

# Marcadores inmunológicos en la enfermedad de Chagas

M. Carmen Thomas<sup>1</sup>, Concepción Puerta<sup>2</sup>, Concepción Maraón<sup>3</sup>, Manuel C. López<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología Molecular. Instituto de Parasitología y Biomedicina "López Neyra". CSIC. P.T. de Ciencias de la Salud. Armilla. Granada.

<sup>2</sup>Laboratorio de Parasitología Molecular. Departamento de Microbiología. Facultad Ciencias. Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

<sup>3</sup>Institut Cochi. Dpto. Immunologie. INSERM. CNRS. Université Paris.

## Correspondencia:

Manuel Carlos López López

Departamento de Biología Molecular

Instituto de Parasitología y Biomedicina "López Neyra"

Avda. del Conocimiento, s/n.

18100 Armilla. Granada

E-mail: mclopez@ipb.csic.es

## Resumen

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, afecta a más de 17 millones de personas en América Central y del Sur y no existen para ella tratamientos ni vacunas eficaces. Diversos sistemas de infección experimental han permitido determinar la naturaleza de la respuesta inmune requerida para controlar la infección por *T. cruzi*. La respuesta celular mediada por células T citotóxicas CD8+ secretoras de INF- $\gamma$  ha mostrado ser relevante para su control. Además, se ha descrito la existencia de un mayor nivel de expresión de las moléculas de coestimulación CD86 y CD80 y citoquinas IL-12 y TNF- $\alpha$  por parte de las células presentadoras de antígeno en ratones resistentes que en susceptibles a la infección con *T. cruzi*. Sin embargo, en el caso de los pacientes chagásicos existen pocos datos inmunológicos que soporten la asociación de respuestas inmunes específicas con un estado clínico definido. Así, la identificación y caracterización de marcadores inmunológicos de progresión y de severidad de la enfermedad de Chagas se considera algo esencial. Recientemente hemos descrito que el 17% de los pacientes chagásicos analizados tenían células T CD8+ secretoras de INF- $\gamma$  que respondían con una relativa alta frecuencia al péptido K1 de KMP11 de *T. cruzi*.

**Palabras claves:** *Trypanosoma cruzi*. Enfermedad de Chagas. Inmunidad innata. Inmunidad adaptativa. Marcadores inmunológicos.

## Summary

Infection of humans with the parasite *Trypanosoma cruzi* leads to Chagas disease, an illness that affects more than 17 million people in South and Central America for which no effective drugs or vaccines are available. Several experimental infection systems have led to determine the nature of the immune response required for the *T. cruzi* infection control. Thus, the cellular response mediated by cytotoxic CD8+ T cells secreting INF- $\gamma$  has shown to be highly relevant in the control of the disease. Moreover, it has been described that there is a higher level of CD86 and CD40 co-stimulatory molecules and expression of IL12 and TNF- $\alpha$  cytokines by APCs in resistant than in susceptible mice after *T. cruzi* experimental infection. However, in the case of chagasic patients there are only few immunological data supporting an association between immune responses and a defined clinical

status. Thus, the identification and characterization of immunological markers of progression and of the severity of the Chagas disease is considered to be essential. We have described that 17% of the analyzed chagasic patients had INF- $\gamma$  secreting CD8+ T cells that were able to respond to K1 peptide from *T. cruzi* KMP11 with a relative high frequency.

**Key words:** *Trypanosoma cruzi*. Chagas' disease. Innate immunity. Adaptive immunity. Immunological markers.

*Trypanosoma cruzi* es un protozoo parásito flagelado que pertenece a la familia *Trypanosomatidae* y es el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, o tripanosomiasis americana, patología que actualmente afecta a más de 17 millones de personas en Centro y Sudamérica<sup>1</sup>. Según datos de la Organización Mundial de la Salud<sup>2</sup> se producen aproximadamente unos 60.000 nuevos casos cada año. Esta enfermedad presenta unos elevados índices de morbilidad y mortalidad, así como una clara disminución de la calidad de vida y productividad laboral. El parásito patógeno *T. cruzi* tiene un complejo ciclo de vida y muestra 3 formas morfológica y molecularmente diferentes. Se transmite clásicamente gracias a un insecto hematófago vector, sin embargo las corrientes migratorias actuales hacia el medio urbano hacen que la transmisión vertical y, especialmente, por transfusión sanguínea, sean consideradas hoy día como vías de contagio prevalentes. Así, en la actualidad, la afección de esta enfermedad se ha extendido a países desarrollados debido a fenómenos migratorios y a la elevada afluencia de personas infectadas procedentes de países endémicos a países carentes de la enfermedad donde está empezando a causar un problema de salud pública importante, especialmente asociado a donantes de sangre<sup>3</sup>.

