



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO:

**INMUNOPARASITOLOGÍA DE
*TRYPANOSOMA CRUZI***

Autor: María Conde Poole

Fecha: Junio 2019

Tutor: José Antonio Escario García-Trevijano

ÍNDICE

1. RESUMEN	2
2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	2
3. OBJETIVOS	4
4. METODOLOGÍA	4
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	4
5.1 Bases moleculares de los procesos de adhesión e invasión	4
5.2 Adhesión e invasión: entrada en la célula	6
5.3 La defensa del hospedador: respuesta inmune	7
5.4 Estrategias de evasión del sistema inmune de <i>Trypanosoma cruzi</i>	9
5.5. ¿Persistencia o autoinmunidad?	11
5.6. Manifestaciones clínicas y patogénesis	15
6. CONCLUSIONES	16
7. BIBLIOGRAFÍA	17

1. RESUMEN

La enfermedad de Chagas es producida por el parásito *Trypanosoma cruzi*, protozooario flagelado. Esta enfermedad afecta principalmente a las poblaciones más pobres de América del Sur, donde se transmite a través de un triatomino hematófago de la familia Reduviidae, conocido como chinche. Existen otros mecanismos de transmisión que contribuyen a la creciente diseminación de este parásito, así, es posible la transmisión por vía oral, congénita, transfusional, por trasplante de órganos y por accidentes de laboratorio. La enfermedad consta de tres fases: la fase aguda, mayoritariamente asintomática, induce una respuesta TH1 mediada fundamentalmente por IFN- γ e IL12; la fase indeterminada, cursa de manera asintomática en un 70% de los casos, existe un predominio de respuesta Th2 mediada principalmente por IL4 e IL10 lo que favorecerá a largo plazo un perfil inflamatorio y el aumento de la patogenicidad y por tanto, la susceptibilidad del huésped; la fase crónica, con predominio de respuesta Th1, de nuevo, IFN- γ y citoquinas proinflamatorias. Esta última fase se da en un 30% de los casos y produce graves trastornos cardíacos, gastrointestinales y otras complicaciones. El balance entre respuesta Th1-Th2, así como el predominio de citoquinas regulatorias determina la persistencia o el control de la enfermedad. La patogénesis de la enfermedad es controvertida, compleja y multifactorial, contribuyendo tanto la persistencia del parásito como la alteración de los mecanismos regulatorios de la respuesta inmune que lleva a un proceso de autoinmunidad.

2. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana fue descubierta en 1909, en Brasil, por el médico Carlos Chagas, durante su participación activa en la erradicación de la malaria. Chagas logró el aislamiento del agente etiológico en el intestino de un triatomino, describió las características patológicas propias de la enfermedad, así como la forma de transmisión y el vector implicado en la misma⁽¹⁾.

El parásito causante de la enfermedad es un protozooario flagelado hemotisular incluido en el orden Kinetoplastida y la familia Trypanosomatidae⁽²⁾. En un principio, este parásito adquiere la denominación errónea de *Schizotrypanum cruzi*, pues Chagas pensó que se multiplicaba una esquizogonia. Posteriormente, el propio Chagas incluye al parásito en el género *Trypanosoma*⁽³⁾. Los vectores de esta enfermedad son insectos triatominos de la familia Reduviidae, de los géneros *Triatoma*, *Pastrongylus* y *Rhodnius*, se conocen más de 130 especies, siendo las principales *Rhodnius prolixus*, *Triatoma infestans* y *Pastrongylus megistus*⁽⁴⁾.

Tras la malaria y la esquistosomiasis, la enfermedad de Chagas ocupa el tercer puesto entre las enfermedades parasitarias más importantes de América⁽⁵⁾. La OMS considera la enfermedad de Chagas como una de las enfermedades tropicales desatendidas⁽⁶⁾. La cifra de individuos infectados por *T. cruzi* alcanza los 7 millones, estimándose más de 13.000 muertes al año por esta enfermedad y más de 100 millones de individuos en riesgo de adquirirla⁽⁷⁾. Se extiende desde el sur de California hasta el sur de América del Sur. Sin embargo, la participación de otros mecanismos de transmisión (congénita, transfusional, por trasplante) junto con los movimientos migratorios han hecho que constituya un problema a nivel mundial^(6,8).

El ciclo de vida de *T. cruzi* es un ciclo indirecto. La complejidad de este ciclo viene dada por la alternancia de distintas fases morfológicas en el hospedador vertebrado e invertebrado, dando lugar a formas infectivas o replicativas mediante diferenciación y transformación, en función de la fase del ciclo en la que se encuentre el parásito^(4,9). Así el parásito consta de tres formas morfológicas: tripomastigote, de apariencia fusiforme, es la

forma infectiva; epimastigote, de aspecto fusiforme, es la forma proliferativa en el hospedador invertebrado; amastigote, de aspecto ovalado, rechoncho, es la forma multiplicativa en el hospedador vertebrado⁽⁴⁾. El ciclo comienza cuando el triatomino se nutre de la sangre de un vertebrado infectado, ingiriendo así los tripomastigotes sanguíneos que son liberados en el estómago, en los siguientes días estos evolucionan a su forma epimastigote alcanzando el intestino medio donde proliferan, llegando al recto, donde se diferencian mediante una serie de cambios morfológicos y bioquímicos en tripomastigotes metacíclicos^(4,9). Estas formas infectivas serán liberadas en las heces, cuando la chinche se alimente de la sangre del hospedador vertebrado penetrando a través de erosiones, o bien accediendo a través la mucosa conjuntival⁽⁹⁾. Invaden gran variedad de células, fagocíticas principalmente, iniciándose el ciclo intracelular del parásito, los tripomastigotes quedan contenidos en las conocidas como vacuolas parasitóforas, se liberan al medio citoplasmático donde se diferencian en amastigotes y se multiplican, diferenciándose finalmente a tripomastigotes, la célula rebosante se lisa y estos tripomastigotes se diseminan vía hemática alcanzando distintas regiones e invadiendo nuevas células⁽⁹⁾. Existe cierto tropismo por el tejido muscular liso, cardíaco y mucosas del sistema digestivo, que dará lugar a las conocidas megaformaciones chagásicas⁽⁴⁾.

La infección consta de tres fases. Una primera fase aguda autolimitada en la que el parásito se replica activamente en gran variedad de células como macrófagos, adipocitos, células musculares cardíacas⁽¹⁰⁾. La parasitemia en esta fase es elevada⁽¹⁰⁾. Cursa mayoritariamente de manera asintomática e inespecífica, puede presentar una reacción inflamatoria en la zona de inoculación denominada chagoma, si se produce en el ojo, aparece el signo de Romaña, edema bpalpebral⁽⁶⁾. En esta fase se induce una respuesta Th1, mediada fundamentalmente por IFN- γ e IL12. La inducción de la inmunidad adaptativa lleva al control de la infección. Sin embargo, el parásito evade la completa erradicación iniciándose un equilibrio dinámico hospedador-parásito, es la fase indeterminada. Cursa de manera asintomática en un 70% de los casos, en esta fase existe un predominio de respuesta Th2 mediada principalmente por IL4 e IL10⁽¹¹⁾. La pérdida de este balance se da en un 30% de los individuos y conlleva un perfil inflamatorio, el aumento de la patogenicidad y por tanto la susceptibilidad del huésped estableciéndose la fase crónica, con predominio de respuesta Th1, de nuevo, IFN- γ y citoquinas proinflamatorias^(10,11). Produce graves trastornos cardíacos, desde remodelación cardíaca, cardiomiopatías, paro cardíaco, hasta la muerte; en menor proporción trastornos gastrointestinales, megasíndromes de colon y esófago; trastornos neurológicos y mixtos⁽¹²⁾. A pesar del daño progresivo de los órganos la parasitemia es baja, lo que dificulta el diagnóstico⁽¹³⁾. La patogénesis de la enfermedad es controvertida, compleja y multifactorial, contribuyendo tanto la persistencia del parásito, como la capacidad del sistema inmune para controlar la infección y la eficacia del mismo para controlar el daño tisular causado⁽¹⁴⁾.

El tratamiento con benznidazol y nifurtimox es efectivo, siempre que se administre en un periodo corto de tiempo tras la infección. Previene la progresión de la enfermedad, evitando en un 50-70% de los casos el estadio crónico⁽⁸⁾. Tan solo el 0,1% de los individuos no tratados mueren por manifestaciones de la fase aguda⁽¹⁵⁾. No obstante, la gran mayoría desarrollará la fase crónica. La eficacia del tratamiento en la fase crónica no es clara. Sin embargo, parece que aplaza la evolución de la enfermedad. La forma clínica de la enfermedad viene determinada por las complejas interacciones que se establecen entre el sistema inmune, el parásito y los mecanismos de evasión desarrollados por el este, lo que dificulta el tratamiento. Así mismo, la duración del tratamiento, su manifiesta toxicidad, los consecuentes efectos adversos y la limitación en la producción del fármaco son otros factores que influyen en la complejidad del mismo⁽¹⁾.

3. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es revisar las interacciones a nivel molecular que se establecen entre el sistema inmunitario del hospedador y el parásito *Trypanosoma cruzi*, poniendo el foco en los mecanismos de evasión desarrollados por el parásito para garantizar su supervivencia y tratando de elucidar la contribución de la persistencia del parásito y la alteración de la respuesta inmune en la etiología de la patogénesis.

