **21**, era un compuesto eficaz contra TcFPPS en el rango nanomolar, aunque modesto contra la proliferación de *T. cruzi*. Además, los  $\alpha$ -fluoro derivados **22** y **23** no fueron efectivos contra amastigotes de *T. cruzi* ni contra la enzima blanco TcFPPS. Los derivados de 2-alkil(amino)etil-1,1-bisfosfonatos resultaron inhibidores extremadamente potentes de la proliferación

de *T. cruzi* cuyo blanco molecular era TcFPPS con valores  $IC_{50}$  en el rango bajo nanomolar, destacándose **24–26** en este tipo de bisfosfonatos. **27** fue un ejemplo interesante de un bisfosfonato lineal, diseñado con el fin de optimizar las estructuras **24–26**, teniendo en cuenta que la presencia de un grupo atractor de electrones (HO-) en C-1 mejoraría la capacidad de coordinar  $\text{Mg}^{2+}$ , aumentaría  $pK_a$  y también por el hecho de que la mayoría de los bisfosfonatos clínicamente en uso poseen esta funcionalidad en C-1. **27** resultó libre de actividad contra el crecimiento de *T. cruzi* y TcFPPS, pero fue efectivo contra FPPS de otros parásitos. Los bisfosfonatos lineales que contienen azufre como **28** y **29** no fueron efectivos en *T. cruzi*. Tampoco lo fue la sulfona **30** que resultó muy efectiva contra *Toxoplasma gondii*, el agente responsable de la toxoplasmosis. El derivado de metilsulfonio **31** ha demostrado ser un inhibidor del crecimiento moderado contra *T. cruzi* como *T. gondii*, pero un inhibidor muy potente hacia TcFPPS. Finalmente, los derivados  $\alpha$ -fluoro-2-alkil(amino)etil deriva-

dos **32** resultaron, inesperadamente, libres de actividad celular (Galaka y col., 2019). Las estructuras de estos bisfosfonatos se presentan en la Figura 5.

Dado que los trypanosomátidos tienen un requerimiento estricto de esteroides endógenos específicos y no utilizan la profusa fuente de colesterol presente en el huésped, los inhibidores de la biosíntesis de esteroides, con las propiedades farmacocinéticas apropiadas, pueden inducir cura parasitológica radical tanto en modelos agudos como crónicos de la enfermedad de Chagas (Urbina, 2010). Tiocianato de 4-fenoxifenoxietilo (**33**; WC-9) es un droga líder que presenta valores de  $ED_{50}$  en el rango bajo nanomolar contra la forma divisible clínicamente más relevante de *T. cruzi* (amastigotes). Se encontró que el efecto inhibitorio de WC-9 estaba asociado a la eliminación de esteroides endógenos indicando un bloqueo de la biosíntesis a nivel pre-escualeno. Escualeno sintetasa es el target de WC-9 siendo un potente inhibidor no competitivo ( $K_i = IC_{50}$ ) de TcSQS tanto glicosomal

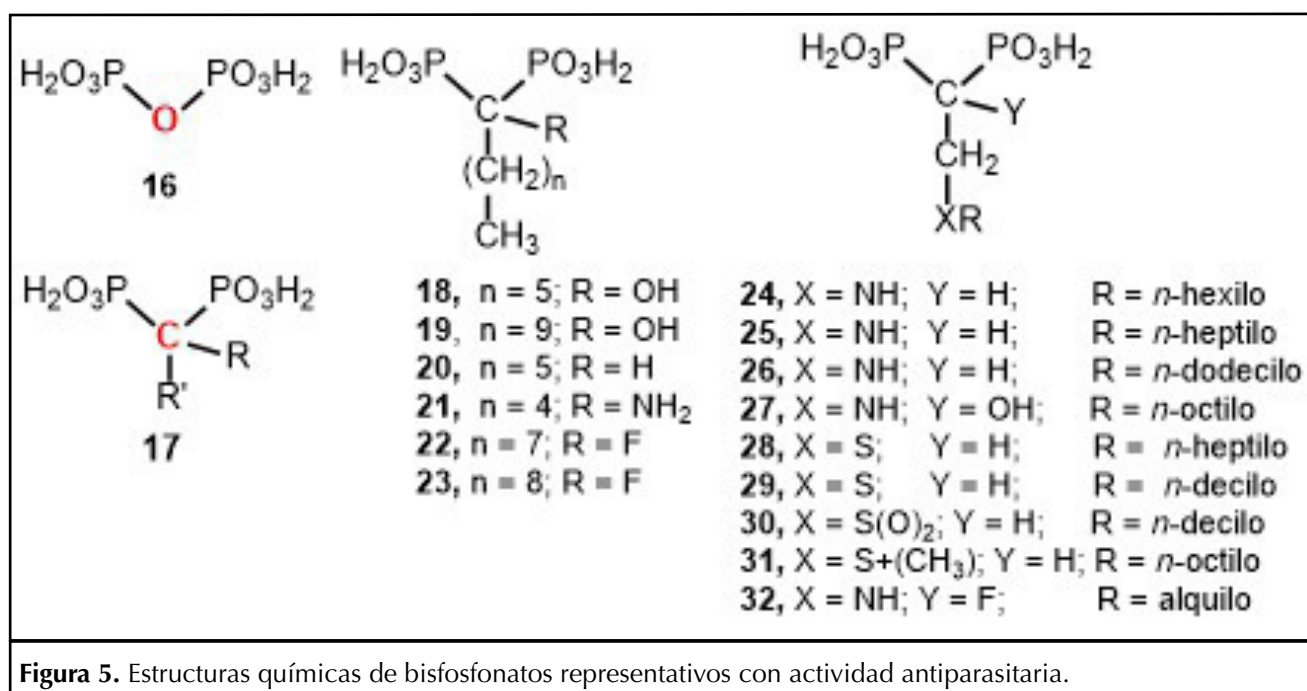


Figura 5. Estructuras químicas de bisfosfonatos representativos con actividad antiparasitaria.

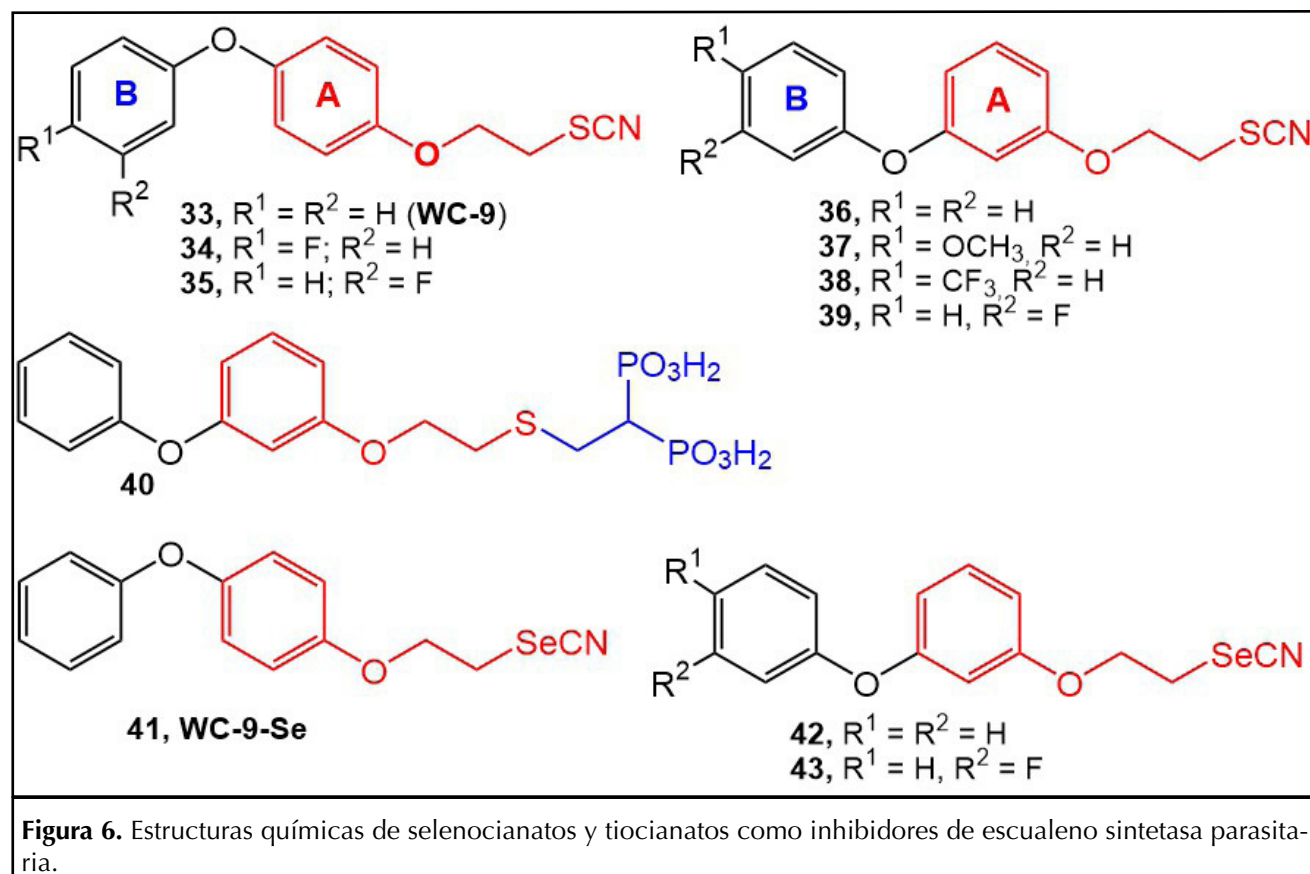
como mitocondrial ( $IC_{50} = 0,088 \mu\text{M}$  y  $0,129 \mu\text{M}$ , respectivamente). Los compuestos **34-43** son relevantes a partir de estudios SAR. En particular, los compuestos de organoselenio **41-43** resultaron inhibidores extremadamente efectivos del crecimiento de *T. cruzi* (amastigotes) siendo dos órdenes de magnitud más potentes que **WC-9** y excelentes valores de índice de selectividad (Figura 6) (Chao y col, 2019).

En definitiva, existen numerosos targets relevantes para diseño racional de drogas que sean útiles para el tratamiento y seguimiento de la enfermedad de Chagas. Estos fármacos, concebidos racionalmente, deben aprovechar las diferencias metabólicas entre el agente etiológico de esta enfermedad, el protozoario *T. cruzi* y el huésped. Uno de los desafíos más importantes de la quimioterapia de la enfermedad de Chagas es

el desarrollo de un compuesto que sea capaz de penetrar la membrana celular de la célula infectada correspondiente. Luego, realizar un viaje a través del complejo entorno presente en el citoplasma celular para, finalmente, penetrar la membrana de los parásitos que se multiplican intracelularmente (amastigotes, la forma clínicamente más relevante del parásito). Finalmente, esta molécula debe llegar a su objetivo para que se produzca la acción farmacológica correspondiente. La enfermedad de Chagas se puede clasificar como una enfermedad desatendida. La mayor parte de la investigación científica en torno a la quimioterapia ha sido llevada a cabo por la Academia. Existe poco interés por la Industria Farmacéutica para llevar a cabo proyectos de investigación y desarrollo, fundamentalmente, por falta de incentivos económicos. A pesar de la reducción en el número

de personas infectadas observada en los últimos años, esta enfermedad sigue siendo una causa importante de mortalidad y deterioro en la calidad de vida en los países donde es endémica. En efecto, su aparición está asociada a la pobreza y a la baja calidad habitacional que facilitan la propagación de la misma. En los países donde la enfermedad de Chagas no es endémica, su transmisión es congénita o a través de la transfusión de sangre infectada de personas que se desplazan desde otras áreas.

Como se mencionó anteriormente, solo existen dos medicamentos disponibles para el tratamiento de esta zoonosis crónica: nifurtimox y benznidazol. Estos fármacos exhiben inconvenientes, algunos serios. No son efectivos contra algunas de cepas de *T. cruzi*, están asociados a tratamientos prolongados, presentan efectos secundarios importantes, no



**Figura 6.** Estructuras químicas de selenocianatos y tiocianatos como inhibidores de escualeno sintetasa parasitaria.

son efectivos en la fase crónica de la enfermedad y no están aprobadas por la FDA, salvo el caso de benzimidazol para uso pediátrico. Evidentemente, existe una necesidad real de una quimioterapia segura basada en el concepto de diseño racional de drogas para la búsqueda de nuevas moléculas efectivas y efectos secundarios mínimos.

Teniendo en cuenta las investigaciones desarrolladas a lo largo de los años, se puede concluir que hay varios caminos metabólicos disponibles que sean útiles para el diseño de un nuevo fármaco. De particular interés es la biosíntesis de ergosterol, un metabolito crucial para el parásito, ya que es un componente clave de la membrana celular. Muchas enzimas en esta ruta biosintética son blancos moleculares interesantes:  $\Delta^{24(25)}$ -esterol metiltransferasa,  $14\alpha$ -desmetilasa (CYP51), escualeno epoxidasa y escualeno sintetasa. A partir de estas enzimas,  $14\alpha$ -desmetilasa emerge como un *target* destacado porque cuenta con potentes inhibidores descritos hasta ahora. En efecto, posaconazol (**9**) y prodroga de ravuconazol (**10**), E1224 (**11**), actúan inhibiendo la actividad enzimática de esta enzima en el rango bajo nanomolar. Posaconazol y ravuconazol son medicamentos antimicóticos conocidos, aunque tienen la desventaja de ser demasiado caros desde el punto de vista de la fabricación. Sin embargo, a pesar de tener esta potente acción inhibitoria, la evaluación clínica de posaconazol y E1224 en la enfermedad de Chagas crónica no resultó satisfactoria. Además, farnesil difosfato sintetasa también tiene un gran potencial teniendo en cuenta la disponibilidad de datos estructurales sobre la unión de sus inhibidores en el sitio activo de la enzima, en particular los inhibidores competitivos de la misma y análogos estructurales del sustrato natural que son los bis-

fosfonatos. Por otro lado, tiocianato de 4-fenoxifenoxietilo (**WC-9**) y su análogo isostérico, selenocianato de 4-fenoxifenoxietilo selenocianato (**WC-9-Se**) constituyen uno de los pocos ejemplos de una droga líder con grupos tiocianato (selenocianato) unidos covalentemente al esqueleto principal. Estos compuestos son inhibidores no competitivos de la actividad enzimática de escualeno sintetasa y poseen las características de tipo droga (*drug-like character*) lo que les da una gran potencialidad (Rodríguez y col., 2016a). Trypanotona sintetasa, la enzima que cataliza la formación de glutationilpermidina y trypanotona, metabolito responsable de mantener el equilibrio redox celular en trypanosomátidos, no tiene contrapartida en mamíferos. Finalmente, *trans*-sialidasa es una enzima interesante que podría emplearse para controlar el proceso de invasión, especialmente durante la fase aguda de la enfermedad.

En definitiva, solamente del conocimiento profundo de la bioquímica y fisiología de *T. cruzi* será posible disponer de una quimioterapia segura que sea efectiva tanto en la etapa aguda y crónica de la enfermedad como así también en todas las cepas del parásito. Resulta evidente, entonces, la necesidad imperiosa de disponer de nuevas moléculas y distintos enfoques para controlar la enfermedad de Chagas.

## ■ BIBLIOGRAFIA

Alpern J. D., Lopez-Velez R., Stauffer W. M. (2017) Access to Benzimidazole for Chagas Disease in the United States—Cautious Optimism? *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11, 10–14.

Brener Z. (1973) Biology of *Trypanosoma cruzi*. *Annu. Rev. Microbiol.* 27, 347–382

Buckner F. S., Urbina J. A. (2012) Recent developments in sterol 14-demethylase inhibitors for Chagas disease. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 2, 236–242

Chao M. N., Lorenzo Ocampo M. V., Szajnman S. H., Docampo R., Rodríguez J. B. (2019) Further insights of selenium-containing analogues of WC-9 against *Trypanosoma cruzi*. *Bioorg. Med. Chem.* 27, 1350–1361

Clayton J. (2010) Chagas disease: pushing through the pipeline. *Nature* 465, S12–S15

Docampo R., Moreno S. N. J. (2001) Bisphosphonates as chemotherapeutic agents against trypanosomatid and apicomplexan parasites. *Curr. Drug Targets Infect. Disord.* 1, 51–61.

Docampo R., Moreno S. N. J. (1985) Biochemical toxicology of antiparasitic compounds used in the chemotherapy and chemoprophylaxis of American trypanosomiasis (Chagas' disease). *Rev. Biochem. Toxicol.* 7, 159–204

Del Castillo M., Mendoza G., Oviedo J., Perez Bianco R. P., Anselmo A. E., Silva M. (1990) AIDS and Chagas' disease with central nervous system tumor-like lesion. *Am. J. Med.* 88, 693–694

Eberl M., Hintz M., Reichenberg A., Kollas A. K., Wiesner J., Jomaa H. (2003) Microbial isoprenoid biosynthesis and human *gdT* cell activation. *FEBS Lett.* 544, 4–10.

Ferella M., Li Z. H., Andersson B., Docampo R. (2008) Farnesyl diphosphate synthase localizes to the cytoplasm of *Trypanosoma cruzi* and *T. brucei*. *Exp. Parasitol.* 119, 308–312.

