

# Inmunología de la infección por *T. Cruzi* y de la enfermedad de Chagas

**Carlos Alberto La Fuente Zerain**

Médico Tropicalista del HUUJ. Coordinador del laboratorio Clínico del HUUJ. Santa Cruz de la Sierra. Bolivia

**Correspondencia:**

E-mail: carloslafuente@yahoo.fr

## Resumen

La enfermedad de Chagas es producida por el *T. cruzi* protozoo flagelado que es transmitido por un insecto hematófago. La infección de este parásito se caracteriza porque parasita varias células del huésped vertebrado. Para este propósito utiliza varios mecanismos de evasión que dependen tanto del parásito como de los receptores moleculares de las células del huésped.

La respuesta humoral está inducida por una mezcla compleja de antígenos del parásito. Las formas intracelulares (Amastigotes) son estímulos constantes del sistema inmune. En la infección aguda la respuesta inmune por células TH 1 es estimulada por interleukina 2 (IL-2) e Interferón gamma ( $\gamma$ -IFN). Por otro lado la inducción de una respuesta por parte de las células T cooperadoras de tipo 2 (TH2) por interleukina 4 (IL-4) e Interleukina 10 (IL-10), aumentan el grado de susceptibilidad del huésped a la infección y al proceso patológico. El daño tisular generado, depende de la inmunorregulación de la respuesta inmune TH 1 -TH 2 y del predominio en la acción de las diferentes citoquinas.

**Palabras clave:** Chagas. Respuesta Inmune.

## Summary

Chagas disease is produced by *T. cruzi*, a flagellated protozoan transmitted through an haematophage insect. *T. cruzi* invades different cells of the vertebrate host. For this purpose, the parasite utilizes several evasion mechanisms which depend on the molecular receptors of the host cells as well as on the parasite itself.

The humoral response is induced by a complex mixture of the parasite antigens. The intracellular forms constitute a constant stimuli to the host immune system. In the acute infection the TH-1 response is mainly mediated by IL-2 and  $\gamma$ -IFN. On the other hand, the TH-2 response by IL-4 and IL-10 increases the host susceptibility to infection and to the pathologic process. The tissue harm thus created, depends on the TH 1 -TH 2 mediated immune response as well as the action of the different cytokines involved.

**Key words:** Chagas. Immune response.

## Introducción

La enfermedad de Chagas fue descubierta en Brasil por Carlos Chagas en 1909 durante su trabajo en la campaña antimalárica en el estado de

Minas Gerais. En esa época Carlos Chagas fue informado de la presencia de abundantes insectos hematófagos que habitaban dentro de las viviendas y picaban a sus moradores en la noche. Verificó rápidamente que las heces de los insectos se encontraban infectados por tripanosomatídeos, que denominó *Schizotrypanum cruzi*, en honor a su profesor Oswaldo Cruz<sup>1</sup>.

En la naturaleza, *Trypanosoma cruzi* se mantiene en un ciclo silvestre que involucra a ciertas especies de triatomíneos como vectores y a varios mamíferos como reservorios. La ocupación humana de estas zonas ha contribuido a la creación de un ciclo peridomiciliar y posteriormente domiciliario<sup>2</sup>.

En la región de los valles formados por los contrafuertes de la cordillera de los Andes en países de Sudamérica como Bolivia, Argentina, Perú y Paraguay, *Triatoma infestans* y *Triatoma sordida* son los principales vectores. Las condiciones socioeconómicas y culturales influyen para que los pobladores de estas regiones construyan sus domicilios con paredes de barro con abundantes grietas y techos de paja que provén nichos adecuados para la reproducción de los insectos facilitando la infestación de los domicilios.

## El parásito

*T. cruzi* es un parásito que presenta variabilidad genética. Una cepa está constituida por varios clones que pueden tener diferencias de comportamientos entre los distintos lineajes de acuerdo a la interacción molecular compleja con las diferentes células que invaden de los cientos de invertebrados que pueden parasitar<sup>3</sup>.