Diversos sistemas experimentales de infección han permitido determinar la naturaleza de la respuesta inmune requerida para conseguir el control inmunitario de la infección. Así, se ha demostrado la existencia de una relación directa entre la exacerbación de la enfermedad y la delección de células T<sup>4</sup>. Se ha descrito que ratones sin y/o deficientes en células T CD8+ son altamente susceptibles a la infección por el parásito *T. cruzi*<sup>5</sup>, evidenciando que las mismas deben jugar un papel esencial en la resistencia a la infección por el referido parásito. Asimismo, se ha determinado en modelos experimentales murinos que la expresión de las moléculas

de coestimulación CD40, CD86 y CD28 por macrófagos y células dendríticas de bazo es crucial para el control de la infección por *T. cruzi*<sup>6,7</sup>. Además, se ha observado que únicamente los macrófagos y células T de aquellos ratones que controlan la infección tienen activada la producción y secreción de la citoquinas IL12, TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$ , respectivamente<sup>6</sup>. Sin embargo, en pacientes chagásicos existen muy pocos datos concernientes a la inmunopatología dentro del contexto clínico de la enfermedad. Se desconocen las características de la respuesta inmune innata en los pacientes chagásicos, así como de la respuesta de las células T a antígenos específicos de *T. cruzi* y su asociación a determinados estados clínicos de la enfermedad.

La intensidad y la orientación de la respuesta inmune innata, no específica del antígeno, condicionan la posibilidad de generar una respuesta inmune adaptativa (específica del antígeno) eficaz y protectora frente a una infección. Las principales poblaciones celulares efectoras de la respuesta inmune innata son las células dendríticas y las "natural killer" (NK).

Las células dendríticas (DC) son células presentadoras del antígeno profesionales, necesarias para la activación de linfocitos T "naive"<sup>8</sup> y, por tanto, para la inducción de respuestas inmunes primarias. Las DC circulantes constituyen una población muy minoritaria (aproximadamente 1% de las células mononucleares), y se dividen clásicamente en dos subpoblaciones<sup>9</sup>: i) DC mieloides (mDC), expresan CD11c y dependen de GM-CSF y de IL4 para su supervivencia. Son excelentes presentadoras del antígeno y producen grandes cantidades de IL12 cuando maduran en respuesta a diversos estímulos microbianos. Dicha citoquina permite la polarización eficaz del linfocito T "naive" hacia un perfil Th1; ii) DC plasmacitoides (pDC), requieren IL-3, y producen grandes cantidades de interferón (IFN) de tipo I ( $\alpha$  y  $\beta$ ) en respuesta a la estimulación. El IFN  $\alpha$  y  $\beta$  tiene un efecto antiviral y antimicrobiano muy potente, y además participa en la activación de las mDC<sup>10</sup>. Ambas citoquinas (IL12 e IFN $\alpha/\beta$ ) son también muy importantes para la activación de las células "natural killer": NK y NKT<sup>11</sup>. Dichas células son capaces de reconocer y destruir las células infectadas. Ambos tipos celulares (DC y NK) son fundamentales para conseguir una respuesta inmune eficaz contra la infección por *T. cruzi*<sup>12</sup>.

En resumen, las respuestas inmunes innata y adaptativa implicadas en el control de la infección experimental por *T. cruzi* están ampliamente establecidas en el modelo murino<sup>13</sup>, pero la dinámica del sistema inmune humano frente a dicha infección sigue siendo en gran parte desconocida<sup>14</sup>. El análisis de la respuesta celular frente a lisados de *T. cruzi*, medida como la secreción de IFN- $\gamma$  por las células de sangre periférica de enfermos de Chagas, muestra la existencia de un alto número de respondedores en el grupo de pacientes chagásicos con clínica suave y bajo número de respondedores en aquellos con clínica grave. Ello sugiere que el nivel de células T que producen IFN- $\gamma$  en pacientes con Chagas crónico está asociado con el estado clínico del paciente<sup>15</sup>. Asimismo, se han observado diferencias en los niveles de citoquinas tales como TNF- $\alpha$  e IL10, así como en la expresión de CCL2, CCR5 y CXCR4 en pacientes chagásicos con severa versus ligera enfermedad<sup>14</sup>. Recientemente, se ha descrito que un 17% de pacientes de Chagas de haplotipo HLA-A\*0201 presentan células T CD8+ secretoras de INF- $\gamma$  que responden al péptido K1 contenido en la proteína KMP11 de *T. cruzi*<sup>16,17</sup>, y que estas células respondedoras tienen actividad citotóxica específica de K1<sup>18</sup>. Sin embargo, la identificación de marcadores inmunológicos que permitan establecer el grado de severidad y progresión de la enfermedad de Chagas requerirá de futuros estudios en los que se asocie un amplio análisis de datos inmunológicos, tanto de respuesta innata como adaptativa, con una refinada caracterización clínica de los pacientes.