- Ferella M., Montalvetti A., Rohloff P., Miranda K., Fang J., Reina S., Kawamukai M., Búa J., Nilsson D., Pravia C., Katzin A., Casseira M. B., Aslund L., Andersson B., Docampo R., Bontempi E. J. (2006) A solanesyl diphosphate synthase localizes in glycosomes of *Trypanosoma cruzi*. *J. Biol. Chem.* 281, 39339–39348.
- Galaka T., Falcone B. N., Li C., Szajnman S. H., Moreno S. N. J., Docampo R., Rodriguez J. B. (2019) Synthesis and biological evaluation of 1-alkylaminomethyl-1,1-bisphosphonic acids against *Trypanosoma cruzi* and *Toxoplasma gondii* targeting farnesyl diphosphate synthase. *Bioorg. Med. Chem.* 27, 3663–3673
- Gelb M. H., Van Voorhis W. C., Buckner, F. S., Yokoyama K., Eastman R., Carpenter E. P., Panethymitaki C., Brown K. A., Smith D. F. (2003) Protein farnesyl and N-myristoyl transferases: piggyback medicinal chemistry targets for the development of antitrypanosomatid and antimalarial therapeutics. *Mol. Biochem. Parasitol.* 126, 155–163.
- Gluckstein D., Ciferri, F., Ruskin J. (1992) Chagas' disease: another cause of cerebral mass in the acquired immunodeficiency syndrome. *Am. J. Med.* 92, 429–432.
- Lepesheva G. I. (2013) Design or screening of drugs for the treatment of Chagas disease: what shows the most promise? *Expert Opin. Drug Discov.* 8, 1479–1489.
- Lepesheva G.I., Villalta F., Waterman M. R. (2011) Targeting *Trypanosoma cruzi* sterol 14a-demethylase (CYP51). *Adv. Parasitol.* 75, 65–87.
- Lepesheva G. I., Hargrove T. Y., Anderson S., Kleshchenko Y., Furtak V., Wawrzak Z., Villalta F., Waterman M. R. (2010) Structural insights into inhibition of sterol 14a-demethylase in the human pathogen *Trypanosoma cruzi*. *J. Biol. Chem.* 285, 25582–25590.
- Montalvetti A., Bailey B. N., Martin M. B.; Severin, G. W.; Oldfield, E.; Docampo, R. (2001) Bisphosphonates are potent inhibitors of *Trypanosoma cruzi* farnesyl pyrophosphate synthase. *J. Biol. Chem.* 276, 33930–33937.
- Montalvetti A., Fernandez A., Sanders J. M., Ghosh S., Van Brusel E., Oldfield E., Docampo R. (2003) Farnesyl pyrophosphate synthase is an essential enzyme in *Trypanosoma brucei*. In vitro RNA interference and in vivo inhibition studies. *J. Biol. Chem.* 278, 17075–17083.
- Ravaschino E. L., Docampo R., Rodriguez J. B. (2006) Design, synthesis and biological evaluation of phosphinopeptides against *Trypanosoma cruzi* targeting trypanothione biosynthesis. *J. Med. Chem.* 49, 426–435.
- Rodríguez J. B., Falcone B. N., Szajnman S. H. (2016a) Detection and treatment of *Trypanosoma cruzi*: a patent review (2011–2015). *Expert Opin. Ther. Patents* 26, 993–1015.
- Rodríguez J. B., Falcone B. N., Szajnman S. H. (2016b) Approaches for designing new potent inhibitors of farnesyl pyrophosphate synthase. *Expert Opin. Drug. Discov.* 11, 307–320.
- Ueda Y., Matiskella J. D., Golik J., Connolly T. P., Hudyma T. W., Venkatesh S., Dali M., Kang S. H., Barbour N., Tejwani R., Varia S., Knipe J., Zheng M., Mathew M., Mosure K., Clark J., Lamb L., Medin I., Gao Q., Huang S., Chen C. P., Bronson J. J. (2003) Phosphonoxyethyl prodrugs of the broad spectrum antifungal azole, ravuconazole: Synthesis and biological properties. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13, 3669–3672.
- Urbina J. A. (2010) New insights in Chagas' disease treatment. *Drugs Future* 35, 409–419
- Urbina J. A., Docampo R. (2003) Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends Parasitol.* 19, 495–501
- Vaidian A. K., Weiss L. M., Tanowitz H. B. (2004) Chagas' disease and AIDS. *Kinetoplastid Biol. Dis.* 3, 2

# SULFATACIÓN Y SULFOTOPES EN *TRYPANOSOMA CRUZI*, AGENTE CAUSAL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

**Palabras clave:** Sulfatación, sulfatos, sulfotopes, Cruzipaina, sulfátidos, *Trypanosoma cruzi*, Enfermedad de Chagas.

**Key words:** Sulfation, sulfates, sulfotopes, Cruzipain, sulfatides, *Trypanosoma cruzi*, Chagas disease.

*Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas (ChD), contiene un antígeno principal, cruzipain-(Cz), que retiene el dominio C-terminal-(C-T) en su forma madura y contiene varias modificaciones-post-traduccionales. La presencia de oligosacáridos sulfatados se demostró en la Cz, en una glicoproteína con actividad serina-carboxipeptidasa-(SCP) y en los glicoesfingolípidos o sulfátidos parasitarios. Los glicoconjugados sulfatados en los tripanosomátidos son blanco de respuestas inmunes específicas. Los sujetos con infección crónica por *T. cruzi* desarrollan respuestas inmunes humo-

rales específicas a la Cz sulfatada. En ausencia de infección, los ratones inmunizados con C-T pero no con C-T desulfatado, mostraron efectos ultraestructurales patológicos cardíacos sorprendentes. Además, se demostró la composición química e inmunológica del epitope sulfatado, que el mismo imita la respuesta humoral del sulfotope presente en la Cz nativa, la participación de los sulfotopes en la inmunomodulación por interacción huésped-parásito a través de la unión de lectinas específicas de tipo Ig-ácido siálico- (Siglec) a glicoproteínas sulfosialiladas, así como en el proceso de infección del parásito. Sorprendentemente, evidencias recientes involucraron a los anticuerpos específicos para los sulfotopes de la Cz en los procesos de inmunopatogénesis e infección en la ChD experimental. Curiosamente, los sueros de individuos crónicos infectados por *T. cruzi* con enfermedad leve mostraron niveles más altos de anticuerpos-IgG2-específicos para glicoproteínas sulfatadas y sulfátidos en comparación con aquellos en formas más graves de la enfermedad, demostrando que los sulfotopes de *T. cruzi* son antigénicos independientemente del tipo de glicoconjugado, y que los anticuerpos-IgG2-específicos podrían considerarse bio-marcadores de progresión cardíaca de la ChD.

*Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease-(ChD), contains a major antigen, cruzipain-(Cz), which retains the C-terminal-(C-T) domain in its mature form and contains several post-translational-modifications. The presence of sulfated oligosaccharides in the C-T of Cz, in a minor antigen with serine-carboxypeptidase activity and in parasitic glycosphingolipids or sulfatides was demonstrated. Sulfate-bearing glycoproteins in trypanosomatids are targets of specific immune responses. Subjects with chronic *T. cruzi* infection develop specific humoral immune responses to sulfated Cz. In the absence of infection, mice immunized with C-T but not sulfate-depleted C-T showed striking ultrastructural cardiac pathologic effects. Furthermore, the structural and immunological characterization of the synthetic sulfated epitope GlcNAc6SO<sub>3</sub> was demonstrated and that it mimics the humoral response of the present in native Cz. In addition, the participation of sulfotopes in immunomodulation by host-parasite interaction through the binding of specific lectins of the Ig-sialic acid type (Siglec) to sulfosialylated glycoproteins, as well as in the parasite infection process, has been reported. Surprisingly, recent evidence implicates Cz-sulfotopes-specific antibodies in the processes of immunopathogenesis and infection of experimental ChD. Interestingly, sera from chronically *T. cruzi*-infected individuals with mild disease showed higher levels of IgG2-antibodies-specific for sulfated and sulfatide glycoproteins compared to those with more severe forms of the disease, demonstrating that *T. cruzi* sulfotopes are antigenic regardless of the type of glycoconjugate. Ongoing trials indicate that sulfotope-specific antibodies could play a role as predictors of stability from early stages of chronic coronary disease and could be considered bio-markers of human heart disease progression.

## ■ I.- INTRODUCCIÓN

La Tripanosomiasis Americana o enfermedad de Chagas representa

un importante problema de salud y sigue siendo endémica en amplias zonas de América Latina. La transmisión se produce principalmente

por insectos vectores triatomíneos. El agente causal es el protozooario parásito *Trypanosoma cruzi*. Presenta un intrincado ciclo biológico en res-

## ■ Vilma G. Duschak

CONICET-Instituto Nacional de Parasitología "Dr Mario Fatała Chabén" ANLIS-Malbrán, Ministerio de Salud

E-mail: vduschak@conicet.gov.ar

puesta a las precisas adaptaciones esenciales para vivir en un insecto vector y un huésped mamífero. Mientras que el vector y el huésped presentan epimastigotes proliferativos y amastigotes intracelulares, respectivamente; las formas de tripomastigotes infecciosas no proliferativas están involucradas en los dos huéspedes mencionados (Figura 1).

En la actualidad, el número de personas infectadas a nivel mundial estimado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) asciende aproximadamente a 6-7 millones y alrededor de setenta millones de personas viven en riesgo de contraer la enfermedad (OMS, 2021). Esta enfermedad desatendida es endémica en 21 países de las Américas, aunque la migración de personas infectadas puede transportarla también a países no endémicos de América (OPS, 2021). En las últimas décadas, el mencionado aumento del flujo migratorio así como la urbanización ha propagado la enfermedad también a otros continentes (OMS,

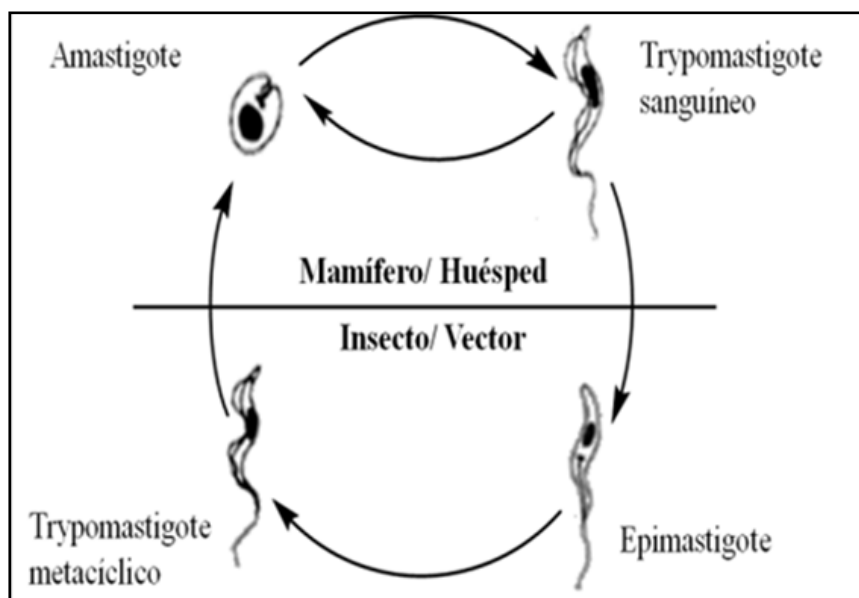
2021). El problema se amplifica por el hecho de que la mayoría de las terapias disponibles se descubrieron hace décadas y sufren de toxicidad aguda y acción de corta duración. Los avances, en el conocimiento de la biología y bioquímica del parásito han permitido la identificación de nuevos blancos terapéuticos para identificar nuevos agentes tripanocidas además del diseño racional de fármacos y el uso de productos naturales. Los fármacos actuales son efectivos en el tratamiento de la infección congénita por *T. cruzi*, enfermedad de Chagas aguda y niños hasta los 12 años. Existe poca evidencia en cuanto a la efectividad del tratamiento en adultos. Por lo tanto, se necesitan con urgencia nuevos compuestos tripanocidas activos, con baja toxicidad y mayor eficacia durante la fase crónica (Duschak 2016, 2017, 2019). La enfermedad de Chagas es la forma más importante de miocarditis infecciosa (Tarleton, 2015). Alrededor del 30-50 % de las personas infectadas desarrollarán alteraciones cardíacas de le-

ves a graves y es una causa frecuente de miocardiopatía dilatada mortal (Marin-Neto y col., 2007; Andrade et al. 2011; Sabino y col., 2013), mientras que el compromiso de la pared intestinal es menos frecuente.

La patogenia de la enfermedad de Chagas es controvertida pero independientemente de la eventual contribución de un componente autoinmune (Cunha-Neto y col., 2006; Leon y Engman, 2003), la patología se ha relacionado con la persistencia de *T. cruzi* en los órganos afectados donde inducen inflamación crónica (Tarleton, 2001). Además, se ha postulado que la persistencia del parásito junto con las respuestas inmunitarias contra múltiples antígenos miocárdicos podría contribuir al daño cardíaco (Girones y Fresno 2003), pero independientemente de la causa de la patogenia, la cruzipaina (Cz), cisteína proteínasa (CP) y antígeno mayoritario de este protozoo parásito flagelado ha sido considerada como un factor relevante para la progresión de la enfermedad.

## ■ II.-SULFATACIÓN

La sulfatación es una modificación post-traducciona (MPT) que ocurre en las glicoproteínas, la cual juega un papel clave en varios procesos biológicos, incluida la comunicación celular, el crecimiento y el desarrollo. Se detecta regularmente desde bacterias hasta humanos (Kovensky y col., 2009). Además, las glicoproteínas que contienen oligosacáridos unidos al aminoácido Asparagina (Asn)-sulfatados han sido implicados principalmente en numerosos procedimientos específicos de reconocimiento molecular (Kawasaki y col., 2000; Honke y Tanaguchi, 2002). La reacción de sulfatación tiene lugar en el complejo de Golgi a través de la transferencia de un grupo sulfato activado desde el 3'-fosfoadenosina 5'-fosfosulfato



**Figura 1:** Esquema simplificado del ciclo de vida. Teniendo en cuenta la morfología y estadio en el que se encuentra el parásito, el ciclo de vida del mismo, incluye tres formas básicas dentro del vector y del huésped

(PAPS) citosólico (Klaassen y Boles, 1997) en una ubicación precisa en una diversidad de residuos de azúcares presentes en varios sustratos aceptores (Fukuda y col., 2001; Esko y Lindahl, 2001).

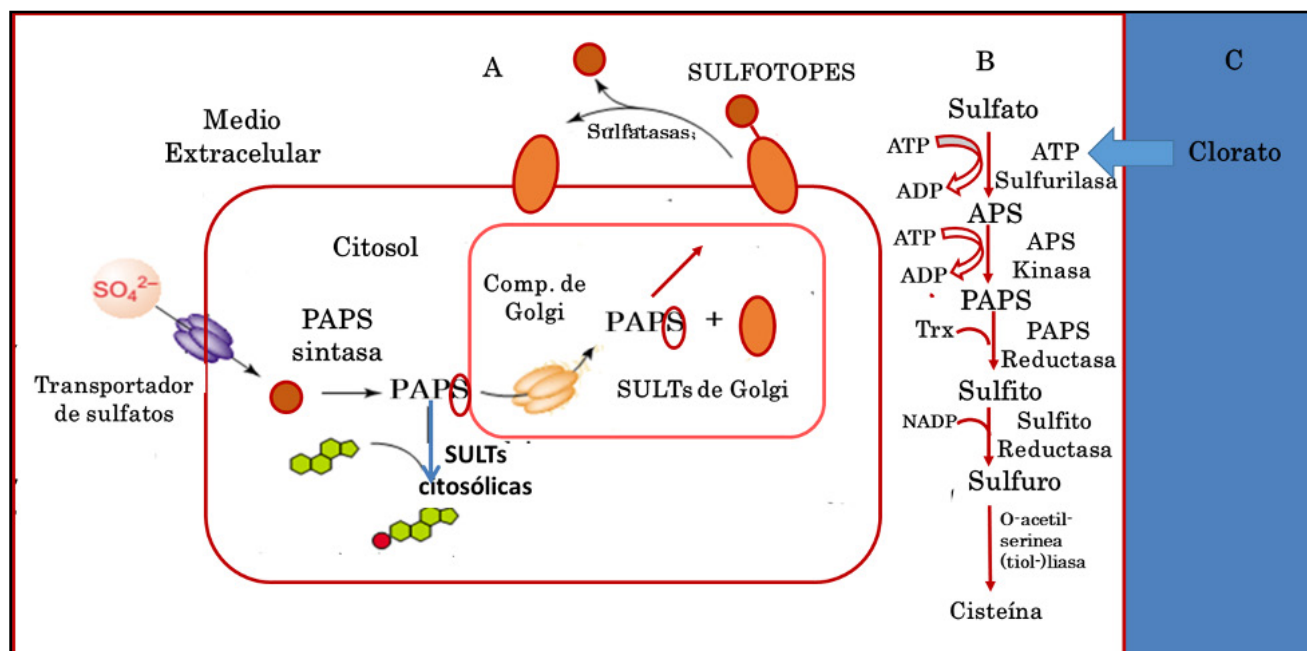
Aquí, nos referiremos a las glicoproteínas en particular (Figura 2 A, B). El tratamiento con clorato inhibe una enzima crucial en la síntesis de PAPS, la ATP sulfurilasa (Baeuerle y Huttner, 1986) (Figura 1 C). Nuestros hallazgos mostraron que el proceso de sulfatación de *T. cruzi* ocurre a través de PAPS y confirmaron la presencia de epitopes sulfatados (Sulfotopes) en la superficie de los tripomastigotes, la etapa más relevante desde el punto de vista clínico (Ferrero y col., 2014).