*Trypanosoma cruzi* es transmitido principalmente por insectos hematófagos (Triatomíneos), y de forma vertical por transmisión congénita durante el embarazo. La transmisión por transfusión de sangre es menos frecuente actualmente por el control que se realiza en los bancos de sangre<sup>4</sup>.

La infección del hospedero requiere de las condiciones adecuadas para la infección y de su habilidad para evadir los mecanismos extra e intracelulares de defensa como las acciones de activación de la cascada del complemento, de la opsonización y lisis del parásito, debe llevar cabo un reconocimiento celular, unirse a la célula diana y lograr penetrar en ella. Una vez dentro, el parásito debe evadir la acción celular, multiplicarse, transformarse, salir e invadir otras células para continuar con su ciclo<sup>5</sup>.

La transmisión vectorial se produce cuando los tripomastigotes metacíclicos eliminados con la orina y las heces de los triatomas infectados penetran activamente a través de las mucosas intactas o de la piel que presenta lesiones con solución de continuidad como la que se producen con el rascado o el propio orificio producido durante la picada de los insectos. Las formas tripomastigotes pueden penetrar en cualquier tipo celular que encuentren en el sitio de la inoculación menos en eosinófilos y neutrófilos. Por su parte los epimastigotes son fagocitados y destruidos por células fagocíticas que se encuentran en el área<sup>6</sup>.

La invasión de células fagocitarias y en especial de los macrófagos por *Trypanosoma cruzi* depende más de la habilidad del parásito de reconocer receptores moleculares tipo lectinas y receptores de la familia de las integrinas de la membrana celular<sup>6,7,8</sup>.

Las formas metacíclicas dentro de la célula dan origen a la formación de una vacuola parasitófora debido probablemente a la unión estrecha de las membranas celular y lisosomal en el mismo lugar donde la membrana parasitaria se une. En cuanto a la evasión por parte del parásito a los mecanismos de defensa intracelular, cabe destacar que *T. cruzi* escapa de la vacuola parasitófora. El escape es facilitado por la acción lítica de una toxina TC-TOX formadora de poros, la cual es secretada por el parásito.

Los tripomastigotes dentro de la célula por la acción de la proteasa de cisterna, (cruzipain), se transforman en amastigotes que se multiplican rápidamente en un número de divisiones probablemente programadas, después del cual los amastigotes se transforman en tripomastigotes que comienzan un movimiento intenso hasta que se produzca la ruptura de la célula con la liberación de cientos de parásitos al espacio intracelular. Estos parásitos son capaces de invadir nuevas células en el mismo sitio donde fueron liberados o salir al torrente circulatorio y distribuirse por todo el organismo.

La infección y la sobrevivencia de *T. cruzi* están relacionadas con proteínas y glicoconjugados que median la interacción parásito-hospedero. La mayoría de estas moléculas son ancladas a la membrana por el glycosilphosphatidil-inositol (GPI). Se ha encontrado que la infectividad de *T. cruzi* está asociada con la expresión diferencial de glicoproteínas de superficie tales como gpS2 y gp90.

En las células parasitadas como los macrófagos activados, *T. cruzi* sobrevive neutralizando los derivados tóxicos del oxígeno producidos por la combustión respiratoria, e inhibiendo la síntesis del óxido nítrico (NO)<sup>9</sup>.

Los parásitos también modulan la muerte celular programada (Apoptosis) el cual es un tema relativamente reciente. Al parecer *T. cruzi* posee una actividad pro-apoptótica que finalmente le va a traer "ventajas" al parásito porque de esa manera se pueden liberar más fácilmente las formas de tripomastigotes una vez hayan cumplido su transformación intracelular.

Además la apoptosis está involucrada en la resolución de la respuesta inflamatoria característica de la infección chagásica, ya que los neutrófilos sufren apoptosis y pueden entonces ser fagocitados por los macrófagos<sup>10</sup>.