## Agradecimientos

Se agradece la financiación recibida del FIS (MSC) y PAI (Junta de Andalucía) a través de los proyectos PI02/0862, PI02/0565, RICET C03/04 y Grupo CVI155. Asimismo, C. Puerta agradece la financiación recibida de la Vicerrectoría Académica de la Pontificia Universidad Javeriana, proyecto n° 1594.

## Bibliografía

1. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis* 2001;1:92-100.
2. WHO. *Control of Chagas' Disease' Technical Report Series*, World Health Organization, 2002.
3. Leybi DA, Herron RM, Read EJ, Lenes BA, Stumpf RJ. *Trypanosoma cruzi* in Los Angeles and Miami blood donors: impact of evolving donor demographics on seroprevalence and implications for transfusion transmission. *Transfusion* 2002;42:549-55.
4. Kumar S, Tarleton RL. The relative contribution of antibody production and CD8+ T cell function to immune control of *Trypanosoma cruzi*. *Parasite Immunol* 1998;20:207-16.
5. Zhang L, Tarleton RL. Persistent production of inflammatory and anti-inflammatory cytokines and associated MHC and adhesion molecule expression at the site of infection and disease in experimental *Trypanosoma cruzi* infections. *Exp Parasitol* 1996;84:203-13.
6. Planelles L, Thomas MC, Marañón C, Morell M, López MC. Differential CD86 and CD40 costimulatory molecules and cytokine expression pattern induced by *Trypanosoma cruzi* in APCs from resistant or susceptible mice. *Clin Exp Immunol* 2003;131:41-7.
7. Miyahira Y, Katae M, Kobayashi S, et al. Critical contribution of CD28-CD80/CD86 costimulatory pathway to protection from *Trypanosoma cruzi* infection. *Inf Immun* 2003; 71:3131-7.
8. Banchereau J, Briere F, Caux C, et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2000;18:767-811.
9. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2003;21:685-711.
10. Fonteneau JF, Larsson M, Beignon AS, et al. Human immunodeficiency virus type 1 activates plasmacytoid dendritic cells and concomitantly induces the bystander maturation of myeloid dendritic cells. *J Virol* 2004;78:5223-32.
11. Degli-Esposti MA, Smyth MJ. Close encounters of different kinds: dendritic cells and NK cells take centre stage. *Nat Rev Immunol* 2005;5:112-24.
12. Korb DS, Finney OC, Riley EM. Natural killer cells and innate immunity to protozoan pathogens. *Int J Parasitol*. 2004;34:1517-28.
13. Martin D, Tarleton R. Generation, specificity, and function of CD8+ T cells in *Trypanosoma cruzi* infection. *Immunol Rev* 2004;201:304-17.
14. Dutra WO, Rocha MO, Teixeira MM. The clinical immunology of human Chagas disease. *Trends Parasitol* 2005;21:581-7.
15. Laucella SA, Postan M, Martin D, et al. Frequency of interferon- gamma -producing T cells specific for *Trypanosoma cruzi* inversely correlates with disease severity in chronic human Chagas disease. *J Infect Dis* 2004;189:909-18.
16. Thomas MC, García-Pérez JL, Alonso C, López MC. Molecular characterization of KMP11 from *Trypanosoma cruzi*: a cytoskeleton-associated protein regulated at the translational level. *DNA Cell Biol* 2000;19:47-57.
17. Marañón C, Thomas MC, Planelles L, López MC. The immunization of A2/K(b) transgenic mice with the KMP11-HSP70 fusion protein induces CTL response against human cells expressing the *T. cruzi* KMP11 antigen: identification of A2-restricted epitopes. *Mol Immunol* 2001;38:279-87.
18. Díez H, López MC, Thomas MC, et al. Evaluation of IFN- $\gamma$  production by CD8+ T lymphocytes in response to the K1 peptide from KMP-11 protein in patients infected with *Trypanosoma cruzi*. *Parasite Immunol* 2006;In press.