Todas las células eucariotas realizan reacciones de sulfatación facilitadas por una clase de enzimas conocidas como sulfotransferasas (SULTs) (Kakuta y col., 1998). La

comparación de las secuencias de aminoácidos muestra un alto grado de conservación de los dominios de unión al sustrato entre las SULTs clonadas hasta la fecha (Honke y col., 1997). Cabe destacar que la sulfatación constituye una modificación crucial con respecto al reconocimiento biológico. En este sentido, trabajos iniciales sobre el llamado "homing" de linfocitos han especificado que el reconocimiento de ligandos endoteliales por L-selectina depende de modificaciones de sulfatación (Hemmerich y Rosen, 2000).

En protistas, como es el caso de *T. cruzi*, se han descrito estructuras sulfatadas como parte de glicolípidos (Petry y col., 1988) y también nuestro grupo describió por primera vez la presencia de oligosacáridos de alta manosa sulfatados en el único sitio de N-glicosilación (en Asparagina) del dominio C-T de la Cz (Barboza y col., 2005). Sin embargo, este no es el único antecedente

de sulfatación de oligosacáridos en protistas. Los oligosacáridos de alta manosa sulfatados también fueron descritos como parte de las glicoproteínas de *Dictyostelium discoideum*. Al igual que en *T. cruzi*, estas glicoproteínas están localizadas en lisosoma, aunque en este caso, gran parte de los sulfatos se encuentran unidos a residuos de manosa (Manosa 6-SO<sub>4</sub>) (Freeze y col., 1986) en lugar de a residuos de N-acetilhexosamina como es el caso de *T. cruzi*. En el caso de *D. discoideum* fue identificada una SULT responsable de la sulfatación de las proteínas lisosomales (Benghezal y col., 2006); sin embargo, a pesar de que *T. cruzi* genera estructuras sulfatadas aún en cultivos axénicos\* lo cual hace indispensable la presencia de la actividad SULT codificada por el parásito, hasta el momento no se ha descrito tal enzima en este organismo. Cabe destacar que las búsquedas por homología en el genoma de *T. cruzi*, tampoco arrojaron resultados.



**Figura 2. A.:** Representación de transporte de sulfatos del medio extracelular a citoplasma, síntesis del 3'-fosfoadenosina 5'-fosfosulfato (PAPS) citosólico, sulfotransferasas (SULTs) en citosol o en Golgi, glicoproteínas sulfatadas y sus sulfotopes, desulfatación, mediante sulfatasas; **B.** Ruta metabólica de PAPS; **C.** Inhibición de clorato en el primer paso clave de la biosíntesis, en la enzima ATP sulfurilasa.

≠ (formado por una única especie, cepa o variedad de organismo, desprovisto de contaminantes y obtenido artificialmente en un laboratorio).

### ■ III.-*TRYPANOSOMA CRUZI*, ACTIVIDADES PROTEOLÍTICAS Y MPT EN GLICOPROTEÍNAS SULFATADAS. PROTEINASAS Y PEPTIDASAS EN *T. CRUZI*

Los múltiples roles atribuidos a las proteinasas de *T. cruzi* las han vuelto atractivas como blancos potenciales para el desarrollo de nuevos fármacos contra la enfermedad de Chagas (Cazzulo 2002; Duschak 2016, 2017, 2019). La predicción de cisteína peptidasas (CPs), serina peptidasas (SPs), metalopeptidasas (MPs), treonina peptidasas (TPs) y solo dos peptidasas aspárticas (APs) (El Sayed y col., 2005), fue posible después de la secuenciación completa del clon CL Brener de *T. cruzi*, obteniendo su genoma. Entre las CPs, el grupo más relevante estudiado, Cz, se ha relacionado con el metabolismo del parásito (Klemba y Goldmberg 2002), identificado como un candidato importante para el desarrollo de vacunas (Schnapp y col., 2002; Cazorla y col., 2009; Cerny y col., 2016), o formando parte de un nuevo antígeno quimérico diseñado racionalmente para mostrar epitopes de células B y T entre los objetivos de proteínas parasitarias clave (Sanchez Alberti y col., 2017, Bivona y col., 2020), así como un objetivo prometedor para quimioterapia de la enfermedad de Chagas (Cazzulo 2002; Duschak 2016, 2017, 2019) y ampliamente estudiado como proteasa y antígeno. Particularmente, esta molécula también ha sido examinada como glicoproteína (Duschak y Couto 2009).

Por otra parte, la oligopeptidasa B, un miembro de la familia de las

prolil oligopeptidasas, implicada en la señalización de  $Ca^{2+}$  durante la invasión de células de mamíferos (Burleigh y Andrews 1995; Burleigh y col., 1997); una prolil endopeptidasa (*Tc80*), (Santana y col., 1997; Bastos y col., 2005), y una serina-carboxipeptidasa lisosomal (Parussini y col., 2003), todas purificadas y parcialmente caracterizadas a partir de *T. cruzi*, pueden mencionarse entre las SPs descritas en el parásito. Además, se purificó una SP putativa, una serina oligopeptidasa de *T. cruzi* de 75 kDa secretada y la localización subcelular se restringió a las estructuras intracelulares, incluida la bolsa flagelar, la membrana plasmática y las vesículas citoplasmáticas que se asemejan a los reservosomas parasitarios (da Silva Lopez y col., 2008).

Algunas actividades peptidolíticas, como la principal actividad leucil aminopeptidolítica del parásito (LAPTc), una metaloaminopeptidasa homohexamérica de 330 kDa y una serina-carboxipeptidasa, se detectaron en extractos libres de células y lisosomas de *T. cruzi*, respectivamente (Cadavid-Restrepo y col., 2011; Parussini y col., 2003). Las peptidasas que escinden el residuo de aminoácido C-terminal de péptidos y proteínas se conocen como carboxipeptidasas. Se clasifican en dos clases principales, MPs y SPs, centradas en su mecanismo catalítico.

Curiosamente, las peptidasas que muestran actividad proteolítica del C-terminal, en condiciones ácidas, se denominan serina-carboxipeptidasas (SCP). Todos los SCP contienen secuencias vecinas a los residuos Ser e His, del sitio activo, altamente conservados, y muestran varias características comunes. Entre ellos comparten secuencia señal, tienen varios sitios de glicosilación ligados a Asn, así como 4 regiones

conservadas que participan en el mecanismo catalítico (Vendrell y Avilés, 1999). La caracterización de cebadores capaces de detectar específicamente el ADN de *T. cruzi*, las regiones divergentes intergénicas, comunes en los tripanosomátidos, junto con el gen de la SCP, fueron eficaces para buscar posibles marcadores para el progreso de nuevos enfoques para detectar la infección por *T. cruzi* (Ferreira y col., 2014).

### ■ IV.-IDENTIFICACIÓN DE MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES EN ISOFORMAS DE CZ Y SCP

Entre las CP, la Cz natural (Cazzulo y col., 2001), expresada como una mezcla compleja de isoformas en las diferentes etapas de desarrollo del parásito, presenta microheterogeneidades a juzgar por métodos cromatográficos y electroforéticos (Cazzulo y col., 1995; Duschak y col., 1999). Estas heterogeneidades probablemente se deban tanto a la expresión simultánea de varios genes que codifican Cz con algunas sustituciones de aminoácidos (Campetella y col., 1992), como a la presencia de moléculas de Cz con diferentes MPTs. Esta glicoproteína contiene alrededor de un 10 % de carbohidratos y sus cadenas oligosacáridicas no contienen grupos fosfato (Cazzulo y col., 1990). La molécula tiene tres sitios potenciales de N-glicosilación (en Asn), dos de ellos en el dominio catalítico, el primero que contiene oligosacáridos de tipo alto en manosa. El tercer sitio de N-glicosilación se encuentra en el dominio C-T, en Asn-255, compuesto por cadenas de alta manosa, cadenas oligosacáridicas híbridas monoanténarias o complejas bianténarias (Parodi y col., 1995; Barboza y col., 2005).

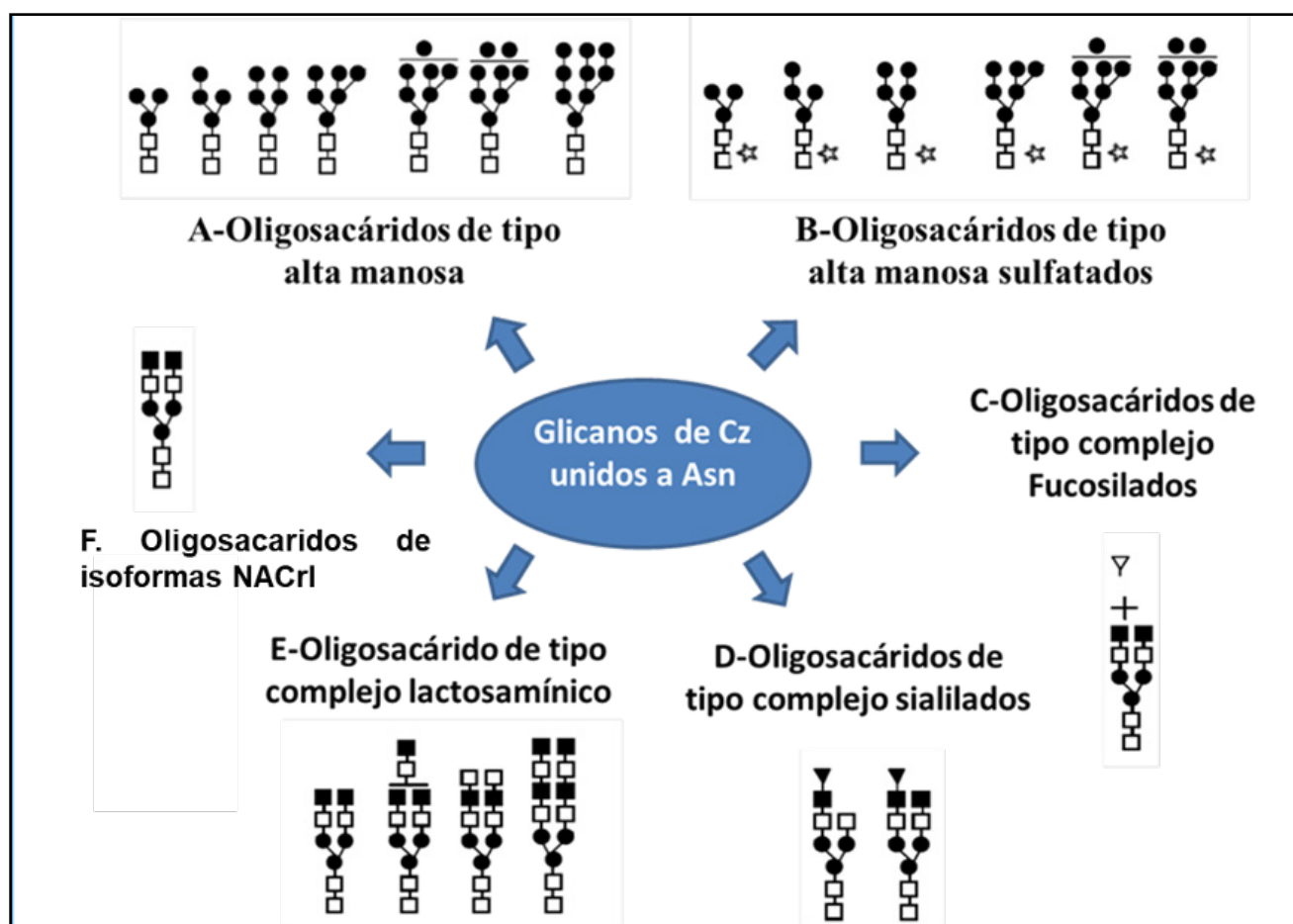
Además de las isoformas lisosomales de la Cz, existe evidencia de algunas isoformas de CP unidas a la



membrana plasmática que reaccionan inmunológicamente de forma cruzada con la Cz en las diferentes etapas de desarrollo de *T. cruzi* (Souto-Pradón y col., 1990; Parussini y col., 1998). Además, se ha informado que los tripomastigotes metacíclicos son capaces de liberar CP al medio extracelular, lo que probablemente involucra a la Cz entre ellos (Duschak y col., 2006). Además de estas diferencias en la localización, se encontraron isoformas peculiares con diferente contenido de carbohidratos, que no se adsorben a las columnas de afinidad de Concanavalina-A (NACrI) (Duschak y col., 2003).

Junto con la parte catalítica, la Cz lleva una extensión carboxi-terminal (C-T) que se conserva en la proteína madura. Este dominio inusual contiene varios MPTs y es responsable del carácter antigénico inmunodominante de la molécula en infecciones naturales y experimentales (Sharfstein y col., 1983; Martínez y col., 1991, 1993). Nuestra vasta experiencia trabajando con proteinasas en *T. cruzi*, especialmente Cz, junto con el uso de técnicas más sensibles, nos permitió describir en detalle la presencia de las principales MPTs, no encontradas previamente en esta molécula. Estas MPTs incluyen un oligosacá-

rido N-glicosídico complejo que contiene ácido siálico y unidades individuales de los restos peculiares de N-acetil-D-glucosamina con un enlace O-glicosídico (O-NAcGlc) (Barboza y col., 2003). Dado que existen isoformas de Cz unidas a la membrana, y teniendo en cuenta que el agregado de ácido siálico es una reacción que ocurre en la superficie de *T. cruzi*, la identificación del ácido siálico en el dominio C-T de la Cz fue muy interesante. Además, hemos demostrado que la N-acetil-glucosamina ligada a O, Ser/Treo, descrita anteriormente es un epítipo común entre Cz y miosina (Acosta y col., 2011).



**Figura 3:** La figura representa diferentes tipos de oligosacáridos unidos a Asparagina identificados en glicanos de la cisteína principal de *Trypanosoma cruzi*, Cz: **A)** de alta manosa sin agregados, **B)** de alta manosa sulfatados, **D)** complejos sialilados, **C)** complejos lactosamínicos, adaptados de Barboza y col., 2005, **E)** complejos lactosamínicos y **F)** oligosacáridos de isoformas no adsorbidas a columnas de afinidad de Concanavalina-A (NACrI) adaptado de Duschak y col., 2003).

Por otra parte, hemos demostrado la presencia de grupos sulfato en las cadenas N-glicosídicas de TcSCP y la implicancia de los sulfotopes en la reactividad cruzada inmune entre SCP y Cz (Soprano y col., 2018).

#### ■ V.-CARACTERIZACIÓN DE OLIGOSACÁRIDOS N-TERMINALES EN LAS GLICOPROTEÍNAS CRUZIPAÍNA Y SERINACARBOXIPEPTIDASA DE *T. CRUZI*. IDENTIFICACIÓN DE OLIGOSACÁRIDOS SULFATADOS

Usando espectrometría de masas UV-MALDI-TOF junto con digestiones enzimáticas y análisis de cromatografía de intercambio aniónico de alto pH (HPAEC), un análisis estructural completo de los oligosacáridos unidos a Asn de Cz reveló especies  $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_3$  a  $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9$  (Fig 3A) y, por primera vez, la presencia

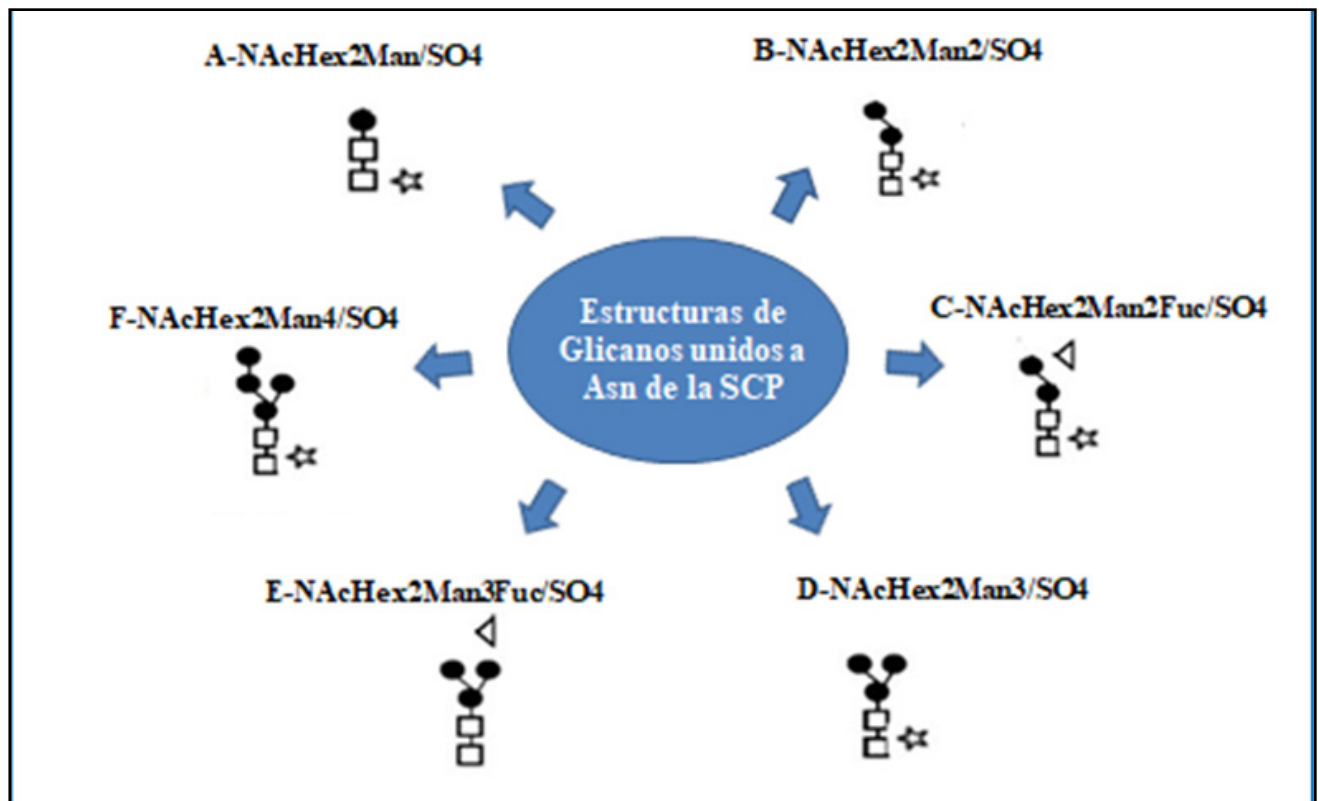
de oligosacáridos de tipo alto en manosa sulfatados (Fig. 3B) en el sitio único de N-glicosilación ( $\text{Asn}_{255}$ ) del dominio C-T de Cz (Barboza y col., 2005). Además, como característica interesante, también detectamos oligosacáridos fucosilados (Fig. 3C), estructuras correspondientes a especies monosialiladas (Fig. 3D) y glicanos complejos lactosamínicos (Fig. 3E) por análisis UV-MALDI-TOF MS. La presencia del desoxiazúcar se confirmó además mediante cromatografía de intercambio aniónico de alta resolución (Barboza y col., 2005).