4. METODOLOGÍA

Para lograr este objetivo, la elaboración del trabajo se basa en una extensa revisión bibliográfica de diversos artículos procedentes de revistas científicas, y buscadores de internet tales como PubMed, Medscape, Scielo, Science Direct, Google académico e información obtenida de la Organización Mundial de la Salud.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Bases moleculares de los procesos de adhesión e invasión

Trypanosoma Cruzi se caracteriza por una gran variabilidad, tanto genética como biológica. La variabilidad genética permite su clasificación en seis Unidades Discretas de Tipificación (DTUs) que difieren entre las distintas poblaciones⁽¹⁴⁾. Así mismo, existe una gran variabilidad entre las moléculas de adhesión expresadas en las distintas fases morfológicas del parásito a lo largo de su ciclo de vida. Esto, da lugar a diversas preferencias de hospedador, variabilidad antigénica, tropismos tisulares, etc.⁽⁹⁾

Tras la inoculación de los tripomastigotes metacíclicos tiene lugar un proceso de reconocimiento y adhesión a través de una serie de moléculas de superficie (Figura 1), en su mayoría glicoproteínas⁽⁹⁾. Entre estas, adquieren especial importancia los grupos gp82 y gp35-50 pues constituyen la superficie de los tripomastigotes metacíclicos prácticamente en su totalidad⁽⁹⁾. Ejercen un papel dual en el reconocimiento y transducción de señales, aumentando la concentración de calcio intracelular, lo que conlleva una serie de modificaciones en el citoesqueleto y la consecuente movilización de los lisosomas facilitando la invasión por el parásito.

Una mayor infectividad se asocia a gp82, capaz de activar la proteína tirosina quinasa, así como la fosfolipasa C (PLC)⁽¹⁶⁾, promoviendo la síntesis de inositol trifosfato (IP3) y la consecuente liberación del calcio almacenado en depósitos intracelulares⁽¹⁷⁾. La señal inducida por las proteínas tipo mucina gp35/50 y mediada por la adenilato ciclasa libera calcio de acidocalcisomas, involucrados en el almacenamiento de polifosfato y cationes, aunque en una menor proporción, lo que se traduce en una menor capacidad invasiva⁽¹⁶⁾. Por otra parte, esta glicoproteína protege al parásito frente a la acción de las enzimas gástricas en la infección por vía oral⁽⁹⁾. Además, en la superficie del tripomastigote metacíclico encontramos la molécula de adhesión gp90. Esta molécula es considerada un regulador negativo del proceso de invasión, la unión al receptor no desencadena la liberación

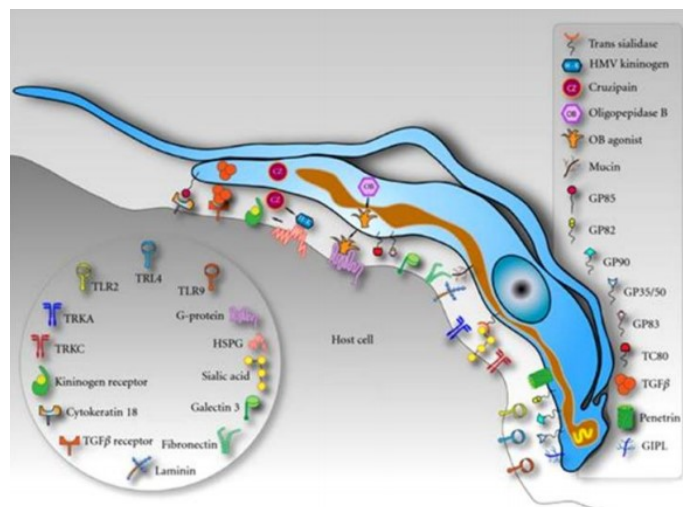


Figura 1.- Moléculas del parásito y del hospedador implicadas en el reconocimiento, adhesión e invasión.

de calcio, e incluso genera señales inhibitorias, impidiendo el proceso de invasión⁽¹⁶⁾. Por lo que una alta expresión de esta molécula se asocia con una capacidad infectiva muy baja. Sin embargo, esta molécula es fácilmente degradada por enzimas digestivos cuando es ingerida por vía oral, aumentando su capacidad infectiva⁽⁹⁾.

La forma tripomastigote sanguíneo expresa una serie de moléculas implicadas en una primera señal de adhesión, la glicoproteína gp85 y penetrina, y moléculas implicadas en una segunda señal de invasión, la transialidasa (TS), la oligopeptidasa B y la cruzipaina principalmente. La gp85 y la penetrina son capaces de unirse, tanto a moléculas presentes en la superficie celular como la citoqueratina 18^(9,17), como a diferentes componentes de la matriz extracelular, tales como fibronectina, laminina, colágeno y heparina, quedando así adheridos. A continuación la enzima serin-proteasa POP Tc80, entre otras, hidroliza el colágeno y la fibronectina, permitiendo el paso a través de la matriz⁽¹⁶⁾.

La transialidasa es una molécula de superficie exclusiva de *T. cruzi*, anclada a la membrana a través de glicosilfosfatidilinositol (GPI), con la particularidad de que puede ser secretada, implicada en la invasión⁽⁹⁾. Es una sialidasa modificada multifuncional, que cataliza la transferencia del ácido siálico de los glucoconjugados presentes en las células del hospedador a los restos terminales de β -galactopiranosil, presentes en las moléculas de superficie tipo mucina del parásito⁽¹⁸⁾. El parásito es incapaz de sintetizar este monosacárido por sí mismo, al adquirirlo de la célula del hospedador, se altera el sialoglycofenotipo de la misma, lo que favorece la supervivencia del parásito⁽¹⁸⁾. La estructura general de la molécula se compone de tres dominios: Un dominio catalítico N-terminal, una mutación de Tyr 342 por His 342 en este dominio supone la inactivación enzimática. Sin embargo, se mantiene la capacidad de unión al ácido siálico y a residuos β - galactosa⁽¹⁹⁾. Un dominio globular, de estructura tipo lectina, capaz de unirse a receptores de los factores neurotróficos TrkC y TrkA, a través del cual el parásito induce la supervivencia de la célula que invade⁽²⁰⁾. Y un dominio carboxílico terminal, anclado a la membrana por GPI, constituido por 12 aminoácidos repetidos en tandem, denominados repeticiones SAPA (*Shed Acute Phase Antigen*). Este dominio incrementa la vida media de la proteína secretada en sangre y es altamente inmunogénico^(16,20). Además de esta, la transialidasa tiene gran variedad de propiedades biológicas que la sitúan como un importante factor de virulencia y que proporcionan al parásito múltiples estrategias de evasión, tanto de la respuesta inmune innata como de la adaptativa⁽¹⁹⁾. Esta molécula adquiere importancia también en la fase epimastigote en el vector y en forma intracelular amastigote.

Tres proteasas del tripomastigote sanguíneo participan en este proceso de invasión: la enzima serin-proteasa POP Tc80; una serin-endopeptidasa citosólica, la oligopeptidasa B y una cistein-proteinasa, la cruzipaina⁽⁹⁾.

La oligopeptidasa B es un factor soluble citosólico que se genera por la acción de una peptidasa alcalina sobre una serie de precursores presentes en el tripomastigote infectivo⁽⁹⁾. Esta enzima libera agonistas de calcio, que inician la cascada de señalización activando la fosfolipasa C (PLC), la producción de IP₃ y la liberación consecuente de los reservorios de calcio⁽¹⁶⁾.

La cruzipaina se expresa en las distintas fases morfológicas del ciclo de vida de *T. Cruzi*, adquiriendo distintas funciones⁽⁹⁾. Facilita la invasión, por la liberación a partir de un quinínogeno de la célula hospedadora de una quinina activa, la bradiquinina. Esta quinina, se une al receptor B2r y activa la señal en cascada para la liberación de calcio de la misma manera que la oligopeptidasa B, por activación de PLC y liberación de IP₃⁽¹⁷⁾.

No existen tantas evidencias de las moléculas de adhesión en la forma amastigote. Sin embargo, se cree que adquieren importancia varias glicoproteínas de superficie, entre estas la

denominada Ssp-4, la SA85-1 que actúa como ligando de la proteína de unión a manosa, así como la p21, considerada una proteína ubicua^(15,21).

5.2 Adhesión e invasión: entrada en la célula

El reconocimiento y adhesión resultan imprescindibles para asegurar la invasión, el asentamiento del parásito y la infección.

Una vez que se han producido el reconocimiento y adhesión, el tripomastigote dispone de varios mecanismos para la invasión de la célula hospedadora. La penetración en las células fagocíticas se produce por fagocitosis y/o por macropinocitosis, la célula emite pseudópodos en un proceso mediado por filamentos de actina⁽⁹⁾.

La entrada en células no fagocíticas se produce mediante dos estrategias de endocitosis distintas. El primer mecanismo es un mecanismo lisosoma-dependiente, el parásito aprovecha un mecanismo de reparación de la célula para asegurarse la entrada⁽²²⁾. Este proceso mediado por actina, se inicia con la movilización de calcio y la consecuente exocitosis de los lisosomas que se fusionan con la membrana en el lugar de entrada del parásito. El segundo mecanismo se produce vía invaginación de la membrana plasmática, inducida de manera activa por el parásito. Para que la infección progrese es imprescindible la fusión de la vacuola endocítica formada en la invaginación con los lisosomas, originando los fagolisosomas⁽¹⁵⁾. De lo contrario, la alta motilidad del parásito podría provocar la salida al medio extracelular en un proceso reversible⁽²³⁾.

La fusión con los lisosomas es por tanto un requisito esencial para la supervivencia de *T. cruzi*⁽²²⁾. Se forma la vacuola parasitófora, cuya composición es modulada por el propio parásito. Esta vacuola está compuesta entre otros por receptores Fc que han intervenido previamente en la opsonización, integrinas $\beta 1$, glicoconjugados, residuos de galactosa, receptores de complemento CR3 así como glicoproteínas de membranas lisosomales. Los lisosomas por consiguiente, participan en la formación de la membrana de vacuola parasitófora y proporcionan puntos de anclaje reduciendo la motilidad del parásito, lo que facilita la retención del mismo⁽¹⁵⁾. Además los lisosomas proporcionan el pH ácido que desencadena la diferenciación de tripomastigote a amastigote, proceso que finalizará ya en el citoplasma⁽²²⁾. Este medio ácido es necesario para la acción de una transialidasa, que transfiere ácido siálico de la membrana de la vacuola a la superficie del parásito⁽¹⁹⁾, haciéndola susceptible a la acción de un péptido secretado por el parásito denominado Tc-tox. Este péptido, homólogo al factor C9 del complemento, a pH ácido forma poros en la membrana, lo que provoca la fragmentación de la vacuola, permitiendo que el parásito escape al citoplasma⁽⁹⁾.