La producción de citoquinas por parte del hospedero como péptidos moduladores de la respuesta inmune, puede ser alterada por los parásitos, los cuales inducen la producción de citoquinas que en muchos casos van a inhibir la muerte parasitaria.

El IFN gamma es muy eficiente para promover la muerte del parásito por parte de los macrófagos activados. Por otra parte, la IL-10 y TGF- $\beta$  inhiben la acción tripanocida de los macrófagos activados, lo que favorece el establecimiento de los parásitos.

El control parasitario y la supervivencia del hospedero dependen de la inmunidad mediada por células T vía células Th con efecto protector con

respuesta de anticuerpos; la activación de macrófagos por la acción del interferón gamma, para producirse la muerte intracelular del parásito; los mecanismos efectores dependientes de moléculas clase I.

## Respuesta inmune

*Trypanosoma cruzi* se caracteriza por ser un parásito con una gran variabilidad antigénica. Sus moléculas de membrana cambian constantemente al pasar de un ciclo a otro, lo que demuestra una complejidad biológica. Estos antígenos determinan la respuesta en el huésped y en algunos casos inducen una respuesta que es utilizada como mecanismo de evasión<sup>11</sup>.

La respuesta inmune requiere de múltiples mecanismos efectores como por ejemplo una potente respuesta de anticuerpos contra las formas extracelulares y una respuesta celular eficaz contra el estadio intracelular. Por otra parte en los estadios iniciales de la infección es esencial la respuesta innata o inespecífica a través de sus efectores y moduladores celulares y moleculares. Así, las citoquinas (CK) y mediadores solubles juegan un papel fundamental durante la infección, ya que su actividad determina, en gran medida, el inicio, duración y composición de las distintas vías efectoras de la respuesta<sup>12</sup>.

La respuesta humoral se caracteriza por una respuesta, a varios determinantes antigénicos del parásito que varían de acuerdo al estadio y al periodo de la infección (aguda, o crónica). De hecho los tripomastigotes metacíclicos poseen moléculas de invasión celular, (invaginas) que son específicas de estadio.

En los humanos la interleukina 4 induce el cambio de la producción de inmunoglobulina IgM a IgG.

La expresión de las cuatro subclases de IgG y el aumento de  $\gamma$ -IFN y IL-4 en las células mononucleares de la sangre periférica sugiere una respuesta mixta Th1 ( $\gamma$ -IFN) y Th2 (IL-4) en pacientes con enfermedad crónica, inducida por una parasitemia intracelular persistente<sup>13</sup>.

En la infección aguda, la inducción de la respuesta TH 1 es llevada a cabo por la IL-12, que estimula la producción de INF gama en células NK. La respuesta protectora TH 1 está implicada en el daño tisular y en las alteraciones de la respuesta inmune observadas durante la infección<sup>14</sup>.

En los trabajos de Cardona y colaboradores, infectando ratones C3H y BALB/c, con la cepa Tulahuen de *T. cruzi* para seguir los niveles de las citoquinas IL-12 y  $\gamma$ -IFN durante las diferentes etapas de la infección se observó un incremento mayor en los niveles de  $\gamma$ -IFN en los ratones BALB/c, lo que hace suponer que la respuesta TH 1 está en relación con la asociación huésped-parásito. Los ratones DBA/2 con afinidad para desarrollar una respuesta TH2 con producción de IL-4, infectados con *Trypanosoma cruzi*, desarrollan menos miocarditis que los ratones con afinidad para desarrollar una respuesta TH1<sup>15</sup>.

Se ha observado que la IL-10 inhibe algunos aspectos de la activación de macrófagos, lo cual incluye la muerte intracelular de parásitos protozoarios mediada por  $\gamma$ -IFN, de forma tal que en cepas de ratones susceptibles a la infección por *Trypanosoma cruzi* se ha demostrado protección al administrar un Anti IL-10 neutralizante<sup>16</sup>.