Recientemente, realizamos análisis de espectrometría de masas de la SCP de *T. cruzi*. Luego, la presencia de grupos sulfatados en las cadenas cortas N-glicosídicas de esta glicoproteína, así como oligosacáridos fucosilados y no sulfatados, se

demonstró mediante el análisis de las cadenas N-glicosídicas de SCP (Fig. 4). En la mezcla Cz-SCP encontramos que la reactividad cruzada entre ellos se atribuye a la presencia de grupos sulfato en ambas moléculas (Soprano y col., 2018).

#### ■ VI.-PROPIEDADES INMUNOPATÓGENICAS DE FRACCIONES SULFATADAS DE LAS GLICOPROTEÍNAS DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

En los tripanosomátidos, las glicoproteínas que contienen sulfato son blancos para respuestas inmunitarias específicas, producen respuestas inmunitarias humorales murinas de isotipo IgG2b frente a Cz (Acosta y col. 2008). Nuestro estudio fue el primero en demostrar que el C-T, dominio antigénico de la Cz, utilizado como inmunógeno, es capaz de generar anomalías ultraestructurales



**Figura 4:** Se muestran las estructuras cortas de los glicanos unidos a Asparagina presentes en la glicoproteína serinacarboxipeptidasa de *Trypanosoma cruzi*. Adaptado de Soprano y col., 2018.

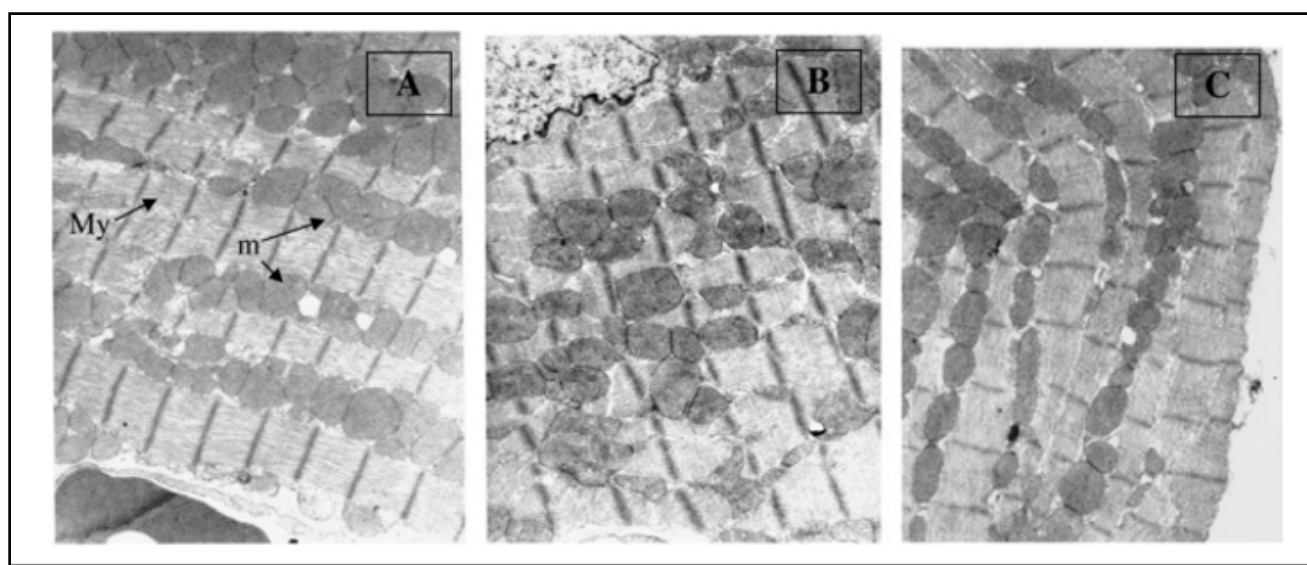
en el tejido del músculo cardíaco en ausencia de infección. Sorprendentemente, la abolición de estas alteraciones patológicas cuando los ratones fueron inmunizados con C-T depletado de sulfatos, confirmada por microscopía electrónica, respaldó la participación de estas estructuras antigénicas sulfatadas (sulfotopes) en la inducción del daño tisular experimental (Figura 5).

Por otro lado, el análisis de inmunomicroscopía electrónica con partículas de oro de tejidos cardíacos de ratones inmunizados con C-T confrontados con sueros policlonales de conejo específicos para Cz y C-T antes y después de la adsorción con miosina confirmaron que Cz y miosina y/u otras proteínas cardíacas que comparten grupos de O-GlcNAc como epitopes comunes, constituyen una nueva visión de la inmunopatogénesis molecular de la enfermedad cardíaca de Chagas (Acosta y col., 2011).

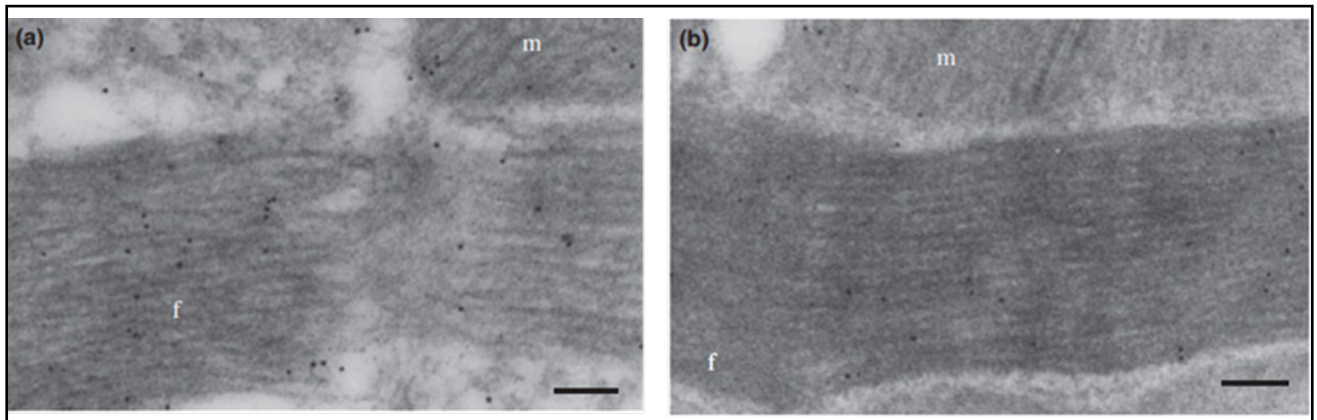
Cz es definida como una glicoproteína de tipo alta manosa. Además, el receptor de alta manosa (HMR) posee dos partes con reconocimiento de carbohidratos diferentes, capaces de unirse a cadenas oligosacáridicas sulfatadas y no sulfatadas (Liu y col., 2001). Teniendo en cuenta que las células presentadoras de antígenos expresan HMR en órganos periféricos no linfoides, incluido el músculo cardíaco murino (Linehan y col., 2005), especulamos que los sulfotopes presentes en la extensión C-T podrían influir en el reconocimiento de HMR en las células blanco que contribuyen a la desorganización tisular. Además, se ha postulado que la Cz podría favorecer la inducción de arginasa y la supervivencia intracelular del parásito en macrófagos, al potenciar su contacto con el HMR aumentando su reciclaje (Garrido y col., 2011).

La antigenicidad e inmunogenicidad de la Cz se han descrito ampliamente. Las infecciones hu-

manas y murinas con *T. cruzi* provocan una fuerte respuesta inmune humoral y celular a Cz (Martínez y col., 1991; Murta y col., 1988; Giordanengo y col., 2000, 2002, Schnapp y col., 2002). Además, hemos informado anteriormente que la respuesta inmune humoral a Cz está asociada con la gravedad de la enfermedad de Chagas crónica (Duschak y col. 2001). Sumado a esto, los anticuerpos inducidos por la Cz podrían unirse a extractos de corazón de ratón, lo que sugirió un papel patogénico para esta molécula (Giordanengo y col., 2000, 2002). Sin embargo, se han mostrado datos contrastantes relacionados con los efectos inmunopatológicos de la Cz (Giordanengo y col., 2002; Schnapp y col., 2002). Curiosamente, Gea y sus colaboradores evaluaron la influencia de los antecedentes genéticos en la activación de las células B utilizando Cz como antígeno, informando que la respuesta inmune a Cz se modula diferencialmente en las cepas de ratones C57BL/6 y



**Figura 5:** Signos cardíacos ultraestructurales presentes en ratones inmunizados con C-T y C-T desulfatado (C-Td). El análisis morfológico se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de transmisión sobre tejido muscular cardíaco de ratones inmunizados y controles. Las secciones longitudinales cardíacas (36300 x) de (A) ratón control mostrando patrón regular normal; (B) de ratón inmunizado con C-T mostrando anomalías severas y (C) patrón normal similar a los controles en ratones inmunizados con C-Td. Los resultados son representativos de tres ratones por grupo en dos experimentos independientes. My (miofibras) y m (mitocondria) señaladas por flechas.



**Figura 6:** Reactividad cruzada entre Cz, miosina y/u otras proteínas cardíacas en fibra y mitocondria de tejido cardíaco de ratones inmunizados con dominio C-T de la Cz. Se muestra la inmunohistoquímica de secciones de tejido cardíaco de ratones inmunizados con C-T confrontados con suero de ratón específico para Cz antes (a) y después (b) de adsorber con miosina- Las barras en a y b representan 200 nm. f:fibra; m:mitocondria. Los datos se demostraron haciendo los recuentos correspondientes en la marcación observada en puntos tanto en fibra como en mitocondria en controles y tratados (Acosta y col., 2011).

BALB/c mostrando diferencias en la resistencia o la patogénesis de la enfermedad de Chagas experimental (Guiñazu y col., 2004; Pellegrini y col., 2011). Cabe destacar que la Cz utilizada en los estudios anteriores contaba involuntariamente, con la presencia de una proteasa, presente como contaminante, resultante del método de purificación utilizado (Labriola y col., 1993).

La Cz es un antígeno con una región altamente inmunogénica de función aún desconocida (C-T) que de alguna manera protege al dominio catalítico, esencial para la supervivencia del parásito. Sin embargo, se informó la capacidad de la Cz para eludir las respuestas contra el dominio catalítico después de las inmunizaciones mediante el uso del dominio N-terminal como un inmunógeno capaz de redirigir las respuestas del huésped para brindar una protección mejorada (Cazorla y col., 2010). Vale la pena señalar que estos interesantes resultados se obtuvieron utilizando Cz recombinante o sus dominios N- y C-terminal, carentes de glicosilación. Como se explicó, varios estudios se han cen-

trado en la inmunogenicidad de la Cz, utilizando Cz recombinante como inmunógeno donde faltan los epitopes sulfatados y no reflejan los efectos de la sulfatación sobre las propiedades inmunológicas de la molécula. Por lo tanto, no se sabe si estos efectos ocurren con la molécula que contiene oligosacáridos sulfatados naturales. Por otro lado, existen estudios centrados en la reactividad cruzada entre SCP y Cz, ambas glicoproteínas sulfatadas descritas hasta la fecha de este parásito (Soprano y col., 2018). Aprovechamos la co-purificación de SCP y Cz de *T. cruzi*, y sueros de conejo específicos para SCP y Cz, obtenidos tras inmunizaciones con cada glicoproteína, respectivamente, y estudiamos la inmunorreactividad cruzada entre ambas moléculas, encontrando la presencia de epitopes comunes. Además, desulfatamos la mezcla Cz-SCP y descubrimos que la reactividad cruzada parecía deberse a la presencia de grupos sulfatados en ambas moléculas. Curiosamente, la SCP de *T. cruzi*, una glicoproteína de tipo alta manosa, que co-eluye con la Cz de las columnas de afinidad a lectinas de Concanavalina-A,

se purificó aún más y las cadenas cortas de oligosacáridos sulfatados se identificaron mediante espectrometría de masas UV-MALDI-TOF, confirmando la participación de los sulfotopes en la reactividad cruzada entre ambas moléculas (Acosta y col., 2008; Parussini y col., 2003; Soprano y col., 2018). En cuanto a la infección natural, cuando SCP se confrontó con sueros de pacientes infectados con diferente grado de disfunción cardíaca, no se determinó una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de sueros con anticuerpos específicos para SCP y el compromiso cardíaco de la enfermedad. Curiosamente, nuestros resultados mostraron que la SCP es un inmunógeno menor reconocido por la mayoría de los pacientes con enfermedad de Chagas crónica (Soprano y col., 2018).

Los oligosacáridos sulfatados desempeñan diversas funciones necesarias para el desarrollo, la diferenciación y la homeostasis; se ha examinado su aplicación potencial como nuevos objetivos para el desarrollo de fármacos/vacunas/diagnósticos (Kovensky y col., 2009; Fukuda

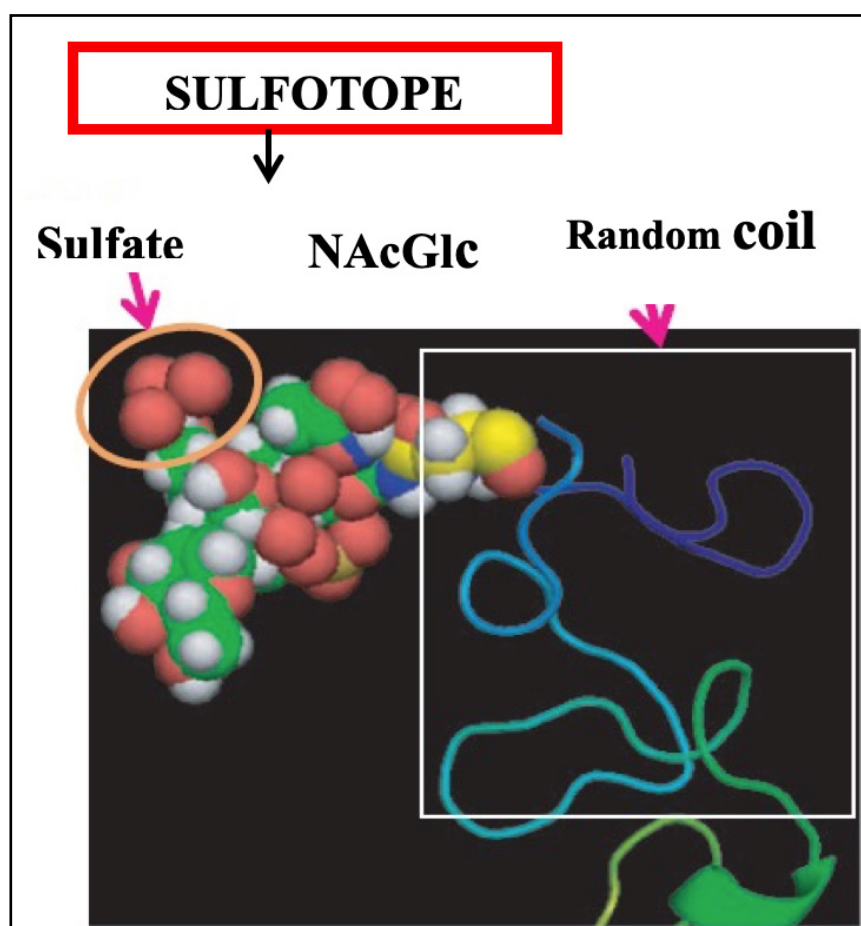
y col., 2001). Se reveló que algunos oligosacáridos sulfatados desempeñan funciones en la unión de los factores de crecimiento a sus receptores (Rapraeger y col., 1991) y la adherencia del virus a la superficie celular (Shukla y col., 1999). Las estructuras sulfatadas de *T. cruzi* se han definido como componentes de glicolípidos que comparten antígenos entre la superficie del parásito y las células de los mamíferos (Vermelho y col., 1997; Petry y col., 1988). En virus (Bernstein y col., 1992) y particularmente en mamíferos (Kawasaki 2000; Van Rooijen y col., 1998; Noguchi y Nakano 1992), se han descrito grupos sulfato en oligosacáridos unidos a Asn. Los oligosacáridos ligados a Asn-sulfatados han sido implicados principalmente en varios procesos de reconocimiento molecular específicos (Noguchi y Nakano 1992; Honke y Tanaguchi 2002). Notablemente, hemos demostrado las propiedades antigénicas de estas estructuras en glicoconjugados de *T. cruzi*, y determinamos la reactividad cruzada entre sulfátidos y Cz (Acosta y col., 2012). Cabe señalar que únicamente los glicanos de tipo alta manosa sulfatados, componente de las hidrolasas lisosomales de *D. discoideum*, habían sido señalados con propiedades antigénicas hasta ese momento (Freeze y col., 1984).