Los tripomastigotes liberados continúan su diferenciación a la forma amastigote. Estos comienzan a multiplicarse por fisión binaria aproximadamente a las 24 horas de la infección. Tras nueve generaciones, se diferencian a la forma tripomastigote mediante un proceso de elongación, la alta motilidad de estos provoca la ruptura de la célula y la liberación al espacio intercelular, infectando células vecinas o distribuyéndose en sangre a otras localizaciones⁽¹⁷⁾.

La forma amastigote también tiene capacidad infectiva, invade tanto células fagocíticas como no fagocíticas. Estudios sugieren que el amastigote también se vale de la transialidasa y del factor Tc-tox para escapar de la vacuola parasitófora⁽⁹⁾. Por tanto, el mecanismo de invasión es muy similar al de los tripomastigotes. Sin embargo, la forma amastigote carece del mecanismo activo propio de estos últimos, tratándose de un proceso mediado por actina⁽¹⁵⁾.

5.3 La defensa del hospedador: respuesta inmune

Los fagocitos son la primera línea de defensa frente a patógenos que atraviesan la barrera epitelial. Los macrófagos y las células dendríticas identifican al parásito mediante receptores de reconocimiento de patógenos (PRRs), como los receptores tipo Toll (TLRs) 2, 4, 6, 7 y 9 y el receptor citoplasmático NOD entre otros^(15,24). Esto induce la producción de citoquinas proinflamatorias, la maduración de las células dendríticas y presentación de antígenos y la polarización de los linfocitos Th lo que favorece una respuesta adecuada por parte del hospedador⁽²⁵⁾.

Los glicoconjugados tipo mucina presentes en la superficie del parásito van ser reconocidos por distintos TLRs. Así, la molécula de anclaje GPI tipo mucina es reconocida por el receptor TLR2 y el conjunto TLR2-TLR6, principalmente debido a la presencia de un ácido graso insaturado del componente alquiácil glicerol. Por otra parte, los glucoinosil fosfolípidos (GIPLs), compuestos por ceramida, actúan como ligando del receptor TLR4⁽²⁵⁾.

TLR7 y TLR9 son translocados desde el retículo endoplásmico en los endolisosomas durante la invasión del parásito. El ADN, que contiene abundantes motivos CpG inmunoestimuladores, y ARN de parásitos lisados en los fagolisosomas estimulan TLR9 y TLR7 respectivamente. Una vez el parásito escapa del fagolisosoma activa el receptor citoplasmático NOD1⁽²⁶⁾.

La interacción de TLRs con sus correspondientes ligandos, así como la activación del receptor NOD1, activa diferentes cascadas de señalización que culminan en la activación del factor de transcripción NF- κ B. Esto estimula la transcripción de genes que codifican citoquinas y quimioquinas proinflamatorias, principalmente IL-12, TNF- α e IFN- γ implicadas en la polarización hacia una respuesta inmunoprotectora Th1⁽²⁶⁾. Los receptores tipo TLR activan esta cascada a través del adaptador MyD88. Sin embargo, TLR-4 es capaz de activar la síntesis de IFN- γ mediante una cascada MyD88-independiente. Esta cascada utiliza el adaptador TRIF que activa el factor de transcripción IRF3 induciendo la síntesis de interferones de tipo I, estos favorecen la expresión de los genes IRG47 inductores de IFN- γ ⁽²⁷⁾. Por su parte, TLR7 y TLR9 activan tanto NF- κ B como IRF7 de manera MyD88-dependiente. La activación de IRF7 induce la síntesis de interferones tipo I⁽²⁵⁾.

Alternativamente *T. cruzi* es capaz de activar la respuesta inmune innata de manera independiente de los receptores tipo TLR. Así es capaz de inducir IFN tipo I mediante la activación de la quinasa TBK y el factor de transcripción IRF3. Otra vía independiente de TLR es la activación del factor de transcripción NFATC1 con la producción de IFN- γ . Este factor de transcripción es activado por la vía calmodulina/calcineurina, activada a su vez por la elevación de la concentración de calcio inducida vía IP3 o por la proteína Tc52 que es secretada por el propio parásito y al mismo tiempo, esta proteína es capaz de estimular la síntesis de IFN- γ por estimulación de TLR-2^(15,28).

La síntesis de IFN- γ aumenta la síntesis de IL-12, TNF- α , induce la activación de los macrófagos y propicia el reclutamiento de células T mediante la expresión de quimioquinas (CCL5) y moléculas de adhesión⁽²⁹⁾.

La estimulación de las células fagocíticas, principalmente macrófagos, induce la activación de la óxido-nítrico sintetasa. Esta enzima favorece la síntesis del radical NO a partir del sustrato L-arginina. El radical NO reacciona en el fagolisosoma con el radical O₂, generado por la NADPH oxidasa, originando el radical peroxinitrito. A partir de este potente oxidante se generan especies radicalarias secundarias, que favorecen el ambiente oxidativo, originan daño celular y la muerte del parásito. El estrés oxidativo generado contribuye a la eliminación del parásito y al control de la infección⁽²⁶⁾. Adicionalmente, la síntesis de NO contribuye a la modificación de cistein-proteínas, inhibe la actividad catalítica de la

cruzipaina y se une a metaloproteínas secretadas por el parásito ejerciendo una potente actividad microbicida⁽²⁶⁾.

Los neutrófilos además de la fagocitosis son capaces de generar las denominadas trampas extracelulares de neutrófilos o NETS, se trata de una malla fibrosa de DNA, histonas, elastasa y proteínas granulares liberadas al espacio extracelular que atrapan en su interior al parásito inmovilizándolo. Disminuye la capacidad infectiva pues favorece que la diferenciación de tripomastigote a amastigote se realice en el espacio extracelular. La activación de los NETS depende del estrés oxidativo y se estimula a través de TLR2 y TLR4⁽²⁴⁾.

La llegada de las células dendríticas al sitio de inflamación marca el inicio de la respuesta adaptativa. Estas células presentadoras de antígeno actúan como puente entre la inmunidad innata y la adaptativa a través de la activación y expansión clonal de las células T. La maduración de las células dendríticas estimula la expresión de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y clase II así como de moléculas coestimuladoras, principalmente la molécula B7. El péptido exógeno generado por la fagocitosis de los tripomastigotes sigue la ruta normal de presentación vía CMH II a las células T CD4. Sin embargo, el péptido generado a partir de los amastigotes presentes en el citoplasma, por secreción, excreción o fruto de la lisis del parásito sigue la denominada presentación cruzada, es procesado como péptido endógeno y por tanto presentado a las células T CD8 vía CMHI⁽¹⁵⁾.

La citoquina IL12 estimula la polarización de la células T CD4 hacia una respuesta Th1 protectora. Las células Th1 liberan IFN- γ lo que induce la activación y proliferación de los linfocitos B, así como la activación de linfocitos CD8 y la consecuente síntesis de anticuerpos y destrucción del parásito respectivamente (Figura 2)^(29,30).

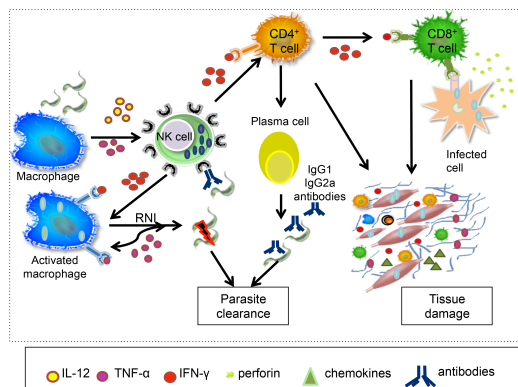


Figura 2.- Respuesta inmune adaptativa: diferenciación y expansión de las células T CD4 y CD8 y de las células B e implicación de las diferentes citoquinas en el proceso.

Los linfocitos CD8 adquieren gran importancia en el control de la infección, tanto por la síntesis de citoquinas como IFN- γ ⁽⁸⁾, que favorecerá aún más la respuesta protectora de tipo Th1, como por la acción citolítica a través de la vía perforina-granzima⁽³¹⁾. Sin embargo, la aparición de linfocitos citotóxicos CD8 antígeno-específico es retardada en el tiempo, esto se debe posiblemente al tiempo necesario para la diferenciación y acumulación de la forma amastigote en el citoplasma, para el procesamiento y presentación de antígenos y a la gran cantidad y variedad de antígenos presentes de forma simultánea en la superficie del parásito⁽²⁶⁾.

Los linfocitos B activados adquieren gran importancia en el control de la infección durante la fase aguda, la ausencia de estos se relaciona con una mayor susceptibilidad y muerte. Se produce una respuesta tardía debido a la gran variabilidad antigénica y se sintetizan grandes cantidades de anticuerpos inespecíficos⁽²⁾. Se producen inicialmente IgM seguidos de la aparición de IgG2a e IgG2B de carácter protector⁽⁸⁾. Favorecen la opsonización y la respuesta mediada por complemento. Además, los linfocitos B adquieren gran importancia en la inmunomodulación y polarización de las células T. Se ha comprobado que son cruciales para la maduración de las células T de memoria así como células CD4⁽²⁴⁾.

Todo esto contribuye a una extensa respuesta inflamatoria y en definitiva a una disminución de la parasitemia a niveles prácticamente indetectables, lo que marca el inicio de la fase indeterminada⁽³²⁾. Esta fase es asintomática y se caracteriza por un equilibrio parásito-

hospedador⁽²⁹⁾. Existe predominio de un ambiente antiinflamatorio propiciado por células T regulatorias y linfocitos Th17.