Los anticuerpos producidos por la infección por *T. cruzi*, reaccionan con determinantes antigénicos de las células del huésped, alterándose la inmunorregulación con una probable pérdida de la tolerancia a los antígenos propios y como consecuencia reacciones autoinmunes y de mimetismo celular.

La transferencia de células T de un animal infectado a otro animal sano de la misma especie puede inducir lesiones inflamatorias en los tejidos miocárdicos y nerviosos de estos animales. Estos resultados apoyan la naturaleza autoinmune como una de las causas de las patologías en la fase crónica<sup>17</sup>.

## Parasitemia y evolución de los anticuerpos

La parasitemia y la producción de anticuerpos dependen de varios factores como la vía de transmisión (vectorial, congénita o transfusional), la cantidad de parásitos infectantes, la virulencia y patogenicidad de los mismos, y de las condiciones físicas del huésped como la edad y la nutrición principalmente.

En los pacientes sintomáticos en la infección aguda con formas clínicas graves como miocarditis, insuficiencia cardíaca, pericarditis y meningoencefalitis, la parasitemia es elevada. El examen directo detecta de 2 a 4 parásitos por campo microscópico. En los casos sintomáticos menos graves con fiebre, hepatoesplenomegalia, signo de Romaña la parasitemia es menor.

En los pacientes con infección aguda asintomáticos, la parasitemia es baja en la mayoría de los casos y solo demostrable con técnicas de concentración como el micrométodo, o la técnica de Strout.

Anticuerpos del tipo IgM, IgG se forman a partir de la primera semana del inicio de la infección, condicionando paulatinamente la disminución de la parasitemia, delimitando la duración de esta etapa y en cierto modo la gravedad del cuadro.

La disminución de la parasitemia a concentraciones que no son demostrables por los métodos parasitológicos directos, y la elevación de los anticuerpos (IgG) marcan el paso a la fase crónica de la enfermedad.

La fase indeterminada en pacientes jóvenes y con menos tiempo de evolución de la enfermedad, se caracteriza por una parasitemia mayor en el xenodiagnóstico y anticuerpos (IgG) con títulos que varían de 1/32 a 1/2048. Por el contrario en pacientes con mayor tiempo de evolución y con cardiopatías, los títulos de anticuerpos son más bajos y la parasitemia captada por el xenodiagnóstico es menor.

En resumen podemos afirmar que en la fase aguda de la enfermedad de Chagas existe una relación estrecha entre la parasitemia, anticuerpos y la gravedad de la enfermedad y que por el contrario en la fase crónica no existe ninguna relación entre la parasitemia, el título de anticuerpos de IgG y la severidad de los cuadros clínicos. Sin embargo se sabe que los títulos de las diferentes subclases de IgG podrían estar elevados en relación con las patologías desarrolladas<sup>13</sup>.

En la forma aguda de la enfermedad, los títulos de los anticuerpos son importantes como marcadores de negativización parasitológica después del tratamiento. En los niños infectados congénitamente, los anticuerpos IgM no son constantes, los anticuerpos IgG son una mezcla de los anticuerpos maternos y los del paciente. Los hijos de madres con serología positiva en los cuales no se ha demostrado infección congénita en un porcentaje muy variable tienen anticuerpos maternos que se negativizan en 3 a 6 meses.

Los métodos serológicos que marcan infección como HAI, IFI, y ELISA actualmente comercializados tienen muy buena sensibilidad, especifici-

dad y reproductibilidad además de ser económicos. Dos técnicas como son el HAI e IFI o bien la HAI y ELISA son recomendados para el diagnóstico y un tercero para casos de discordancia.

Para el diagnóstico diferencial de la infección, o coinfección con *T. rangeli* o leishmania y el seguimiento de pacientes tratados se deben utilizar los test de última generación con antígenos recombinantes y otras técnicas como el PCR y el Westernblot, hemocultivos y xenodiagnósticos.