## ■ VII.-CARACTERIZACIÓN QUÍMICA E INMUNOLÓGICA DE LOS SULFOTOPES DE LA CZ

Los estudios mostraron la existencia de dos modificaciones sulfatadas específicas ( $\text{Gal-6-SO}_4$  y  $\text{GlcNAc-6-SO}_4$ ) en los ligandos biológicos (Hemmerich y Rosen 2000; Kawashima 2006). Realizamos un estudio sistemático de estructura-actividad sobre las características químicas de los sulfotopes de la Cz necesarias para la unión de anticuerpos específicos, usando inmunoensayos, En este sentido, diversas

moléculas obtenidas por síntesis química fueron acopladas a diferentes proteínas transportadoras (BSA y aprotinina). Luego, se incubaron con (i) sueros de ratones específicos para Cz y C-T, (ii) sueros de conejos específicos para Cz y C-T (iii) IgG purificadas a partir de sueros humanos con enfermedad de Chagas. Curiosamente, evidenciamos que el epítopo preferido para el reconocimiento inmunológico estaba constituido por una glucosamina

que portaba un grupo sulfato en la posición O-6 y un grupo N-acetilo. Al extender nuestros hallazgos al contexto de la infección natural, utilizando suero de pacientes con enfermedad de Chagas, confirmamos que el  $\text{GlcNAc-6-SO}_3$  sintético imita el sulfotopo unido al N-glicano que se muestra en el dominio C-T de la Cz natural, lo que respalda la contribución de este azúcar sulfatado en la respuesta humoral humana (Couto y col., 2012).



**Figura 7: Modelado mostrando la exposición del epítopo sulfatado en el dominio C-T de la Cz.** El modelo muestra al grupo sulfato (círculo naranja) en el oligosacárido unido a  $\text{Asn}_{255}$  del dominio C-terminal (GenBank AAB41119.1) de la Cz nativa. La estructura de Rx predicha del C-T se obtuvo a través del programa automático de modelado comparativo del servidor de secuencias Phire, analizado en modo automático, y el banco de datos de proteínas mostrando el match más cercano seleccionado para crear un modelo conteniendo azúcares. La localización de la  $\text{Asn}_{255}$  en estructura secundaria "random coil" favorece la exposición oligosacárido sulfatado como epítopo antigénico, se encuentra en el C-T de la Cz. Ver Barboza y col., 2005.

En este documento, mostramos un modelo del dominio C-T de la Cz nativo, obtenido por comparación de la homología de secuencias con otras proteínas utilizando el servidor phire Asn<sub>255</sub> del dominio C-T, correspondiente a la secuencia consenso se ubica en una espiral aleatoria que favorece la exposición del oligosacárido sulfatado (grupo sulfato + NAcGlc) como epitope antigénico o sulfotope (Figura 7).

Anteriormente, se identificó a nivel molecular una familia de SULTs de carbohidratos capaces de generar estas modificaciones (Hemmrich y Rosen 2000; Honke y Tanaguchi 2002; Kawashima y col., 2006). La presencia de grupos sulfatados como componentes de las glicoproteínas en epimastigotes indica que el parásito contiene actividad SULT. Sin embargo, en Trypanosomátidos, hasta ahora no se han informado datos sobre el mecanismo de sul-

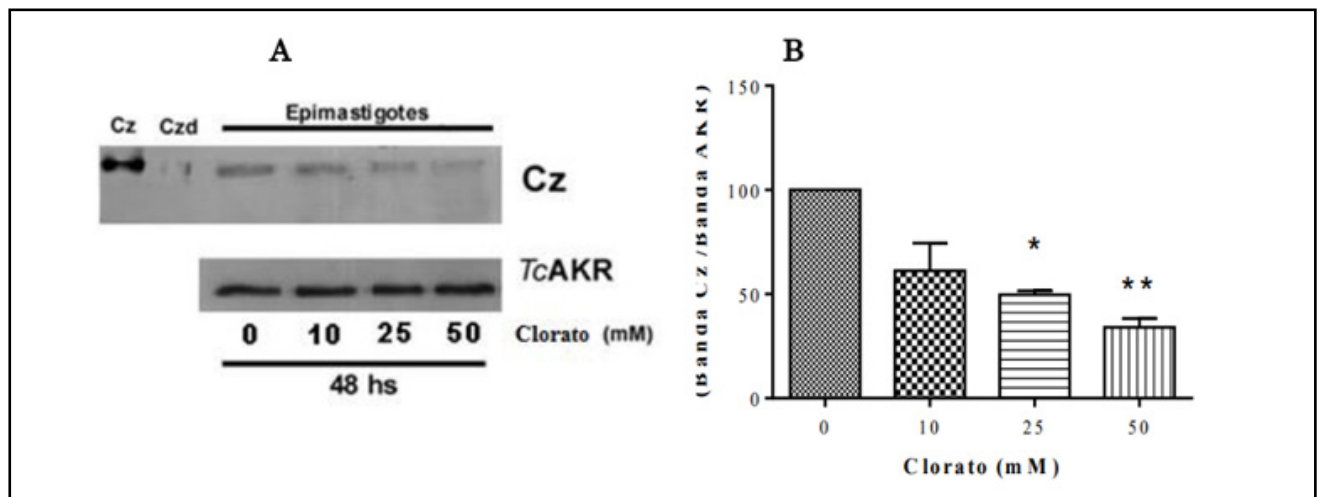
fatación completo y/o SULTs. Vale la pena mencionar que no existe una secuencia coincidente cuando se compara el banco de datos del genoma de *T. cruzi* con las SULTs descritas hasta la fecha, aunque se están desarrollando ensayos actualmente en curso en nuestro laboratorio.

#### ■ VIII-IMPLICANCIA DE LOS SULFOTOPES EN LA INFECCIÓN POR *TRYPANOSOMA CRUZI*

Entre este diverso grupo de inhibidores de la ATP-sulfurilasa, el clorato de sodio es sin duda el más utilizado en el área de investigación para determinar la presencia o rol de la sulfatación en diversos modelos de estudio *in-vitro*. Uno de los motivos principales es que no se ha descrito efecto colateral alguno entre los ensayos ni en la síntesis proteica ni en la viabilidad de las células tratadas (Baeuerle y Huttner, 1986; Tan

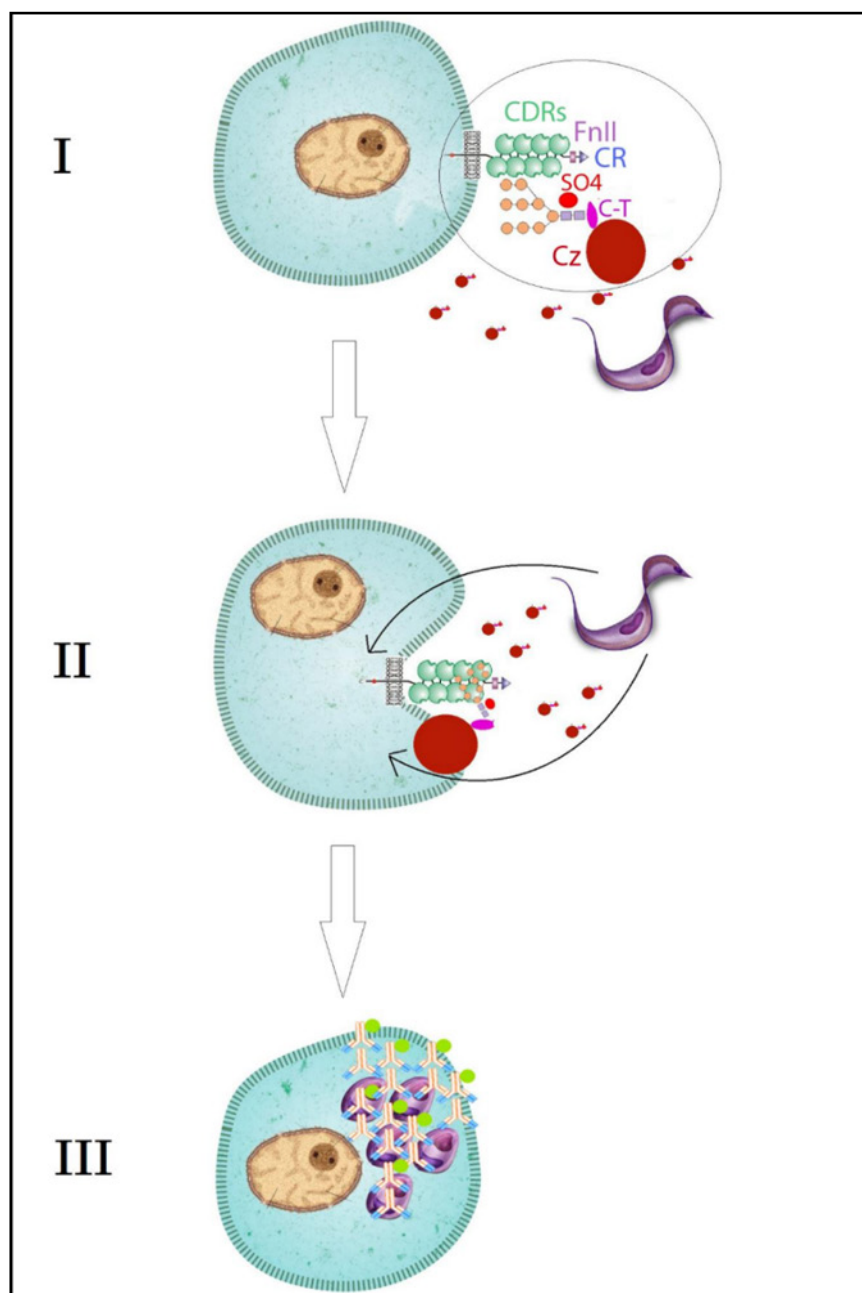
y col., 2013). Se ha utilizado como inhibidor para suprimir la sulfatación de proteínas en la tirosina, así como en los residuos de carbohidratos en células intactas. Hemos examinado el efecto *in vivo* del clorato sobre la sulfatación de la Cz en formas epimastigotes de *T. cruzi*. Así, tratamos los epimastigotes con concentraciones crecientes de clorato de sodio (10-80 mM) durante 24, 48 y 96 h. Los resultados mostraron que, a medida que aumenta la concentración de clorato, el reconocimiento de la Cz del parásito por anticuerpos sulfato-específicos disminuye, pero el reconocimiento de la Cz desulfatada, utilizada como control, no se alteró. (Figura 8A, B).

Dado que no hay genes canónicos putativos identificados para SULTs hasta ahora en el genoma de *T. cruzi*, este hecho sugiere que existen diferencias significativas en las secuencias entre *T. cruzi* y SULTs de



**Figura 8: Inmunoreconocimiento de la Cz en epimastigotes tratados con clorato de sodio.** **A.** Western blot de epimastigotes tratados con clorato. Como controles en las primeras dos calles se sembró Cz y Czd ambas puras y el revelado de las restantes calles sembradas con epimastigotes se reveló con IgGs-enriquecidas-AS (anticuerpos enriquecidos específicos para estructuras sulfatadas /sulfotopes) y con anti-TcAKR (proteína de *T. cruzi* recombinante como control de siembra (en la línea superior e inferior, respectivamente)). **B.** Se obtuvieron las relaciones entre la intensidad de señal de Cz / la intensidad de señal de TcAKR control para cada calle y se las relativizó con respecto al control (0 mM de clorato), el cual se consideró 100 % de intensidad de señal. El análisis de las intensidades de las bandas se realizó con software image J. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  (Test de ANOVA de un factor) Gráficos en software Graphpad Prism.

mamíferos. Por lo tanto, es necesario determinar si estas diferencias de secuencia permiten que estas enzimas puedan considerarse blancos válidos para el diseño de fármacos para ser usados como agentes quimioterapéuticos. Por otro lado, para iniciar los estudios sobre el proceso de sulfatación, los epimastigotes fueron tratados con clorato y analizados mostrando subsulfatación de la Cz y disminución de los niveles de sulfátidos, lo que indica que la sulfatación de *T. cruzi* ocurre vía PAPS. En nuestro grupo de trabajo, se evidenció la presencia de epitopes sulfatados en la superficie de los tripomastigotes. Además, los tripomastigotes tratados con clorato mostraron una menor capacidad para infectar las células cardíacas a concentraciones crecientes de clorato, lo que sugirió la participación de los sulfotopes de la Cz en el proceso de infección por *T. cruzi*. La exposición de sulfotopes en la superficie de los tripomastigotes y su participación en el proceso de invasión del parásito sugirieron un posible mecanismo utilizado por los parásitos para infectar células (Ferrero y col., 2014). Por lo tanto, propusimos un modelo de infección de los trypomastigotes de *T. cruzi* a miocardiocitos del hospedador vía receptor de manosa. El esquema del modelo propuesto muestra: **I**- la interacción descrita entre Cz y el receptor de manosa (Garrido y col., 2011); **II**- la vía de internalización propuesta para este receptor (Soeiro y col., 1999) y **III**- la detección de amastigotes por inmunofluorescencia directa sobre las células infectadas. Nuestros resultados proponen que existe una participación de los sulfatos de la Cz en la infección a través de la interacción de estos epitopes sulfatados (sulfotopes) con el dominio CR del receptor (Liu y col., 2000) (Figura 9).



**Figura 9. Esquema del modelo de infección propuesto de los trypomastigotes de *T. cruzi* a miocardiocitos del hospedador vía receptor de manosa.** El modelo de infección involucra la interacción entre la Cz liberada al medio por los trypomastigotes de *T. cruzi* y el receptor de manosa expresado en los miocardiocitos del hospedador. El receptor de Manosa contiene un **dominio rico en cisteína de unión a los azúcares sulfatados (CR)**, un dominio de fibronectina tipo II (FNII), y **dominios de reconocimiento de carbohidratos no sulfatados (CDRs)** (Martínez-Pomares y col., 2001). (Cz) Cruzipaina, (C-T) dominio C-terminal de la Cz, (SO<sub>4</sub>) sulfatación de la N-acetil hexosamina presente en la N-glicosilación o glicosilación en Asn<sub>255</sub> del C-T de la Cz.

Vale la pena señalar que la ruta de sulfatación y/o las SULTs del parásito

podrían ser objetivos relevantes para la quimioterapia de la enfermedad de

Chagas y están siendo estudiados por nuestro grupo de investigación.