Las células T regulatorias modulan la respuesta inmune favoreciendo una respuesta atenuada. Secretan citoquinas antiinflamatorias como IL10, TGF- β , IL35 y suprimen la expansión de linfocitos CD4 mediante la expresión de la molécula coestimuladora CTLA-4, que compete con CD28 por la unión a B7⁽⁸⁾. Una respuesta similar tienen las células B regulatorias que además promueven la diferenciación de las células T reguladoras⁽²⁴⁾.

Por otra parte, se liberan grandes cantidades de IL17. Esta citoquina regulatoria es secretada por gran variedad de células: células Th17, células T CD4, células T CD8, células B^(24,33). Produce mediadores que favorecen el reclutamiento de macrófagos y neutrófilos. Recientemente se ha demostrado que la IL17 tiene propiedades protectoras en la infección por *T. cruzi*, ejerce un feedback negativo en la producción de las citoquinas proinflamatorias TNF- α e IFN- γ y activa la producción de especies oxidativas que destruyen el parásito^(8,24).

Los factores implicados en la transición de la fase indeterminada a la fase crónica se desconocen a día de hoy. Se relaciona con el cese de la respuesta inmunosupresora de perfil Th2 y la reactivación de la respuesta inmune inflamatoria y por tanto la polarización de nuevo hacia un perfil Th1(Figura 3)⁽³⁴⁾.

El agotamiento de la respuesta inmune y en concreto de las células T CD8 se ha considerado durante años como unas de las principales causas de la persistencia del parásito en la fase crónica. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que durante esta fase las células T CD8 mantienen su función efectora ejerciendo un papel crítico en el control de la infección⁽³⁵⁾. Esto concuerda, con la composición del infiltrado observado en pacientes crónicos formado principalmente por células T activas, así como con la alta expresión de las citoquinas proinflamatorias TNF- α e IFN- γ ⁽³⁶⁾. La alta liberación de IFN- γ favorece la acción citotóxica de las células CD4 y promueve la acción citolítica mediada por las células T CD8⁽³⁷⁾. La disminución de la expresión de la molécula CTLA-4 en las células T CD8 de pacientes crónicos⁽³⁸⁾ favorece una respuesta citolítica exacerbada que progresará hasta la destrucción del propio tejido⁽³⁷⁾.

La respuesta inflamatoria exacerbada, la consecuente producción descontrolada de IFN- γ y la pérdida de la capacidad para controlar la respuesta inmunológica dan lugar al daño tisular y a la progresión de la enfermedad⁽³⁷⁾. Por tanto, la respuesta Th1 pese a ejercer un papel protector durante la fase aguda, es claramente perjudicial cuando la respuesta es exacerbada y mantenida en el tiempo⁽³⁷⁾.

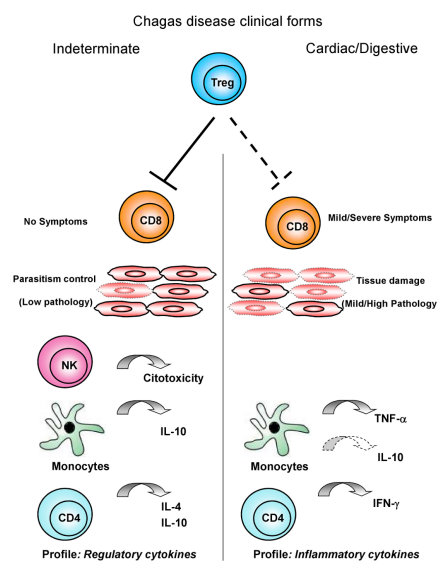


Figura 3.- Transición de la fase indeterminada a la fase crónica

5.4 Estrategias de evasión del sistema inmune de *Trypanosoma cruzi*

Trypanosoma cruzi induce por tanto una potente respuesta inmune en el hospedador, sin embargo, esta no es efectiva pues no consigue la eliminación completa del parásito⁽²⁴⁾. Como resultado de miles de años de interacción y coexistencia, *T. cruzi* ha evolucionado y desarrollado distintos mecanismos capaces de evadir la respuesta inmune con el fin de

garantizar su supervivencia, reducir el daño causado al hospedador y mantener la transmisibilidad a su vector hematófago⁽²⁶⁾.

Las proteínas de anclaje tipo mucinas presentes en la superficie del parásito son capaces de unirse a la superficie de macrófagos y células dendríticas alterando su activación. Si bien el reconocimiento de las moléculas de superficie del parásito por parte de los receptores tipo TLR en macrófagos induce una respuesta proinflamatoria. Recientemente se ha demostrado que TLR2 ejerce una función inmunorreguladora en células dendríticas, lo que previene la activación excesiva de la respuesta inmune y la producción descontrolada de citoquinas proinflamatorias⁽⁸⁾. Por otra parte, los glicoinosiltofosfolípidos (GIPLs), compuestos por ceramida, son capaces de inducir apoptosis⁽²⁶⁾.

T. cruzi una vez fagocitado debe sobrevivir al ambiente hostil propiciado en los macrófagos. Las citoquinas proinflamatorias TNF- α e IFN- γ inducen la expresión de la óxido-nítrico sintetasa (iNOS) lo que favorece la síntesis del radical NO a partir del sustrato L-arginina, se inicia la cascada hasta la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que contribuyen al ambiente oxidativo, al daño celular y a la muerte del parásito. Sin embargo, *T. cruzi* cuenta con una compleja red de enzimas y moléculas no enzimáticas antioxidantes que garantizan su supervivencia en este ambiente altamente oxidativo. Destacan cinco peroxidasas (TcAPX, TcCPX, TcMPX, TcGPXI, TcGPXII) y cuatro superóxido dismutasas (TcSODs A, B1, B2, C), distribuidas entre los distintos compartimentos celulares, capaces de reducir los radicales generados por la célula hospedadora. Una vez el parásito escapa del fagolisosoma y alcanza el citosol, tiene lugar la diferenciación a la forma amastigote, en este punto parece que el estrés oxidativo en lugar de ejercer un papel perjudicial favorece la persistencia mediante un mecanismo por el que facilita al amastigote acceso al hierro, molécula indispensable para su crecimiento⁽²⁶⁾. Adicionalmente, la cistein-proteína cruzipaina induce la activación alternativa de los macrófagos, aumenta la actividad de la arginasa que compite con la óxido-nítrico sintetasa por el sustrato L-arginina⁽²⁴⁾. El metabolismo de la arginina resulta en la producción de poliaminas, como la putrescina, esenciales para el crecimiento y replicación intracelular del parásito. La putrescina es sustrato de la espermidina sintasa del parásito, la espermidina generada será metabolizada por la tripanotion reductasa, que proporciona un sistema intracelular antioxidante lo que favorece la supervivencia del parásito⁽³⁹⁾.

Tras la ruptura de la célula los tripomastigotes alcanzan el torrente sanguíneo, donde se convierten en diana para la lisis mediada por el sistema del complemento y para la opsonización. *T. cruzi* sobrevive utilizando diferentes mecanismos destinados a eludir la lisis mediada por el complemento, entre ellos, las moléculas de superficie calreticulina y Gp58/68, que actúan en los primeros pasos de la cascada de las vías clásica y vía de las lectinas, respectivamente, inhibiendo la unión de los mediadores iniciales. Por otra parte, la proteína inhibidora del receptor C2 del complemento tri-funcional (CRIT), la proteína reguladora del complemento (CRP), el factor de decaimiento de la aceleración de tripomastigotes (T-DAF) y las microvesículas impiden o bloquean la formación de la C3 convertasa, esencial en las tres vías del complemento, la clásica, la alternativa y la vía de las lectinas, para la formación de la C5 convertasa y finalmente el complejo de ataque a membrana (CAM) y la consecuente lisis del parásito. Además, C3b actúa como opsonina e induce la fagocitosis en macrófagos, por lo que la inhibición de su formación podría estar relacionada con una disminución de la lisis del parásito en macrófagos⁽²⁶⁾.

La transialidasa transfiere el ácido siálico a las mucinas en la superficie del parásito lo que confiere al parásito protección frente a los componentes del complemento⁽⁸⁾. Esta molécula adquiere gran importancia en la evasión de la respuesta inmune.

En la fase inicial de la infección el parásito estimula la activación policlonal de linfocitos B y la consecuente hipergammaglobulinemia⁽²⁶⁾. Esto se debe principalmente a la expresión simultánea de gran variedad de proteínas de superficie inmunogénicas altamente polimórficas tales como las mucinas, mucinas asociadas a proteínas de superficie (MASPs), transialidasa⁽²⁴⁾. Así como a la presencia de proteínas capaces de estimular y actuar como mitógenos policlonales de los linfocitos entre las que destacan la glutamato deshidrogenasa (TcGDH), la prolina racemasa, y la transialidasa⁽²⁴⁾. Este mecanismo puede servir al parásito para evadir la respuesta inmune puesto que se generan una serie de anticuerpos inespecíficos que son incapaces de controlar la infección. Se trata por tanto, de un mecanismo engañoso que retrasa la estimulación y la producción de anticuerpos de alta especificidad y la estimulación y activación de células CD8 efectoras⁽²⁶⁾.

A medida que la infección avanza, a pesar de la elevada variedad de proteínas inmunogénicas expresadas, los linfocitos CD8 específicos reconocen de manera preferente un número escaso de epítomos, este fenómeno se conoce como inmunodominancia⁽²⁶⁾. Las transialidasas son los principales antígenos inmunodominantes en la respuesta mediada por los linfocitos CD8, debido a la alta expresión de esta molécula, a la presencia del dominio repetitivo altamente inmunogénico SAPA y al elevado polimorfismo⁽²⁶⁾. Esta respuesta inmune focalizada se considera un mecanismo de evasión dirigido a reducir la frecuencia de linfocitos efectivos y a evitar una respuesta inmune más extensa⁽⁴⁰⁾.