Los test serológicos que demuestran autoinmunidad o anticuerpos contra receptores como en la disautonomía, son muy importantes en el pronóstico de la evolución de la enfermedad y serán más importantes cuando se demuestre su utilidad en el control de la curación después del tratamiento de pacientes infectados.

## Bibliografía

1. Chagas C. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia eo ciclo evolutivo do schizotrypanum cruzi n. Gen. So. Agente etiológico de nova entidade mórbida do homen. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 1909;1:159-218.
2. Carpintero J. *La epidemia más importante del continente americano*. Argentina: Comisión Estudio Enfermedad de Chagas Fundación Gottau - Obispado de Añatuya provincia de Santiago del Estero, 1998.
3. Tibayrenc M, Kjellberg F, Arnaud J, Our Breniere SF, Darde ML, Ayala FJ. Eukaryotic microorganism clonal or sexual population genetics vantage. *Proc Natl Aca USA* 88:5129-33.
4. Lopez FJ, Rangel HF, Ramos C. Diagnosis of Chagas Disease. *Rev Latinoam Microbiol* 2000;42:121-9.
5. Mortara R. *Trypanosoma cruzi*: amastigotes and Trypomastigotes interact with different structures on the surface of hela Cells. *Exp Parasitol* 1991;73:1-14.
6. Burleigh BA, Andrews NW. The Mechanisms of *Trypanosoma cruzi* invasion of Mammalian cells. *Annu. Rev. Microbiol* 1992;49:175-200.
7. Kahn BS, Wleklinski M, Aruffo A, Farr, Coder D, Kahn M. *Trypanosoma cruzi* amastigote adhesion to macrophages is facilitated by mannose receptor. *J Exp Med* 1995;182:1243-58.
8. Davis CD, Kuhn RE. Selective binding of *Trypanosoma cruzi* to host cell membrane polypeptides. *Infect Immun* 1990;58:1-6.
9. Clark IA, Rockett KA. Nitric Oxide and Parasitic Disease. *Adv Parasitol* 1996;37:1-56.
10. Savill John. Apoptosis in resolution of inflammation. *J Leukoc Biol* 1997; 61(4):375-80.
11. Fernández M, Muñoz-Fernández MA, Fresno M. Mecanismos de Evasión Inmune por Protozoos Parásitos. En: *Parasitología Molecular*. Madrid: SCIC-UAM 1993;247-85.
12. Higuchi ML, De Brito T, Reis MM, et al. Correlation between *Trypanosoma cruzi* parasitism and myocardium, inflammatory infiltrate in human chronic chagásica myocarditis: light microscopy and immunohistochemical findings. *Cardiovasc Pathol* 1993;2:101-06.
13. Hernández-Becerril N, Nava A, Reyes P, Monteón VM. IgG subclase reactivity to *Trypanosoma cruzi* in chronicchagasic patients. *Arch Cardiol México* 2001;71:199-205.
14. Cardoni RL, Antunez MI, Abrami AA. *Respuesta THI en la infección experimental con Trypanosoma cruzi*. Medicina (Buenos Aires) 1999;59(S2):84-90.
15. Humphrey JS, Mc Cormick TS, Rowland ES. Parasite antigen-induced IFN-gamma and IL4 production by cells from pathopermissive and pathoresistant strains of mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *J Parasitol* 1997;83:533-6.
16. Abrahamsohn IA, Coffman R. *Trypanosoma cruzi*: IL-10, TNF, IFN gamma, andIL-12 Regulate Innate and Acquired Immunity to Infection. *Exp Parasitol* 1996;84:231-44.
17. Hontbeyrie-joskowicz M, Minoprio P. Chagas disease: *Trypanosoma cruzi* vrs the host immune system. *Res Immunol* 1991;142:125-6.