**■ IX.-LOS SULFOTOPES DE LA CZ INTERACTÚAN CON LA MOLÉCULA INMUNOMODULADORA SIGLEC-E**

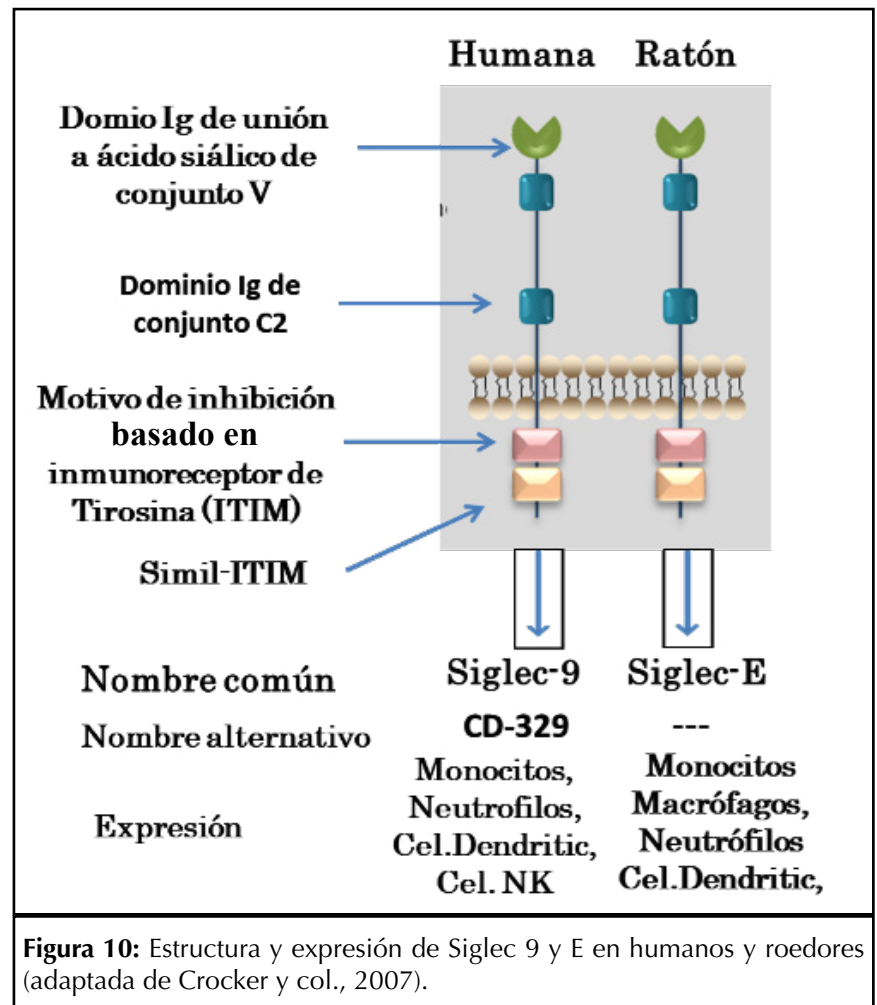
Las siglecs (lectinas similares a las inmunoglobulinas que se unen al ácido siálico) son proteínas de membrana de tipo 1 que se encuentran en humanos y roedores, que reconocen los ligandos que contienen ácido siálico y ejercen diversos efectos inmunomoduladores. La estructura de la Siglec-9 humana está compuesta por un solo dominio Ig de conjunto V, que confiere especificidad de glicano, y dos dominios Ig de conjunto C2, en la región extracelular, acoplados a través de un conector transmembrana a una cola citoplásmica que contiene un dominio de motivo de inhibición basado en tirosina inmunoreceptor (ITIM) e ITIM similar dominio (Crocker y col., 2007). Se expresa principalmente en neutrófilos, monocitos, células dendríticas y presenta una afinidad particularmente fuerte por los glicanos sialilados que contienen GlcNAc-6-SO<sub>3</sub>. La Siglec-E murina, una proteína ortóloga de la Siglec-9 humana, comparte patrones de expresión similares y parece tener funciones similares en el sistema inmunitario (McMillan y col., 2013).

Por otro lado, las transialidasas (TS) de *T. cruzi* escinden el ácido siálico de las glicoproteínas de la célula huésped y las transfieren a estructuras similares a mucina en la superficie del parásito, lo que puede conferir protección contra el sistema inmunitario. De hecho, el aumento de la actividad de la TS está asociado con la patogenicidad de la cepa. Estudios previos que utilizaron células CHO que expresan Siglec-E mostraron que los tripomastigotes de *T. cruzi* de la cepa patógena Tulahuen reclutan a Siglec-E en el sitio de unión en la membrana plasmática; en cambio, cuando se utilizó la cepa Tehuantepec no patógena, no hubo

reclutamiento de Siglec-E. Estos resultados se asociaron a la mayor actividad de TS en la cepa Tulahuen, que también presentó mayor unión a Siglec-E que la cepa Tehuantepec. Además, el entrecruzamiento de anticuerpos de Siglec-E en las células dendríticas (DC) disminuyó la producción de IL-12 en respuesta al lipopolisacárido (LPS). Curiosamente, la cepa Tulahuen fue capaz de reducir la IL-12 y aumentar la producción de IL-10 en CD estimuladas con LPS de una manera dependiente del ácido siálico (Jacobs y col., 2010).

Otros estudios sobre la interacción de Siglec-E con *T. cruzi* realizados por nuestro grupo de investigación mostraron que las proteínas

de secreción y de membrana representan la mayoría de los ligandos de Siglec-E en el parásito. Entre ellos, Siglec-E se unió a las moléculas de Cz secretadas por los tripomastigotes metacíclicos, como también a la Cz lisosomal de los epimastigotes de *T. cruzi*. La sulfatación de la Cz mejoró el reconocimiento de Siglec-E ya que el tratamiento de desulfatación sobre la Cz redujo su interacción con Siglec-E según lo observado por ELISA. Demostramos que la Cz se une a Siglec-E y esta interacción se potenció con la sulfatación de la proteína. La contribución de la sulfatación en el reconocimiento de Siglec-E también se confirmó en los tripomastigotes, donde el tratamiento con clorato disminuyó el reconocimiento de Siglec-E. Tam-





bién demostramos que los epítopos sulfatados de la Cz, probablemente entre otros, están expuestos sobre la superficie del parásito y que la inhibición de la sulfatación con clorato de sodio afecta negativamente el reconocimiento de Siglec-E de la superficie de los tripomastigotes. Además, también hemos demostrado que Siglec-E interactúa con los tripomastigotes de *T. cruzi* y esta interacción podría correlacionarse con la virulencia como se describió anteriormente (Erdmann y col., 2009). En conjunto, estos hallazgos evidenciaron que las glicoproteínas sialiladas que contienen sulfotopes de *T. cruzi* podrían contribuir a la inmunomodulación del huésped a través de su interacción con Siglec-E, favoreciendo la parasitemia y la persistencia del parásito (Figura 10) (Ferrero y col., 2016).

En conjunto, nuestros hallazgos respaldan no sólo la noción que el reconocimiento del ligando Siglec-E se ve potenciado por la presencia de sulfatos, sino también que la sulfatación de *T. cruzi* tiene un papel determinante en la inmunomodulación de la respuesta del huésped sobre la infección. Los descubrimientos descritos por nuestro grupo denotan la enorme importancia de la sulfatación de la Cz en la evolución de la enfermedad de Chagas

#### ■ X-ASOCIACIÓN ENTRE SULFOTOPES E INMUNOPATOGENESIS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EXPERIMENTAL

Recientemente, hemos demostrado que los anticuerpos específicos para los sulfotopes de la Cz generan anomalías en el tejido cardíaco de los ratones inmunizados y favorecen la infección con *T. cruzi* en el modelo de Enfermedad de Chagas experimental en ratones BALB/c.

Para este estudio, se realizaron tres estrategias independientes. En primer lugar, los ratones se expusieron previamente al dominio C-T mediante inmunización. Los ratones inmunizados con C-T (C-T<sub>IM</sub>) indujeron la producción de citoquinas de los perfiles Th2, Th17 y Th1 con respecto a los de C-T<sub>IM</sub> desulfatados (C-T<sub>IM</sub>d), que solo indujeron IL-10 con respecto a los ratones control. Sorprendentemente, después del desafío subletal, tanto C-T<sub>IM</sub> como C-T<sub>IM</sub>d mostraron una parasitemia y una mortalidad significativamente más altas que las del grupo control. En segundo lugar, los ratones expuestos a BSA-GlcNAc6S como inmunógeno (BSA-GlcNAc6S<sub>IM</sub>) mostraron alteraciones cardíacas ultraestructurales severas mientras que con el inmunógeno no sulfatado BSA-GlcNAc<sub>IM</sub> el tejido conservó la arquitectura regular con ligeros cambios en las miofibrillas; mostró una fuerte respuesta inmune humoral altamente específica que reprodujo el perfil de isotipos de IgG obtenido demostrando inmunodominancia de los sulfotopes con respecto al inmunógeno no sulfatado BSA-GlcNAc<sub>IM</sub>. Después del desafío subletal, BSA-GlcNAc6S<sub>IM</sub> que expone los sulfotopes, mostró parasitemias exacerbadas a pesar de que se registraron niveles elevados de IFN-γ. En ambos casos, la anulación de las alteraciones ultraestructurales cuando se usan inmunógenos desulfatados respaldaron la implicancia directa de los sulfotopes y/o el efecto indirecto a través de sus anticuerpos específicos, en la inducción de daño tisular. Finalmente, en una tercera estrategia se utilizó una transferencia pasiva de los anticuerpos específicos para los sulfotopes (IgG-GlcNAc6S) mostrando la actividad perjudicial de los IgGs-GlcNAc6S en el tejido cardíaco de ratones y los ratones tratados con IgGs-GlcNAc6S después de una dosis subletal de *T. cruzi*; sorprendentemente alcanzaron pa-

rasitemias más altas que los grupos control. Estos hallazgos confirmaron el papel indirecto de los sulfotopes, a través de sus IgGs-GlcNAc6S, tanto en la inmunopatogenicidad además de favorecer la infección por *T. cruzi* (Soprano y col., 2022). El modelo utilizado combinando murino-BALB/c-cepa *T. cruzi*-Tul 2, ha demostrado ser muy adecuado, considerando tanto los excelentes resultados obtenidos como la experiencia previa adquirida en nuestro laboratorio (Figura 11)

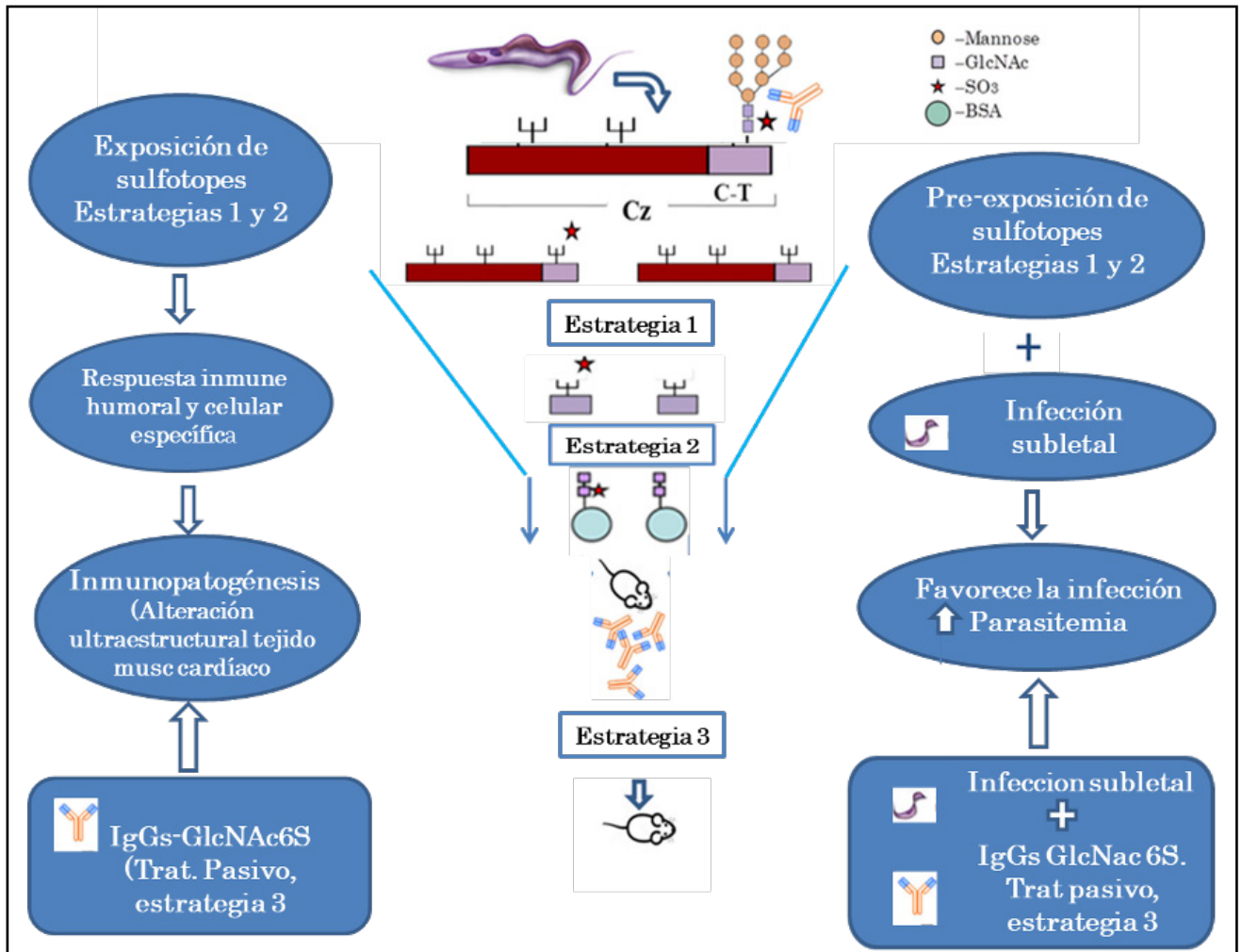
En resumen, la pre-exposición de los sulfotopes mediante la inmunización de ratones BALB/c con C-T y BSA-GlcNAc6S ha demostrado su aporte en la inmunopatogénesis, debido a las alteraciones ultra-estructurales, mostradas en el tejido muscular cardíaco, y dado que favorecieron la infección del parásito, como se refleja en las altas parasitemias alcanzadas. Ambas inmunizaciones activas revelaron la participación de los GlcNAc6S en algunos mecanismos de resistencia a las parasitemias elevadas, posiblemente asociadas al perfil de citoquinas. Además, se ha demostrado que GlcNAc6S es un antígeno inmunodominante capaz de activar fuertes respuestas inmunes y de generar altos niveles de respuestas humorales, respuestas enriquecidas en IgGs-GlcNAc6S. Además, podríamos imaginar que GlcNAc6S podría aumentar los factores de virulencia para la infección por *T. cruzi* o jugar una parte importante en las estrategias de infección de parásitos o en mecanismos de evasión. Después de la aplicación de dos estrategias activas que expusieron a los ratones BALB/c a daño de tejido cardíaco ultra-estructural o el resultado de la infección por *T. cruzi* a favor del parásito, demostró ser consistente con un efecto directo y/o efecto indirecto de los GlcNAc6S o de sus Anticuerpos, respectivamente. Sin

embargo, la tercera estrategia usando una transferencia pasiva de IgGs-GlcNAc6S purificados, nos permitió confirmar el papel indirecto de los GlcNAc6S, a través de sus IgGs-GlcNAc6S, en la inmunopatogénesis y en la infección por *T. cruzi*.

Como una característica sor-

prendente, hemos demostrado que IgGs-GlcNAc6S son responsables de causar un daño cardíaco ultraestructural severo, probablemente al inducir el complemento o a la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (conocida como ADCC) y que puede favorecer la infección parasitaria por opsonización o en-

mascaramiento de las moléculas de la superficie como lo demuestran los valores de alta parasitemia obtenidos. Curiosamente, los IgGs-GlcNAc6S podrían desempeñar un papel en la supervivencia de los ratones, arrojando parásitos en los tejidos blanco mediante el bloqueo de factores virulentos sulfatados y/o



**Figura 11.** La Cz activa fue obtenida a partir de epimastigotes de *T. cruzi*, el C-T fue purificado a partir de la Cz. Los pares inmunogénicos Cz/Czd y C-T/C-Td fueron obtenidos por desulfatación química. Los últimos fueron utilizados en la estrategia 1. En la estrategia 2, los inmunógenos sintéticos utilizados fueron GlcNAc6S/GlcNAc acoplados a BSA como proteína carrier. Ambas estrategias 1 y 2 evidenciaron tanto las respuestas inmunes humoral y celular y la patogénesis ultraestructural en el tejido muscular cardíaco, después de la exposición *in vivo* al sulfotopo, en ratones pre-expuestos al sulfotopo (estrategias 1 y 2), y desafiadas de modo subletal, la infección mostró ser favorecida con parasitemias elevadas. Finalmente, en la estrategia 3, el tratamiento pasivo con anticuerpos obtenidos en la estrategia 2 fue llevada a cabo. El tratamiento ha demostrado que los anticuerpos IgGs específicos para GlcNAc6S por exposición *in vivo* ha generado alteraciones ultraestructurales en tejido cardíaco y la administración de IgGs-GlcNAc6S luego del desafío subletal favoreciendo la infección del parásito.

○, mannose; □, GlcNAc; ★, SO<sub>3</sub>; ●, BSA; Y, IgG-GlcNAc6S.

formando parte en la restricción de la infección. Interesantemente, se identificaron los efectos de los IgG5-GlcNAc6S, desempeñando un papel tanto en la patogenia como en el proceso de infección.