Por otra parte, la transialidasa inhibe la expansión de los linfocitos T CD4 y favorece la secreción de citoquinas propias de un perfil Th2, como IL4, al mismo tiempo que disminuye la secreción de IFN- γ . Otra proteína implicada en la disminución de las células T CD4 es la sialoglicoproteína TcMuc que disminuye la expresión de IL2 y su receptor CD25, y aumenta la secreción de IL10 y TGF- β ⁽²⁴⁾.

T. cruzi también cuenta con diferentes mecanismos capaces de activar la maquinaria apoptótica, estrategia que utiliza con el fin de eliminar la respuesta inmune. Las altas concentraciones de NO y de IFN- γ inducen apoptosis vía Fas-FasL, la transialidasa induce la apoptosis en linfocitos mediante un proceso de resialización que dificulta la interacción antígeno-célula efectora⁽⁴⁰⁾. Por otra parte, la citoquina TGF- β liberada por los mecanismos de renovación de tejido y resolución de la inflamación, favorece la replicación del parásito, sin embargo, también es capaz de inducir apoptosis en diversas células. *T. cruzi* sufre autoapoptosis e induce apoptosis, la fagocitosis de los cuerpos apoptóticos por macrófagos libera TGF- β e induce el metabolismo de arginina hacia la producción de poliaminas favoreciendo la replicación. La forma tripomastigote induce apoptosis mediante un mecanismo de mimetismo apoptótico por el que expresa fosfatidilserina en su superficie e induce así la vía TGF- β en macrófagos⁽⁴⁰⁾. Durante la fase crónica el parásito “secuestra” la vía TGF- β y mantiene un equilibrio entre la eliminación y la replicación⁽⁴¹⁾. La apoptosis favorece una respuesta inmunorreguladora y contribuye a la propagación silenciosa y a la persistencia del parásito.

5.5. ¿Persistencia o autoinmunidad?

En la fase crónica de la enfermedad se produce la pérdida de la capacidad para controlar la respuesta inmune, sin embargo, los mecanismos implicados en la patogénesis no están esclarecidos⁽¹⁴⁾. Existe cierta controversia entre las dos principales hipótesis propuestas: la hipótesis de la persistencia pone el punto de mira en la persistencia de *T. cruzi* en determinados tejidos y la falta de una respuesta inmune eficiente, mientras que la hipótesis de la autoinmunidad se basa en una respuesta inmune dirigida frente a antígenos propios ante la aparente ausencia del parásito^(42,43). Independientemente de la causa, ambas concluyen que la

respuesta inmune exacerbada resulta en la destrucción del propio tejido y los consecuentes signos y síntomas propios de la enfermedad clínica⁽⁴³⁾.

La hipótesis de la persistencia, se fundamenta en la determinación de la presencia de antígenos y ADN parasitarios en zonas afectadas en la fase crónica, mediante técnicas inmunohistoquímicas y PCR, lo que descarta la ausencia de parásito en esta fase sostenida inicialmente por la hipótesis autoinmune⁽⁴⁴⁾. Adicionalmente, el uso del tratamiento etiológico nifurtimox o benznidazol que contribuye a disminuir la carga parasitaria parece ser efectivo en la disminución de la enfermedad clínica⁽⁴⁴⁾.

Los múltiples mecanismos de evasión explotados por el parásito y la habilidad de pasar desapercibido contribuyen a la persistencia. Se establece así, un ciclo mantenido de respuesta inmunológica agresiva en un intento de eliminar completamente la baja concentración de parásitos que persisten en el individuo sin resolución ninguna de la infección, resultando en el daño ocasionado en el propio tejido⁽¹⁰⁾. En un intento de protegerse, ciertas células podrían permitir la persistencia del parásito lo que resultaría en el efecto contrario al deseado, puesto que cada vez que un nido se abriera liberando el parásito ocasionaría la formación de un nuevo infiltrado leucocitario⁽¹⁰⁾.

Ambas hipótesis son erróneamente propuestas como mutuamente exclusivas, sin embargo, nuevas actualizaciones plantean la contribución de los dos mecanismos al desenlace clínico⁽²⁴⁾. En este sentido, la hipótesis autoinmune sostiene que la persistencia del parásito y la consecuente reactividad inmunológica conllevan a daño tisular, lo que provoca una respuesta inmune exacerbada y la pérdida de tolerancia resultando en la reacción frente a moléculas propias. Los diferentes mecanismos implicados en el proceso de autoinmunidad serían los principales responsables del daño ocasionado en la fase crónica⁽²⁴⁾. Entre estos mecanismos se encuentran el mimetismo molecular, la activación *bystander*, la propagación de epítomos, la liberación de antígenos crípticos, y la activación policlonal (Figura 4)⁽⁴⁵⁾.

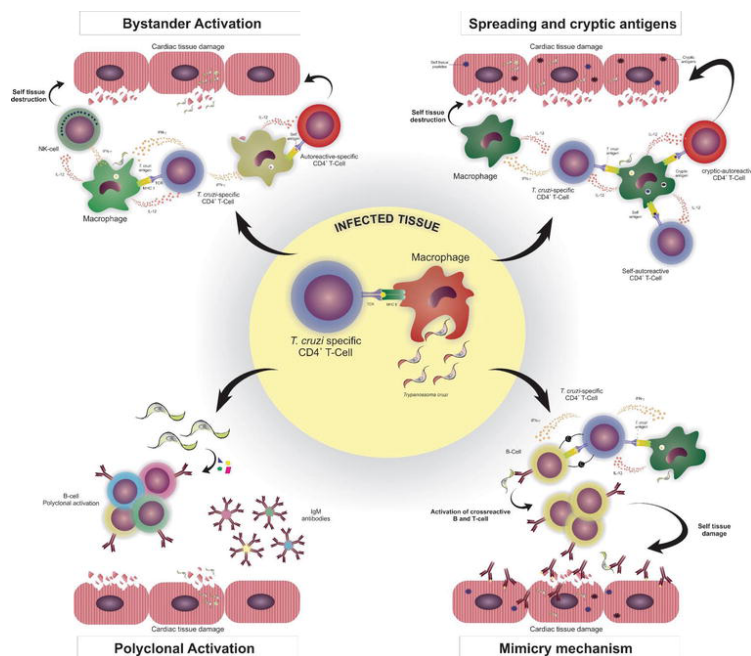


Figura 4.- Mecanismos implicados en la respuesta autorreactiva durante la fase crónica

El mimetismo molecular es considerado el mecanismo más significativo sustentando la teoría autoinmune⁽²⁴⁾. La presencia de estructuras similares así como de secuencias compartidas entre antígenos parasitarios y autoantígenos desencadena reacciones cruzadas mediante la activación de células T y B autorreactivas⁽⁴⁵⁾. Ejemplos de mimetismo molecular serían los evidenciados entre la cadena pesada de la miosina, proteína más abundante en el corazón y por tanto, un importante autoantígeno cardíaco, y la proteína B13 de *T. cruzi*, el

receptor $\beta 1$ - adrenérgico del hospedador y las proteínas ribosomales P0 y P2 β parasitarias, el receptor muscarínico M2 del hospedador y la cruzipaina y las proteínas CHA y SAPA^(15,45). La presencia de antígenos parasitarios que mimetizan antígenos del hospedador reafirma la existencia de una conexión entre la persistencia del parásito y la autoinmunidad⁽²⁴⁾.

Otro mecanismo dotado de cierta relevancia es la activación *bystander*, que consiste en la activación de linfocitos T por antígenos diferentes a los que inicialmente desencadenaron la respuesta inmune. Los antígenos parasitarios junto con autoantígenos liberados por el daño tisular ocasionado crean un intenso ambiente proinflamatorio, la alta liberación de mediadores inflamatorios induce un potente estímulo capaz disminuir el umbral de activación de linfocitos T que se dirigirán contra antígenos propios convirtiéndose en células T autorreactivas, y acabando con la autotolerancia⁽⁴⁵⁾.

La activación *bystander* y la consecuente reacción autoinmune conllevan la destrucción tisular y la liberación de nuevos autoantígenos que serán presentados induciendo nuevas respuestas autoinmunes⁽⁴⁵⁾. Este fenómeno por el que se reclutan nuevos clones de linfocitos autorreactivos frente a nuevos epítomos y autoantígenos diferentes al inicial se conoce como propagación de epítomos⁽⁴⁶⁾. Adicionalmente el procesamiento de estos autoantígenos permite que los linfocitos reconozcan epítomos a los que previamente no se tenía acceso⁽⁴⁶⁾, denominados epítomos crípticos. En condiciones normales la interacción establecida entre estos epítomos y el complejo CMH es de baja afinidad, lo que impide la activación⁽⁴⁵⁾.

No obstante, el mecanismo subyacente originario de la autoinmunidad se desconoce a día de hoy⁽²⁴⁾. Adicionalmente se han propuesto otra serie de teorías que tratan de elucidar la patogénesis de *T. cruzi*, sin embargo, estas en su mayoría se consideran secundarias a la persistencia o a la autoinmunidad o carecen de la validez suficiente para ser aceptadas como probables⁽⁴³⁾.