## ■ XI.-GLICOESFINGOLÍPIDOS

### LOS GLICOESFINGOLÍPIDOS SON COMPUESTOS UBICUOS EN LAS CÉLULAS EUCARIOTAS

Entre ellos, los gangliósidos y los sulfoglucosfingolípidos (SGSL, también conocidos como sulfátidos) que representan a los glicoesfingolípidos ácidos (AGSL), juegan un papel importante en los procesos de adhesión, así como en la proliferación y diferenciación de muchos sistemas celulares. En cuanto a los SGSL, se biosintetizan por la acción de las SULTs que unen los grupos sulfato como mono-ésteres al resto de azúcar. Se han descrito dos enzimas diferentes, la SULTs, una que produce HSO<sub>3</sub>-3GalCer y HSO<sub>3</sub>-3LacCer, y otra GlcA-3-O, responsables del "Human Natural Killer-1" sulfatado y de la síntesis de epitopes (Hirahara y col. 2000; Senn y col. 1990). A medida que cambian los niveles de sulfátidos celulares, influyen en la progresión de la enfermedad cardiovascular y del cáncer y se han propuesto como bio-marcado-

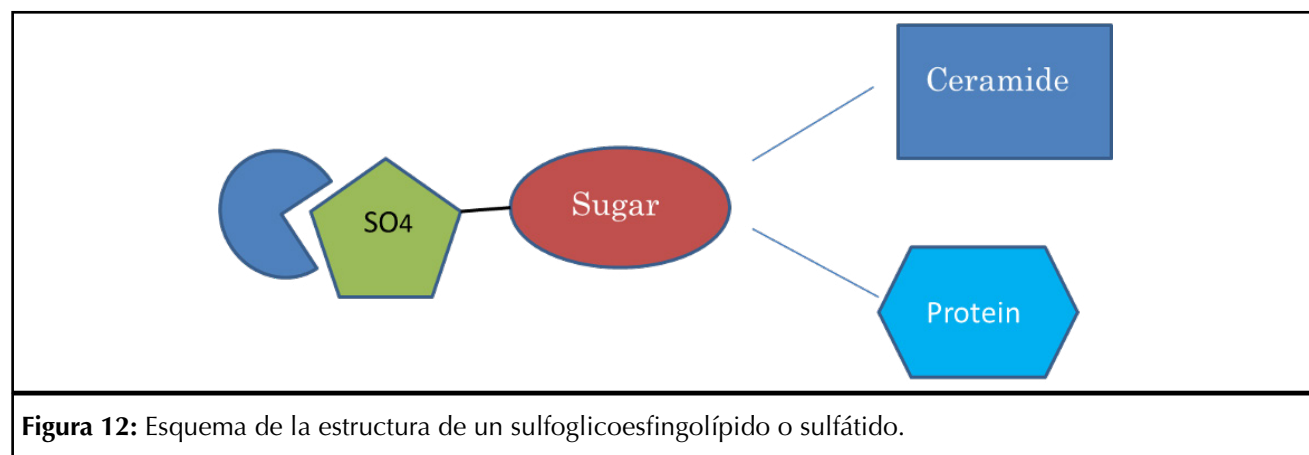
res potenciales (Xiao y col. 2013). Curiosamente, los protozoos parásitos también biosintetizan los SGSL. Se han evidenciado en los estadios intra-eritrocíticos de *Plasmodium falciparum* (Landoni y col. 2007) y en los diferentes estadios de *Trypanosoma cruzi* (Lederkremer y col. 1985; Barreto-Bergter y col. 1985; Uhrig y col. 1992).

## ■ XII.-SULFOGLUCOSFINGOLÍPIDOS EN *TRYPANOSOMA CRUZI*.

Nuestro grupo realizó el primer estudio de extracción, purificación y caracterización estructural mediante análisis de espectrometría de masas UV-MALDI-TOF de SGSLs presentes en formas epimastigotes de *T. cruzi*. Se determinaron las dihexosilceramidas que contienen sulfoglucuronilo compuestas principalmente de esfingosina como base de cadena larga acilada con ácido esteárico (Acosta y col., 2012). Con respecto al papel de este tipo de lípidos ácidos, los glicolípidos sulfatados que actúan como antígenos comunes entre *T. cruzi* y los tejidos de mamíferos fueron descritos tempranamente (Petry y col., 1988). Más tarde, los glicoesfingolípidos neutros (GSL) también fueron implicados como antígenos de reacción cruzada en la autoinmunidad de la enfermedad de Chagas (Vermelho

y col., 1997). Sin embargo, había poca información disponible sobre la estructura de los SGSL y sus funciones en los parásitos protozoarios (Leipelt y col., 2001).

En esta línea, realizamos ensayos de inhibición de ELISA con sueros específicos para Cz y C-T, después de adsorción con cantidades crecientes de sulfátidos de epimastigote antes y después del tratamiento de desulfatación, demostrando que el sulfotopo es común tanto a Cz como a sulfátidos de *T. cruzi*. También se determinó que la reactividad cruzada se localizaba en el dominio C-T de la Cz. Además, hemos proporcionado evidencia de que en *T. cruzi*, estos epitopes sulfatados son antigénicos independientemente del tipo de glicoconjugado sulfatado y sugirieron que los anticuerpos específicos para los mismos están relacionados con la enfermedad de Chagas crónica leve y podrían desempeñar un papel como predictores de estabilidad desde las primeras etapas de la enfermedad de Chagas crónica (Figura 11) (Acosta y col., 2012). En resumen, proporcionamos evidencia de que los motivos sulfatados de *T. cruzi* unidos a azúcares (sulfotopes) son antigénicos y que los anticuerpos IgG2 específicos para estos sulfotopes de glicoconjugados podrían considerarse marcadores



**Figura 12:** Esquema de la estructura de un sulfoglicoesfingolípido o sulfátido.

de progresión de la enfermedad de Chagas crónica y resultar su estudio de interés sanitario, buscando la manera de evitar el aumento del nivel de estos isotipos IgG2 en pacientes con enfermedad de Chagas crónica.

## ■ REFERENCES

- Acosta, D.M., Arnaiz, M.R., Esteva, M.I., y col. (2008). Sulfates are main targets of immune responses to cruzipain and are involved in heart damage in BALB/c immunized mice. *Int. Immunol.* 20(4), 461-470.
- Acosta, D.M., Soprano, L.L., Ferrero, M.R., y col. (2012). Structural and immunological characterization of sulfatides: Relevance of sulphate moieties in *Trypanosoma cruzi* glycoconjugates. *Parasite Immunol.* 34(11), 499-510.
- Acosta, D.M., Soprano, L.L., Ferrero, M., y col. (2011). A striking common O-linked N-acetylglucosaminyl moiety between cruzipain and myosin. *Parasite Immunol.* 33(7), 363-370.
- Andrade, J.A., Marin-Neto, J.A., Vincenzo de Paola, A.A., y col. (2011). Latin American Guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas' heart disease: executive summary. *Arq Bras Cardiol.* 96, 434-442.
- Baeuerle, P.A., Huttner, W.B. (1986) Chlorate. A potent inhibitor of protein sulfation in intact cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 141(2), 870-877.
- Barreto-Bergter, E., Vermelho, A.B., Hogge, L., Gorin, P.A.J. (1985) Glycolipid components of epimastigote forms of *Trypanosoma cruzi*. *Comp. Biochem. Physiol.* B. 80, 543-545.
- Bastos, I.M.D., Grellier, P., Martins, N.F., y col., (2005). Molecular, functional and structural properties of the prolyl oligopeptidase of *Trypanosoma cruzi* (POP Tc80), which is required for parasite entry into mammalian cells. *Biochem J.* 388, 29-38.
- Benghezal, M., Fauvarque, M.O., Tournebize, R., y col. (2006) Specific host genes required for the killing of *Klebsiella* bacteria by phagocytes. *Cell Microbiol.* 8(1), 139-148.
- Bernstein, H.B., Compans, R.W. (1992) Sulfation of the human immunodeficiency virus envelope glycoprotein. *J. Virol.* 66, 6953-6959.
- Bivona, A.E., Alberti, A.S., Cerny, N., Trinitario, S. N., Malchiodi, E.L. (2020). Chagas disease vaccine design: the search for an efficient *Trypanosoma cruzi* immune-mediated control. *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Molecular Basis Dis.* 1866(5),165658-
- Burleigh, B.A., Andrews, N.W. (1995) A 120-kDa alkaline peptidase from *Trypanosoma cruzi* is involved in the generation of a novel Ca (2+)-signaling factor for mammalian cells. *J Biol Chem.* 270(10), 5172-5180.
- Burleigh, B.A., Caler, E.V., Webster, P., Andrews, N.W. (1997) A cytosolic serine endopeptidase from *Trypanosoma cruzi* is required for the generation of Ca<sup>2+</sup> signaling in mammalian cells. *J Cell Biol.*136(3), 609-620.
- Cadavid-Restrepo, G., Gastardelo, T.S., Faudry, E., y col., (2011) The major leucyl aminopeptidase of *Trypanosoma cruzi* (LAPTc) assembles into a homohexamer and belongs to the M17 family of metallopeptidases. *BMC Biochem.* 23, 12-46.
- Campetella, O., Henriksson, J., Aslund, L., y col., (1992) The major cysteine proteinase (cruzipain) from *Trypanosoma cruzi* is encoded by multiple polymorphic tandemly organized genes located on different chromosomes. *Mol. Biochem. Parasitol.* 50, 225-234.
- Cazorla, S.I., Frank, F.M., Malchiodi, E.L. (2009). Vaccination approaches against *Trypanosoma cruzi* infection. *Expert Rev. Vaccines* 8(7), 921-935.
- Cazorla, S.I., Frank, F.M., Becker, P.D., y col., (2010). Redirection of the immune response to the functional catalytic domain of the cysteine proteinase cruzipain improves protective immunity against *Trypanosoma cruzi* infection. *J. Infect. Dis.* 202(1), 136-144.
- Cazzulo, J.J., Hellman, U., Couso, R., Parodi, A.J.A. (1990) Amino acid and carbohydrate composition of a lysosomal cysteine proteinase from *Trypanosoma cruzi*. Absence of phosphorylated mannose residues. *Mol. Biochem. Parasitol.* 38, 41-48.
- Cazzulo, J.J., Labriola, C., Parussini, F., Duschak, V.G., y col., (1995) Cysteine proteinases in *Trypanosoma cruzi* and other Trypanosomatid parasites. *Acta Chim. Slov.* 42,409-418.
- Cazzulo, J.J., Stoka, V., Turk, V. (2001) Cruzipain, the major cysteine proteinase from the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*. *Curr. Pharm. Des.* 7, 1143-1156.
- Cazzulo, J.J. (2002) Proteinases of *Trypanosoma cruzi*: potential

- targets for the chemotherapy of Chagas disease. *Curr Top Med Chem.* 2(11), 1261-1271.
- Cerny, N., Sánchez Alberti, A., Bivona, A.E., y col., (2016). Co-administration of cruzipain and GM-CSF DNAs. A new immunotherapeutic vaccine against *Trypanosoma cruzi* infection. *Hum. Vaccines immunotherapeutics* 12(2), 438–450.
- Couto, A.S., Soprano, L.L., Landoni, M., y col. (2012). An anionic synthetic sugar containing 6-SO<sub>3</sub>-NAcGlc mimics the sulfated cruzipain epitope that plays a central role in immune recognition. *FEBS J.* 279(19), 3665–3679.
- Crocker, P.R., Paulson, J.C., Varki, A. (2007) Siglecs and their roles in the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 7, 255-266. Review
- Cunha-Neto, E., Teixeira, P.C., Nogueira, L.G., y col. (2006). New Concepts on the Pathogenesis of Chronic Chagas Cardiomyopathy: Myocardial Gene and Protein Expression Profiles. *Rev. Da Sociedade Bras. Medicina Trop.* 39, 59–62.
- da Silva-Lopez, R.E., Morgado-Díaz, J.A., dos Santos, P.T. (2008). Purification and subcellular localization of a secreted 75 kDa *T. cruzi* serine oligopeptidase. *Acta Trop.* 107, 159-167.
- de Lederkremer, R.M., Zingales, B., Confalonieri, A.N., y col. (1985) *In vivo* incorporation of palmitic acid and galactose in glycolipids of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Biochem. Int.* 10, 79-88.
- Duschak, V.G., Barboza, M., Couto, A.S., y col., (1999). Cisteina proteinasas en *Trypanosoma cruzi*. *Medicina (Buenos Aires).* 59, 15-15.
- Duschak, V.G., Riarte, A., Segura, E.L., Laucella, S.A. (2001). Humoral immune response to cruzipain and cardiac dysfunction in chronic Chagas disease. *Immunol. Lett.* 78(3), 135-142.
- Duschak, V.G., Barboza, M., Couto, A.S. (2003). *Trypanosoma cruzi*: Partial characterization of minor cruzipain isoforms non-adsorbed to Concanavalin A-Sepharose. *Exp. Parasitol.* 104 (3-4), 122–130.
- Duschak, V.G., Barboza, M., Garcia, G.A., y col. (2006). Novel cysteine proteinase in *Trypanosoma cruzi* metacyclogenesis. *Parasitology.* 132, 345-.
- Duschak, V.G., Couto, A.S. (2009). Cruzipain, the major cysteine protease of *Trypanosoma cruzi*: A sulfated glycoprotein antigen as relevant candidate for vaccine development and drug target. *A Review. Curr. Med. Chem.* 16(24), 3174–3202.
- Duschak V.G. (2016). Targets and Patented Drugs for Chemotherapy of Chagas Disease in the Last 15 Years-Period. *Recent patents anti-infective Drug Discovery* 11 (2), 74–173.
- Duschak, V.G. (2019). Major Kinds of Drug Targets in Chagas Disease or American Trypanosomiasis. *Curr. Drug Targets* 20 (11), 1203-1216.
- El-Sayed, N.M., Myler, P.M., Bartholomeu, D.C. y col. (2005). The genome sequence of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas disease *Science* 309(5733), 409-415.
- Erdmann, H., Steeg, C., Koch-Nolte, F., Fleischer, B., Jacobs, T. (2009) Sialylated ligands on pathogenic *Trypanosoma cruzi* interact with Siglec-E (sialic acid-binding Ig-like lectin-E). *Cell Microbiol* 11, 1600-1611.
- Esko J.D., Lindahl, U. (2001) Molecular diversity of heparan sulfate. *J Clin Invest.* 108(2), 169-173.
- Ferrero, M.R., Soprano, L.L., Acosta, D.M., y col. (2014). Effects of chlorate on the sulfation process of *Trypanosoma cruzi* glycoconjugates. Implication parasite sulfates cell invasion. *Acta Tropica* 137, 161–173.
- Ferrero, M.R., Heins, A.M., Soprano, L.L., y col. (2016) Involvement of sulfates from cruzipain, a major antigen of *Trypanosoma cruzi*, in the interaction with immunomodulatory molecule Siglec-E. *Med. Microbiol. Immunol.* 205, 21-35.
- Freeze, H.H., Mierendorf, R.C., Wunderlich, R., Dimond, R.L. (1984) Sulfated oligosaccharides block antibodies to many *Dictyostelium discoideum* acid hydrolases. *J. Biol. Chem.* 259(16), 10641-10643.
- Freeze, H.H., Wolgast, D. (1986) Structural analysis of the N-linked oligosaccharides glycoproteins secreted by *Dictyostelium discoideum*. Identification of mannose-6- sulfate. *J Biol. Chem.* 261, 127-134.
- Fukuda, M., Hiraoka, N., Akama, T.O., Fukuda, M.N. (2001) Carbohydrate-modifying sulfotransferases: structure, function, and pathophysiology. *J. Biol. Chem.* 276, 47747–47750.
- Garrido, V.V., Dulgerian, L.R., Stempin, C.C., Cerbán, F.M. (2011)

- The increase in mannose receptor recycling favors arginase induction and *Trypanosoma cruzi* survival in macrophages. *Int. J. Biol. Sci.* 7(9), 1257-1272.
- Giordanengo, L., Fretes, R., Díaz, H., y col., (2000a). Cruzipain induces autoimmune response against skeletal muscle and tissue damage in mice. *Muscle Nerve* 23(9), 1407-1413.
- Giordanengo, L., Maldonado, C., Rivarola, H.W., y col. (2000b). Induction of antibodies reactive to cardiac myosin and development of heart alterations in cruzipain-immunized mice and their offspring. *Eur. J. Immunol.* 30(11), 3181-3189.
- Giordanengo, L., Guiñazú, N., Stempin, C., y col. (2002). Cruzipain, a major *Trypanosoma cruzi* antigen, conditions the host immune response in favor of parasite. *Eur. J. Immunol.* 32(4), 1003-1011.
- Gironés, N., Fresno, M. (2003) Etiology of Chagas disease myocarditis: autoimmunity, parasite persistence, or both? *Trends Parasitol.* 19(1):19-22.
- Guiñazú, N., Pellegrini, A., Giordanengo, L., y col., (2004). Immune response to a major *Trypanosoma cruzi* antigen, cruzipain, is differentially modulated in C57BL/6 and BALB/c mice. *Microbes infection* 6(14), 1250-1258.
- Hemmerich, S., Rosen, S.D. (2000) Carbohydrate sulfotransferases in lymphocyte homing. *Glycobiology.* 10, 849-856.
- Hirahara, Y., Tsuda, M., Wada, Y., Honke, K. (2000) cDNA cloning, genomic cloning, and tissue-specific regulation of mouse cerebroside sulfotransferase. *Eur. J. Biochem.* 267,1909-1917.
- Jacobs, T., Erdmann, H., Fleischer, B. (2010) Molecular interaction of Siglecs (sialic acid-binding Ig-like lectins) with sialylated ligands on *Trypanosoma cruzi*. *Eur. J. Cell. Biol.* 89, 113-116.
- Kawasaki, N., Ohta, M., Hyuga, S., Hashimoto, O. and Hayakawa, T. (2000) Application of liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography with tandem mass spectrometry to the analysis of the site-specific carbohydrate heterogeneity in erythropoietin. *Anal. Biochem.* 285, 82-91.
- Kawashima, H. (2006) Roles of sulfated glycans in lymphocyte homing. *Biol. Pharm. Bull.* 29, 2343-2349.
- Klemba, M., Goldberg, D.E. (2002). Biological roles of proteases in parasitic protozoa. *Annu. Rev. Biochem.* 71(1), 275-305.
- Klaassen, C.D., Boles, J.W. (1997) Sulfation and sulfotransferases 5: the importance of 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate (PAPS) in the regulation of sulfation. *FASEB J* 11(6), 404-418.
- Kovensky, J (2009) Sulfated oligosaccharides: new targets for drug development? *Curr Med Chem.* 16(18), 2338-2344.
- Labriola, C., Souza, M., Cazzulo, J.J. (1993) Purification of the major cysteine proteinase (cruzipain) from *Trypanosoma cruzi* by affinity chromatography. *Biol. Res.* 26, 101.
- Landoni, M., Duschak, V.G., Erra-Balsells R., Couto A.S. (2008) UV-MALDI mass spectrometry analysis of NBD-glycosphingolipids without an external matrix. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 19(7), 923-926.
- Leipelt, M., Warnecke, D., Zahringer, U. y col. (2001) Glucosylceramide synthases, a gene family responsible for the biosynthesis of glucosphingolipids in animals, plants and fungi. *J. Biol. Chem.* 276, 33621-33629.
- Honke, K. Taniuchi, N. (2002) Sulfotransferases and sulfated oligosaccharides. *Med. Res. Rev.* 22, 637-654.
- Leon, J.S., Engman, D.M. (2003). The significance of autoimmunity in the pathogenesis of Chagas heart disease. *Front. Biosci.* 8, e315-e322.
- Linehan, S.A. (2005). The mannose receptor is expressed by subsets of APC in non-lymphoid organs. *BMC Immunol.* 6,4.
- Liu, Y., Misulovin, Z., Bjorkman, P.J. (2001) The molecular mechanism of sulfated carbohydrate recognition by the cysteine rich domain of mannose receptor. *J. Mol. Biol.* 305, 481.
- Magalhães Ferreira, K.A., Fajardo, E.F., Baptista, R.P., y col., (2014) Species-specific markers for the differential diagnosis of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* and polymorphisms detection in *Trypanosoma rangeli*. *Parasitol Res.* 113, 2199-2207.
- Marin-Neto, J.A., Cunha-Neto, E., Maciel, B.C., Simões, M.V. (2007). Pathogenesis of Chronic Chagas Heart Disease. *Circulation* 115 (9), 1109-1123.
- McMillan, S.J., Sharma, R.S., McKenzie, E.J., y col. (2013) Siglec-E is a negative regulator of acute pulmonary neutrophil

- inflammation and suppresses CD11b $\beta$ 2-integrin-dependent signaling. *Blood* 121(11), 2084-2094.
- Martinez, J., Competella, O., Frasch, A.C.C., Cazzulo, J.J. (1991) The major cysteine proteinase (cruzipain) from *Trypanosoma cruzi* is antigenic in human infections. *Infect. Immun.* 59, 4275
- Martinez, J., Competella, O., Frasch, A.C., Cazzulo, J.J. (1993) The reactivity of sera from chagasic patients against different fragments of cruzipain, the major cysteine proteinase of *Trypanosoma cruzi*, suggests the presence of defined antigenic and catalytic domains. *Immunol. Lett.* 35, 191-196.
- Martinez-Pomares, L., Linehan, S.A., Taylor, P.R., Gordon S. (2001) Binding properties of the mannose receptor. *Immunobiology.* 204(5), 527-535.
- Murta, A.C., Leme, V.C., Milani, S R., Travassos, L.R., Scharfatein, J. (1988). Glycoprotein GP57/51 of *Trypanosoma cruzi*: structural and conformational epitopes defined with monoclonal antibodies. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 83(Suppl. 1), 419
- Noguchi, N., Nakano, M. (1992) Structure of the acidic N-linked carbohydrate chains of the 55-kDa glycoprotein family (PZP3) from porcine zona pellucida. *Eur. J. Biochem.* 213, 39-56.
- Organización Mundial de la Salud. (2021). Chagas Disease (American Trypanosomiasis). Fact Sheet (WHO). Available at: [https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).
- Organización Panamericana de la Salud (2021). Available at: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedad-chagas>. 86(12), 4422-4429
- Parodi, A.J.A., Labriola, C., Cazzulo, J.J. (1995) The presence of complex-type oligosaccharides at the C-terminal domain glycosylation site of some molecules of cruzipain. *Mol. Biochem. Parasitol.* 69, 247-255.
- Parussini, F., Duschak, V.G., Cazzulo, J.J. (1998) Membrane-bound cysteine proteinase isoforms in different developmental stages of *Trypanosoma cruzi*. *Cell. Mol. Biol.* 44, 513-519.
- Parussini, F., García, M., Mucci, J., y col., (2003). Characterization of a lysosomal serine carboxypeptidase from *T. cruzi*. *Mol Biochem Parasitol.* 131, 11-23.
- Pellegrini, A., Guiñazu, N., Giordanengo, L., Cano, R.C., Gea, S. (2011). The role of Toll-like receptors and adaptive immunity in the development of protective or pathological immune response triggered by the *Trypanosoma cruzi* protozoan. *Future Microbiol.* 6, 1521-1533.
- Petry, K., Nudelman, E., Eisen, H., Hakomori, S. (1988) Sulfated lipids represent common antigens on the surface of *Trypanosoma cruzi* and mammalian tissues. *Mol. Biochem. Parasitol.* 30, 113-121.
- Rapraeger, A.C., Krufka, A., Olwin, B.B. (1991) Requirement of heparan sulfate for bFGF mediated fibroblast growth and myoblast differentiation. *Science* 252, 1705-1708.
- Sabino, E.C., Ribeiro, A.L., Salemi, V.M., y col. (2013) Ten-year incidence of Chagas cardiomyopathy among asymptomatic *Trypanosoma cruzi*-seropositive former blood donors. *Circulation.* 127, 1105-1115.
- Sanchez Alberti, A., Bivona, A.E., Cerny, N., y col., (2017) Engineered trivalent immunogen adjuvanted with a STING agonist confers protection against *Trypanosoma cruzi* infection. *NPJ Vaccines.* 2, 9-12
- Santana, J.M., Grellier, P., Schrevel, J., Teixeira, A.A. (1997). *Trypanosoma cruzi*-secreted 80 kDa proteinase with specificity for human collagen types I and IV. *Biochem J.* 325,129-137.
- Scharfstein, J., Rodriguez, M.M., Alves, C.A., y col. (1983) *Trypanosoma cruzi*: description of a highly purified surface antigen defined by human antibodies. *J. Immunol.* 131, 972-976.
- Schnapp, A.R., Eickhoff, C.S., Sizemore, D., Curtiss, R. Hoft, D.F. (2002). Cruzipain induces both mucosal and systemic protection against *Trypanosoma cruzi* in mice. *Infect. Immun.* 70:5065-5074.
- Senn, H.J., Orth, M., Fitzke, E., y col. (1990) Altered concentrations, patterns and distribution in lipoproteins of serum gangliosides in liver diseases of different etiologies. *J Hepatol.* 11(3), 290-296.
- Shukla, D., Liu, J., Blaiklock, P., y col. (1999) A novel role for 3-O-sulfated heparin sulfate in herpes simplex virus 1 entry. *Cell* 99, 13-22.

- Soeiro, M.de N., Paiva, M.M., Barbosa, H.S., Meirelles, M.de N., Araújo-Jorge, T.C. (1999) A cardiomyocyte mannose receptor system is involved in *Trypanosoma cruzi* invasion and is down-modulated after infection. *Cell. Struct. Funct.* 24(3), 139-149.
- Soprano, L.L., Ferrero, M.R., Olgia-ti, M.L., y col. (2018). Input of NAcGlc6SO<sub>3</sub> epitopes (sulfotopes) present in *Trypanosoma cruzi* glycoproteins, and their specific antibodies, in the infection and immune pathogenesis of experimental Chagas Disease. *Int. J. Infect. Dis.* 73, 113-114.
- Soprano, L.L., Ferrero, M.R., Landoni M., y col. (2022) Cruzipain sulfotopes-specific antibodies generate cardiac tissue abnormalities and favor *Trypanosoma cruzi* infection in the BALB/c mice model of experimental Chagas disease. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.814276>
- Souto-Padrón, T., Campetella, O., Cazzulo, J.J., de Souza, W. (1990) Cystein proteinase in *Trypanosoma cruzi*: immunocytochemical localization and involvement in parasite-host cell interaction. *J. Cell. Sci.* 96, 485-490.
- Tan, C.W., Poh, C.L., Sam, I-Ch, Chan, Y.F.(2013) Enterovirus 71 uses cell surface heparan sulfate glycosaminoglycan as an attachment receptor *J Virol.* 87(1), 611-620.
- Tarleton, R.L. (2001). Parasite persistence in the aetiology of Chagas disease. *Int. J. Parasitol.* 31 (5-6), 550-554.
- Tarleton, R.L. (2015) CD8+ T cells in *Trypanosoma cruzi* infection. *Semin Immunopathol.* 37(3), 233-238.
- Uhrig, M.L., Couto, A.S., Zingales, B., y col. (1992) Metabolic labelling and partial characterization of a sulfoglycolipid in *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes. *Carbohydr. Res.* 231, 329-334.
- Van Rooijen, J.J., Kamerling, J.P., Vliegthart, J.F. (1998) Sulfated di-, tri- and tetraantennary N-glycans in human Tamm-Horsfall glycoprotein. *Eur J Biochem* 256, 471-487.
- Vendrell, J., Avilés, F.X. (1999). Carboxypeptidases (pp 13-34). In Turk V, editor *Proteases: new perspectives*. Birkhäuser, Basel. Verlag,
- Vermelho, A.B., de Meirelles, M de N., Pereira, M.C., Pohlentz, G., Barreto-Bergter, E. (1997) Heart muscle cells share common neutral glycosphingolipids with *Trypanosoma cruzi*. *Acta Tropica* 64, 131-143.
- Xiao, W., Kawakami, Y., Kawakami, T. (2013) Immune regulation by phospholipase C-β isoforms. *Immunol. Res.* 56(1), 9-19.



# INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

## Revista CIENCIA E INVESTIGACION

Ciencia e Investigación, órgano de difusión de la Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias (AAPC), es una revista de divulgación científica y tecnológica destinada al mundo académico, a educadores, estudiantes universitarios, profesionales y público educado en general. La temática abarcada por sus artículos es amplia y va desde el tratamiento accesible de temas de investigación básica y tecnológica, hasta comentarios analíticos y/o bibliográficos, sin restricción de ciencias o tecnologías. En principio, se excluyen artículos de investigación puntual y originales, que son objeto de revistas especializadas. Desde el año 2009 la revista tiene difusión en versión on line ([www.aargentinapciencias.org](http://www.aargentinapciencias.org))

Las contribuciones centrales de temas básicos y tecnológicos son habitualmente solicitadas por los Editores y, en la mayoría de los casos, agrupadas en números temáticos coordinados por los Editores o Editores invitados. Los miembros de la AAPC, y eventualmente otros del ambiente académico, pueden sugerir temas de interés general o someter un artículo de especial relevancia para eventual publicación en un número temático. También se puede proponer a los Editores o a cualquiera de los miembros del Comité Editorial, la evaluación para su eventual publicación de notas cortas (hasta 2500 palabras) de especial interés, debiendo ser de actualidad y/o interés amplio como: entrevistas, historia de las ciencias, crónicas de actualidad, biografías, obituarios y comentarios bibliográficos. La propuesta se deberá acompañar con una nota (conteniendo correo electrónico y teléfono) explicando su importancia. Se considerarán también eventuales Cartas al Editor y/o al Autor, referidas a artículos publicados (aspectos técnicos o teorías). Todos los artículos y notas serán arbitrados y una vez aprobados para su publicación, la versión eventualmente corregida (con posibles sugerencias de los árbitros) deberá ser nuevamente enviada por los autores. Las páginas deben numerarse (arriba a la derecha) en forma corrida, incluyendo el texto, glosario, bibliografía o referencias y las leyendas de las figuras y tablas.

## PRESENTACIÓN DEL MANUSCRITO

El artículo se presentará vía correo electrónico a ([cienciaeinvestigacion@aargentinapciencias.org](mailto:cienciaeinvestigacion@aargentinapciencias.org)), como documento adjunto, escrito con procesador de texto word (extensión «doc») en castellano o inglés, en hoja tamaño A4, a doble espacio, con márgenes de por lo menos 2,5 cm en cada lado, letra Time New Roman tamaño 12.

La primera página deberá contener:

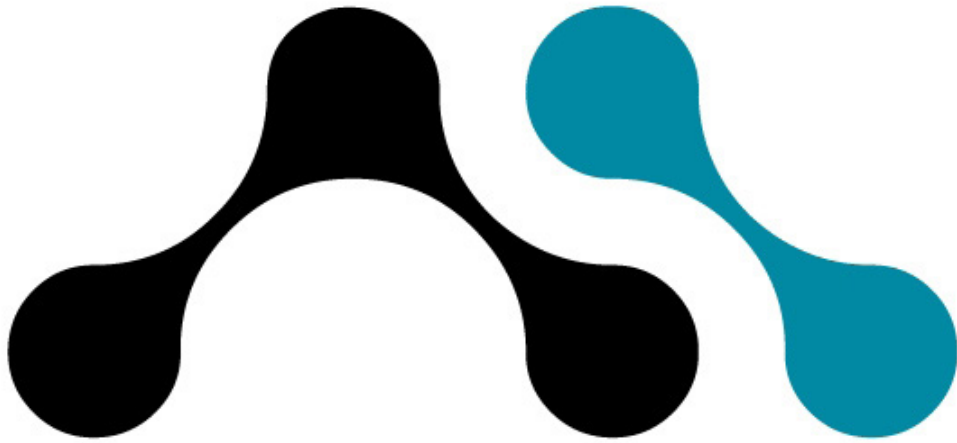
- (a) Título del trabajo (Puede haber un título general seguido de sub-título)
- (b) Nombre y apellido de los autores, indicando pertenencia institucional con índices. (Ejemplo: Juan N.Pandolfi<sup>1,2</sup>.)
- (c) Institución(es) a la(s) que pertenecen y lugar(es) de trabajo, con los respectivos números
- (d) Correo electrónico del autor correspondiente (con asterisco en el nombre del autor a quién pertenece)
- (e) Entre 4 y 8 palabras claves en castellano y su correspondiente traducción en inglés.

La segunda página incluirá un resumen del trabajo, en castellano y en inglés, con un máximo de 250 palabras para cada idioma.

El texto del trabajo comenzará en la tercera página, y finalizará con el posible glosario, la bibliografía y las leyendas de las figuras. Colocar las ilustraciones numeradas (figuras y tablas) al final (páginas con numeración romana). Por tratarse de artículos de predominante divulgación científica aconsejamos acompañar el trabajo con un glosario de los términos que puedan resultar desconocidos para los lectores no especialistas en el tema. La extensión de los artículos, salvo excepción, no excederá las 10.000 palabras, (incluyendo título, autores, resumen, glosario y bibliografía). Otras notas relacionados con actividades científicas, bibliografías, historia de la ciencia, crónicas o notas de actualidad, etc, en principio no deberán excederse de 2.500 palabras.

El material gráfico se presentará como: a) figuras (dibujos e imágenes en formato JPG) y se numerarán correlativamente (Ej. Figura 1) y b) tablas numeradas en forma correlativa independiente de las figuras (Ej. Tabla 1). En el caso de las ilustraciones que no sean originales, éstas deberán citar su origen/autor en la leyenda correspondiente (cita bibliográfica o de página web). Los autores deberán acompañar, si fuera necesaria, la autorización para utilizar dichas figuras. Es importante que las figuras y cualquier tipo de ilustración sean de buena calidad.

En caso de utilización de datos significativos que no sean propios se debe siempre indicar la fuente en las Referencias. En el texto del trabajo se indicará el lugar donde el autor ubica cada figura y cada tabla (poniendo en la parte media de un renglón **Figura...** o **Tabla...**, en negrita y tamaño de letra 14). La lista de trabajos citados en el texto deberá ordenarse alfabéticamente de acuerdo con el apellido del primer autor, seguido por las iniciales de los nombres, restantes autores separados por comas, año de publicación entre paréntesis, título completo de la contribución, título de la revista o libro donde fue publicada, volumen y página(s). Ejemplos: Benin L. W., Hurste J. A., Eigenel P. (2008) The non Lineal Hypercycle. *Nature* 277, 108 –115. Tinbergen N. (1951) *The Study of Instinct*. Oxford: Clarendon Press.



FUNDACION ARGENTINA DE  
**NANOTECNOLOGIA**

(5411) 4518-1715/4518-1716 - 25 de Mayo 1021. C.P. 1650.  
San Martín. Provincia de Buenos Aires. Argentina - [www.fan.org.ar](http://www.fan.org.ar) - [info@fan.org.ar](mailto:info@fan.org.ar)

El artículo 41 de la Constitución Nacional expresa:

---

Todos los habitantes gozan del derecho a un ambiente sano, equilibrado, apto para el desarrollo humano, y para que las actividades productivas satisfagan las necesidades presentes, sin comprometer las de las generaciones futuras.

---

Para ello, trabajamos en el Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental (3iA) en docencia, investigación y desarrollo tecnológico.



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN E INGENIERÍA AMBIENTAL  
www.unsam.edu.ar