La hipótesis neurogénica se basa en la pérdida significativa de células neuronales en tejido cardíaco y en el plexo mientérico afectando por tanto, también al tejido esofágico e intestinal⁽⁴⁷⁾. Algunos autores defienden la liberación de una neurotoxina parasitaria como causante de la destrucción neuronal, sin embargo, ante la falta de evidencia, otros autores acogen la respuesta autoinmune como principal responsable⁽²⁾. En este sentido, se cree que bajas concentraciones del péptido vasoactivo intestinal VIP y altas concentraciones de la sustancia P contribuyen a un ambiente inflamatorio mientras que en el caso contrario se favorece la inmunorregulación⁽¹⁴⁾. En cualquier caso, la pérdida de neuronas vagales conlleva la alteración del circuito neurohormonal, se produce la activación excesiva del sistema simpático y la consecuente hipersensibilidad a catecolaminas y toxicidad⁽⁴⁷⁾. No obstante, numerosas dudas surgen en torno a esta hipótesis, se plantea la posibilidad de que no se trate de pérdida neuronal si no de variabilidad del número de neuronas en las diferentes áreas ganglionares y ganglios. Del mismo modo, parece controversial el hecho de que pacientes con afectación gastrointestinal raramente cursen de manera simultánea con afectación cardíaca y viceversa, puesto que no existe justificación para que se vean alteradas las neuronas vagales solo en algunas localizaciones y no en todas⁽⁴⁷⁾. La presencia de daño miocárdico y disfunción ventricular izquierda previos a la alteración del sistema nervioso autónomo sugieren que no se trata de la causa, si no más bien de la consecuencia de la alteración cardíaca⁽⁴⁷⁾.

La hipótesis del estrés oxidativo contempla la capacidad de IFN- γ para producir ROS vía activación de óxido-nítrico sintetasa y la NADPH oxidasa o vía inducción de NF- κ B mitocondrial como mecanismo de defensa para eliminar el parásito⁽⁴⁸⁾. Este mecanismo tiene gran importancia en el control del parásito. Sin embargo, la pérdida de capacidad de resolución de los altos niveles de NO y ROS resulta en descompensación energética y alteración mitocondrial y daño tisular^(48,49). En este aspecto, se ha comprobado que los

complejos I y III de la cadena de transporte de electrones mitocondrial muestran represión de actividades bioquímicas, indicativo de estrés oxidativo. Así mismo, la actividad de la enzima superóxido dismutasa II encargada de detoxificar ROS se ve muy reducida⁽⁴⁷⁾. El ambiente inflamatorio potencia por tanto, la disfunción y el daño mitocondrial lo que provoca la liberación de ROS y DAMPs (patrones moleculares asociados a daño) mitocondriales capaces de activar diferentes vías inflamatorias perpetuando así la inflamación y el daño mitocondrial por retroalimentación⁽⁴⁸⁾. Este mecanismo conocido como inflamación estéril podría contribuir a la inflamación en ausencia del parásito por lo que se considera uno de los principales factores patogénicos⁽⁴⁸⁾. Sin embargo, aún debe establecerse si se trata de un factor causal o simplemente de un indicador de patología⁽⁴⁷⁾.

La hipótesis de la endotelina-1 (ET-1) sugiere que este potente vasoconstrictor producido por células endoteliales, fibroblastos y cardiomiocitos ejerce un papel importante en la patogénesis cardíaca de la enfermedad^(47,50). Se cree que ciertas moléculas parasitarias inducen la sobreexpresión de esta molécula⁽⁵⁰⁾. En este aspecto, se ha demostrado un incremento en la expresión de mRNA del precursor preproET-1, así como elevadas concentraciones de ET-1 plasmática y de la enzima convertidora de endotelina⁽⁵⁰⁾. Estudios realizados en ratones en los que se suprime el gen que codifica bien para ET-1, bien para la enzima convertidora de endotelina, muestran disminución de la inflamación en el miocardio y de la fibrosis, y por tanto de la remodelación cardíaca, lo que corrobora esta hipótesis^(47,50). Las múltiples evidencias sugieren que ET-1 induce vasoconstricción y ejerce un papel modulador en la alteración vascular y por consiguiente, en la patogénesis de la enfermedad⁽⁴⁷⁾.

La hipótesis de los péptidos natriuréticos sugiere un papel para los péptidos natriuréticos atrial (ANP) y cerebral (BNP) al encontrarse en elevadas concentraciones en pacientes chagásicos. Sin embargo, se cree que se trata de un mero indicador de alteración cardíaca y no de un factor causal puesto que el incremento de ANP parece ser derivado del estrés ocasionado en la pared ventricular, al encontrarse en alto niveles en las lesiones originadas en la pared ventricular y no en otras localizaciones inflamatorias. Por otra parte, se han demostrado altos niveles de BNP en otras alteraciones cardíacas no chagásicas⁽⁴⁷⁾.

La hipótesis de las perturbaciones microvasculares sostiene que alteraciones en la microcirculación coronaria dan lugar a isquemia y consecuentemente al daño cardíaco ocasionado en la fase crónica de la enfermedad⁽⁴⁷⁾. Estudios en ratones han demostrado la presencia de agregados plaquetarios y fibróticos que originan trombos oclusivos en relación con la miocarditis, degeneración miocárdica y miocitolisis chagásicas, lo que sugiere una relación entre la microangiopatía y el daño cardíaco ocasionado^(47,50). Se plantea la posibilidad de que la liberación de tromboxano A2 (TXA2) y del factor de agregación plaquetaria (PAF) por los macrófagos implicados en la defensa sean los responsables de ocasionar la isquemia y la miocitolisis⁽⁵⁰⁾. Adicionalmente, estudios muestran que *T. cruzi* es capaz de sintetizar TXA2 en todas sus formas. Se detecta asimismo, alteración de las células endoteliales, se observan agregados de colágeno citoplasmáticos relacionados generalmente con agregados plaquetarios y fibróticos y otra serie de alteraciones como alteraciones en la producción de calcio, IP3 y AMP que afectan a la perfusión⁽⁵⁰⁾. Sin embargo, tan solo el 10% de los pacientes con afectación cardíaca sufren isquemia, por lo que es poco probable que se trate del factor determinante de la patogénesis⁽⁴⁷⁾. Este hecho junto con la evidencia de hipoperfusión y alteraciones capilares en cardiopatías no chagásicas sugiere que posiblemente las perturbaciones microvasculares sean secundarias al daño cardíaco⁽⁴⁷⁾.

Independientemente de los mecanismos propuestos, un factor importante a tener en cuenta en el mecanismo subyacente a la patogénesis es la variabilidad genética tanto del parásito como del hospedador. Se cree que la heterogeneidad presente en las distintas poblaciones de *T. cruzi*⁽⁴⁷⁾, junto con la susceptibilidad genética y otros mecanismos aún

desconocidos, como mecanismos epigenéticos y postraduccionales⁽¹⁴⁾, determinan tanto la resistencia al parásito, como la adaptabilidad del hospedador al daño ocasionado por el mismo⁽⁸⁾.

En definitiva, si bien se han producido grandes avances que tratan de elucidar la patogénesis, este sigue siendo un tema controvertido. La detección en los últimos años de la presencia de antígenos y ADN parasitarios en zonas afectadas en la fase crónica, mediante nuevas técnicas inmunohistoquímicas y PCR más sensibles, junto con la mejora observada en pacientes en los que se aplica el tratamiento etiológico que disminuye la carga parasitaria, nos llevan a asumir la presencia de parásito en esta fase y por consiguiente la persistencia del mismo. Los mecanismos de evasión explotados por el parásito garantizan la persistencia. La pérdida de tolerancia y la autorreactividad observada en estos pacientes se originan por tanto como consecuencia de la reactividad inmunológica y el daño tisular derivados de la persistencia del parásito. Esto nos inclina a asumir la persistencia como el factor principal determinante de la patología de la enfermedad. En cualquier caso, ha de contemplarse un origen multifactorial al que contribuyen tanto los múltiples mecanismos de evasión y la persistencia del parásito como la alteración de los procesos de regulación inmune y la autorreactividad. La enfermedad de Chagas, a pesar de tratarse de una enfermedad descubierta hace más de un centenar de años, sigue preocupando actualmente. Los avances en la línea de un mayor esclarecimiento y entendimiento de los mecanismos implicados en la patogénesis y en la respuesta inmune permitirán el desarrollo de nuevas estrategias de tratamiento y profilaxis. Esta enfermedad considerada por la OMS como desatendida debería estar sujeta a una extensa vigilancia epidemiológica, desde medidas contra el vector, screenings de sangre y de órganos en donaciones, hasta medidas de profilaxis y tratamiento terapéutico. Este enfoque multidisciplinar permitirá un mayor control y prevención de la enfermedad.

5.6. Manifestaciones clínicas

El periodo de incubación de *T. cruzi* en el ser humano generalmente es de 72 horas, durante este periodo el parásito comienza a multiplicarse e induce la respuesta inflamatoria que puede manifestarse en la piel como chagoma⁽²⁾, marcando el sitio de entrada⁽⁵¹⁾. Si la inoculación se produce en el ojo se aprecia el Signo de Romana, que se caracteriza por conjuntivitis y edema bipalpebral unilateral con adenopatía satélite⁽⁵²⁾. De manera simultánea, se manifiestan una serie de síntomas inespecíficos como fiebre, dolor muscular, vómitos y diarrea, linfadenopatía, hepatoesplenomegalia⁽²⁾. La alteración cardiaca en esta fase cursa de manera similar a otros tipos de miocarditis⁽⁵¹⁾. Se aprecia taquicardia sinusal y bajo voltaje del QRS. Durante la fase aguda es posible la detección del parásito en sangre, ya como tripomastigote sanguíneo, mediante la tinción de giemsa⁽²⁾. Se observa también, una alta linfocitosis, debido a la excesiva activación de la respuesta inflamatoria en esta fase y la detección de anticuerpos IgM específicos anti-*T. cruzi* permite el diagnóstico de la infección aguda^(2,52). Durante esta fase el parásito invade gran variedad de células desde fagocitos, células epiteliales en múltiples localizaciones hasta las células de Schwann, generalmente astrocitos, sin embargo, no existe gran afectación neuronal⁽⁵²⁾. Se aprecian nidos de amastigotes fundamentalmente en tejido muscular e histiocitos⁽²⁾. Importantes infiltrados inflamatorios compuestos fundamentalmente por macrófagos y linfocitos se detectan en un corazón dilatado, engrosado y flácido, asociados con las alteraciones del ECG^(2,52). Sin embargo, en la mayoría de casos cursa de manera asintomática, manifestándose principalmente en niños⁽⁵¹⁾. El 5-10% de los pacientes sintomáticos no tratados en esta fase fallecen por encefalomielitis y alteración cardiaca severa⁽⁵¹⁾.

Tras tres o cuatro meses la infección progresa⁽⁵²⁾. La fase indeterminada se caracteriza por la ausencia de manifestaciones clínicas tanto cardiacas como digestivas y la presencia de

anticuerpos IgG específicos en sangre⁽²⁾. Se determina la presencia de la infección mediante la detección del parásito o de marcadores fenotípicos y genéticos⁽⁵²⁾. Durante esta fase la examinación con rayos x, muestra tamaños normales de corazón, esófago y colón y por tanto ausencia de megaformaciones⁽²⁾. No obstante, biopsias de pacientes durante esta fase de infección críptica muestran pequeñas lesiones inflamatorias cardíacas⁽⁵²⁾.

Un tercio de los pacientes progresa a la fase crónica⁽²⁾. En el 94,5% de los casos se desarrollan alteraciones cardíacas, mientras que en el 5,5% restante se desarrollan síndromes digestivos, como megaesófago y megacolon⁽⁵²⁾. En la afectación cardíaca, es frecuente la aparición de insuficiencia cardíaca congestiva, en estos pacientes, el corazón alcanza dos veces su tamaño normal⁽⁵²⁾. Las ecocardiografías muestran disfunción ventricular con hipocinesia, comúnmente se observa disfunción apical del ventrículo izquierdo o bien la formación de aneurismas^(2,52). Esto da lugar a la formación de trombos que se diseminan, en numerosos casos responsables de ocasionar el fallecimiento de pacientes por infarto cerebral o afectación pulmonar⁽²⁾. La insuficiencia cardíaca se relaciona con el fallecimiento en un 58% de los casos, mientras que la presencia de arritmias se correlaciona con los casos de muerte súbita en un 36,5%⁽⁵²⁾. La examinación microscópica revela la presencia nidos de amastigotes en células cardíacas sanas, generalmente, y de infiltrados inflamatorios compuestos principalmente por macrófagos y linfocitos⁽²⁾. Estos favorecen la destrucción tanto de las neuronas exentas de parásito, como de las fibras cardíacas. La acumulación de lesiones origina la aparición de miocarditis⁽²⁾. El grado de afectación varía según la región del miocardio, algunas zonas no sufren alteración, mientras que otras resultan altamente dañadas⁽²⁾. En estas últimas, las lesiones son reparadas por tejido conectivo lo que dará lugar a la aparición cicatrices fibrosas⁽⁵²⁾.

Los síndromes digestivos, megaesófago y megacolon derivan de las alteraciones producidas en el sistema nervioso autónomo⁽²⁾. Las manifestaciones principales son la dilatación visceral y el engrosamiento de las paredes. Los infiltrados leucocitarios producen lesiones en las capas interna y externa de la musculatura lisa del tracto digestivo y afectan mayoritariamente a las neuronas parasimpáticas, lo que conlleva la degeneración neuronal⁽⁵²⁾. El síntoma más destacado en el caso del megacolon es la constipación, el contenido fecal queda retenido debido a la falta de movilidad originada por la pérdida neuronal, y consecuentemente origina la dilatación y engrosamiento de las paredes del sigmoides y del recto⁽²⁾.

6. CONCLUSIONES

1. Las moléculas de superficie del parásito garantizan la supervivencia y el establecimiento de la infección, modulando la respuesta inmune.
2. En las fases aguda y crónica se induce una potente respuesta inmune inflamatoria, en la fase indeterminada predomina una respuesta inmunorreguladora.
3. El parásito inhibe los mecanismos de eliminación del parásito en macrófagos e interfiere en la generación de anticuerpos específicos y en la activación de linfocitos efectivos.
4. El parásito utiliza diferentes mecanismos destinados a eludir la lisis mediada por el complemento.
5. La persistencia del parásito es imprescindible para inducir la patología observada en la fase crónica
6. La autoinmunidad adquiere un papel importante en el desenlace clínico en la fase crónica

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Salud (Peru) C, Cabrera R. Breve reseña histórica de la enfermedad de chagas, a cien años de su descubrimiento y situación actual en el Perú [Internet]. Vol. 26, Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. Instituto Nacional de Salud; 2002 [citado 25 de abril de 2019]. 494-504 p. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342009000400012
2. Teixeira ARL, Hecht MM, Guimaro MC, Sousa AO, Nitz N. Pathogenesis of chagas' disease: parasite persistence and autoimmunity. Clin Microbiol Rev [Internet]. julio de 2011 [citado 25 de abril de 2019];24(3):592-630. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21734249>
3. Sousa MA de. Morphobiological characterization of Trypanosoma cruzi Chagas, 1909 and its distinction from other Trypanosomes. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. septiembre de 1999 [citado 29 de abril de 2019];94(suppl 1):205-10. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02761999000700031&lng=en&tlng=en
4. Profile SEE. Chagas, del trópico a la molécula. 2017;(March).
5. Herrera LM. Una revisión sobre reservorios de Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi (Chagas, 1909), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas Leidi Herrera* [Internet]. [citado 29 de abril de 2019]. Disponible en: https://www.academia.edu/2360255/Una_revisión_sobre_reservorios_de_Trypanosoma_Schizotrypanum_cruzi_Chagas_1909_agente_etiológico_de_la_Enfermedad_de_Chagas_Leidi_Herrera
6. OPS (Organización Panamericana de la Salud). Información general: Enfermedad de Chagas.
7. Arce-Vega R, Ángeles-Llerenas A, Villegas-Trejo A, Ramos C, Arce-Vega R, Ángeles-Llerenas A, et al. Adherencia al tratamiento terapéutico en pacientes con enfermedad de Chagas del Estado de Morelos. Rev BIOMÉDICA [Internet]. 2 de febrero de 2017 [citado 29 de abril de 2019];28(1):25-37. Disponible en: <http://revistabiomedica.mx/index.php/revbiomed/article/view/561>
8. GUTIERREZ FRS, GUEDES PMM, GAZZINELLI RT, SILVA JS. The role of parasite persistence in pathogenesis of Chagas heart disease. Parasite Immunol [Internet]. 7 de octubre de 2009 [citado 25 de abril de 2019];31(11):673-85. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-3024.2009.01108.x>
9. de Souza W, de Carvalho TMU, Barrias ES. Review on Trypanosoma cruzi: Host Cell Interaction. Int J Cell Biol [Internet]. 2010 [citado 25 de abril de 2019];2010. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20811486>
10. Álvarez JM, Fonseca R, Borges da Silva H, Marinho CRF, Bortoluci KR, Sardinha LR, et al. Chagas Disease: Still Many Unsolved Issues. Mediators Inflamm. 2014;2014:1-9.
11. Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera (Costa Rica) G, Díaz G. Revista médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera. [Internet]. Vol. 37, Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera. Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera; 2002 [citado 25 de abril de 2019]. 57-63 p. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85462002000100009
12. Mesías AC, Sasoni N, Arias DG, Pérez Brandán C, Orban OCF, Kunick C, et al. Trypanothione synthetase confers growth, survival advantage and resistance to anti-protozoal drugs in Trypanosoma cruzi. Free Radic Biol Med [Internet]. enero de 2019 [citado 25 de abril de 2019];130:23-34. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30359758>
13. Caldas IS, Menezes AP de J, Diniz L de F, Nascimento ÁF da S do, Novaes RD, Caldas S, et al. Parasitaemia and parasitic load are limited targets of the aetiological treatment to control the progression of cardiac fibrosis and chronic cardiomyopathy in Trypanosoma

- cruzi-infected dogs. *Acta Trop* [Internet]. 2019;189(August 2018):30-8. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.09.015>
14. Dutra WO, Menezes CAS, Magalhães LMD, Gollob KJ. Immunoregulatory networks in human Chagas disease. *Parasite Immunol* [Internet]. agosto de 2014 [citado 25 de abril de 2019];36(8):377-87. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24611805>
 15. García-Trevijano JAE, Gómez Barrio A. Enfermedad de chagas: El desenlace de un conflicto entre el parásito y el sistema inmunitario. *An la Real Acad Nac Farm*. 2012;78(3):298-322.
 16. Yoshida N. Molecular basis of mammalian cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. *An Acad Bras Cienc* [Internet]. marzo de 2006 [citado 25 de abril de 2019];78(1):87-111. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652006000100010&lng=en&tlng=en
 17. Manoel-Caetano F da S, Silva AE. Implications of genetic variability of *Trypanosoma cruzi* for the pathogenesis of Chagas disease. *Cad Saude Publica* [Internet]. octubre de 2007 [citado 25 de abril de 2019];23(10):2263-74. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17891288>
 18. Freire-de-Lima L, da Fonseca LM, da Silva VA, da Costa KM, Morrot A, Freire-de-Lima CG, et al. Modulation of Cell Sialoglycophenotype: A Stylish Mechanism Adopted by *Trypanosoma cruzi* to Ensure Its Persistence in the Infected Host. *Front Microbiol* [Internet]. 2016 [citado 25 de abril de 2019];7:698. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27242722>
 19. Nardy AFFR, Freire-de-Lima CG, Pérez AR, Morrot A. Role of *Trypanosoma cruzi* Transsialidase on the Escape from Host Immune Surveillance. *Front Microbiol* [Internet]. 23 de marzo de 2016 [citado 25 de abril de 2019];7:348. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2016.00348/abstract>
 20. dC-Rubin SSC, Schenkman S. *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase as a multifunctional enzyme in Chagas' disease. *Cell Microbiol* [Internet]. octubre de 2012 [citado 25 de abril de 2019];14(10):1522-30. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22747789>
 21. Ferreira ER, Bonfim-Melo A, Mortara RA, Bahia D. *Trypanosoma cruzi* extracellular amastigotes and host cell signaling: more pieces to the puzzle. *Front Immunol* [Internet]. 2012 [citado 25 de abril de 2019];3:363. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23264776>
 22. Burleigh A, Woolsey AM, Burleigh BA, Woolsey AM. signalling and *Trypanosoma cruzi* invasion B Cell signalling and *Trypanosoma cruzi* invasion [Internet]. Vol. 4, Cellular Microbiology. 2002 [citado 25 de abril de 2019]. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/32f0/de8b622899a0cd8cb11016e6f124b4997c1c.pdf>
 23. Fernandes MC, Andrews NW. Host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*: a unique strategy that promotes persistence. *FEMS Microbiol Rev* [Internet]. mayo de 2012 [citado 25 de abril de 2019];36(3):734-47. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22339763>
 24. Acevedo GR, Girard MC, Gómez KA. The Unsolved Jigsaw Puzzle of the Immune Response in Chagas Disease. *Front Immunol* [Internet]. 2018 [citado 25 de abril de 2019];9:1929. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30197647>
 25. Rodrigues MM, Oliveira AC, Bellio M. The Immune Response to *Trypanosoma cruzi*: Role of Toll-Like Receptors and Perspectives for Vaccine Development. *J Parasitol Res* [Internet]. 2012 [citado 25 de abril de 2019];2012:507874. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22496959>
 26. Cardoso MS, Reis-Cunha JL, Bartholomeu DC. Evasion of the Immune Response by *Trypanosoma cruzi* during Acute Infection. *Front Immunol* [Internet]. 2015 [citado 25 de abril de 2019];6:659. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26834737>
 27. Camargo MM, Almeida IC, Pereira ME, Ferguson MA, Travassos LR, Gazzinelli RT, et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchored mucin-like glycoproteins isolated from

- Trypanosoma cruzi trypomastigotes initiate the synthesis of proinflammatory cytokines by macrophages. J Immunol [Internet]. 15 de junio de 1997 [citado 25 de abril de 2019];158(12):5890-901. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9190942>
28. Junqueira C, Caetano B, Bartholomeu DC, Melo MB, Ropert C, Rodrigues MM, et al. The endless race between Trypanosoma cruzi and host immunity: lessons for and beyond Chagas disease. Expert Rev Mol Med [Internet]. 15 de septiembre de 2010 [citado 25 de abril de 2019];12:e29. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20840799>
 29. Andrade D V., Gollob KJ, Dutra WO. Acute Chagas Disease: New Global Challenges for an Old Neglected Disease. da Costa Santiago H, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 31 de julio de 2014 [citado 25 de abril de 2019];8(7):e3010. Disponible en: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0003010>
 30. Campos MA, Gazzinelli RT. Trypanosoma cruzi and its components as exogenous mediators of inflammation recognized through Toll-like receptors. [citado 25 de abril de 2019]; Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/2cd8/e6bcabe580ed2af5a0f3bf0687586c7abfd9.pdf>
 31. Lasso P, Mateus J, González JM, Cuéllar A, Puerta C. CD8+ T Cell Response to Trypanosoma cruzi Antigens during Chronic Chagas Disease. En 2019 [citado 25 de abril de 2019]. p. 349-61. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-9148-8_26
 32. Alberto C, Zeraín LF. Inmunología de la infección por T. Cruzi y de la enfermedad de Chagas Comunicación [Internet]. Vol. 8, Enf Emerg. 2006 [citado 25 de abril de 2019]. Disponible en: <http://enfermedadesemergentes.com/articulos/a456/s-8-supl-005.pdf>
 33. Miyazaki Y, Hamano S, Wang S, Shimanoe Y, Iwakura Y, Yoshida H. IL-17 Is Necessary for Host Protection against Acute-Phase Trypanosoma cruzi Infection. J Immunol [Internet]. 15 de julio de 2010 [citado 25 de abril de 2019];185(2):1150-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20562260>
 34. Andrade ZA. Immunopathology of Chagas disease. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. septiembre de 1999 [citado 25 de abril de 2019];94(suppl 1):71-80. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02761999000700007&lng=en&tlng=en
 35. Pack AD, Collins MH, Rosenberg CS, Tarleton RL. Highly competent, non-exhausted CD8+ T cells continue to tightly control pathogen load throughout chronic Trypanosoma cruzi infection. Engwerda CR, editor. PLOS Pathog [Internet]. 12 de noviembre de 2018 [citado 25 de abril de 2019];14(11):e1007410. Disponible en: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.ppat.1007410>
 36. Boscardin SB, Torrecilhas ACT, Manarin R, Revelli S, Rey EG, Tonelli RR, et al. Chagas' disease: an update on immune mechanisms and therapeutic strategies. J Cell Mol Med [Internet]. junio de 2010 [citado 25 de abril de 2019];14(6B):1373-84. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20070438>
 37. Gomes JAS, Bahia-Oliveira LMG, Rocha MOC, Martins-Filho OA, Gazzinelli G, Correa-Oliveira R. Evidence that Development of Severe Cardiomyopathy in Human Chagas' Disease Is Due to a Th1-Specific Immune Response. Infect Immun [Internet]. 2003 [citado 25 de abril de 2019];71(3):1185-93. Disponible en: <http://iai.asm.org/>
 38. Dutra WO, Gollob KJ. Current concepts in immunoregulation and pathology of human Chagas disease. Curr Opin Infect Dis [Internet]. junio de 2008 [citado 25 de abril de 2019];21(3):287-92. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18448974>
 39. Abad Dar M, Hölscher C. Arginase-1 Is Responsible for IL-13-Mediated Susceptibility to Trypanosoma cruzi Infection. Front Immunol [Internet]. 29 de noviembre de 2018 [citado 25 de abril de 2019];9:2790. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2018.02790/full>
 40. DosReis GA. Evasion of immune responses by Trypanosoma cruzi, the etiological agent of Chagas disease. Brazilian J Med Biol Res [Internet]. febrero de 2011 [citado 26 de abril de 2019];44(2):151-60. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167561511000311>

- 2019];44(2):84-90. Disponible en:
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2011000200001&lng=en&tlng=en
41. Geiger A, Bossard G, Sereno D, Pissarra J, Lemesre J-L, Vincendeau P, et al. Escaping Deleterious Immune Response in Their Hosts: Lessons from Trypanosomatids. *Front Immunol* [Internet]. 2016 [citado 25 de abril de 2019];7:212. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27303406>
 42. De Bona E, Lidani KCF, Bavia L, Omidian Z, Gremski LH, Sandri TL, et al. Autoimmunity in Chronic Chagas Disease: A Road of Multiple Pathways to Cardiomyopathy? *Front Immunol* [Internet]. 2018 [citado 26 de abril de 2019];9:1842. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30127792>
 43. Tarleton RL. Parasite persistence in the aetiology of Chagas disease. *Int J Parasitol* [Internet]. 1 de mayo de 2001 [citado 26 de abril de 2019];31(5-6):550-4. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0020751901001588?via%3Dihub>
 44. Rassi Jr A, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas heart disease: pathophysiologic mechanisms, prognostic factors and risk stratification. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2009 [citado 26 de abril de 2019];104:152-8. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762009000900021&script=sci_arttext&tlng=ES
 45. Mattoso-Barbosa AM, Sathler-Avelar R, Coelho-dos-Reis JGA, Martins-Filho OA, Teixeira-Carvalho A, Vitelli-Avelar DM. Physiology and Pathology of Infectious Diseases: The Autoimmune Hypothesis of Chagas Disease. *Physiol Pathol Immunol*. 2017;
 46. Murphy K, Weaver C. *Janeway's Immunobiology*, 9th edition [Internet]. 2016. 924 p. Disponible en: http://books.google.de/books?id=GmPLCwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=Immunobiology+The+Immune+System+in+Health+and+Disease&hl=&cd=6&source=gbs_api
 47. Kierszenbaum F. Mechanisms of pathogenesis in Chagas disease. 2007 [citado 26 de abril de 2019]; Disponible en: <https://www.degruyter.com/downloadpdf/j/ap.2007.52.issue-1/s11686-006-0048-y/s11686-006-0048-y.pdf>
 48. Chevillard C, Nunes JPS, Frade AF, Almeida RR, Pandey RP, Nascimento MS, et al. Disease Tolerance and Pathogen Resistance Genes May Underlie Trypanosoma cruzi Persistence and Differential Progression to Chagas Disease Cardiomyopathy. *Front Immunol* [Internet]. 3 de diciembre de 2018 [citado 26 de abril de 2019];9:2791. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.02791/full>
 49. Zago MP, Wiktorowicz JE, Spratt H, Koo S-J, Barrientos N, Nuñez Burgos A, et al. Potential Utility of Protein Targets of Cysteine-S-Nitrosylation in Identifying Clinical Disease Status in Human Chagas Disease. *Front Microbiol* [Internet]. 15 de enero de 2019 [citado 26 de abril de 2019];9:3320. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2018.03320/full>
 50. Rossi MA, Tanowitz HB, Malvestio LM, Celes MR, Campos EC, Blefari V, et al. Coronary Microvascular Disease in Chronic Chagas Cardiomyopathy Including an Overview on History, Pathology, and Other Proposed Pathogenic Mechanisms. [citado 26 de abril de 2019]; Disponible en: www.plosntds.org
 51. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 1 de septiembre de 2001 [citado 28 de abril de 2019];1(2):92-100. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473309901000652>
 52. Teixeira ARL, Nitz N, Guimaro MC, Gomes C, Santos-Buch CA. Chagas disease. *Postgrad Med J* [Internet]. diciembre de 2006 [citado 28 de abril de 2019];82(974):788-98. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17148699>