



*ENFERMEDAD DE CHAGAS, EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE Y
PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS - Revisión de literatura-*

David Snaider Bettin González
Nagibe Andrea Martínez Chiguasuque
Maira Alejandra Molano Rodríguez

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C., FEBRERO DE 2018



*ENFERMEDAD DE CHAGAS, EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE Y
PERSPECTIVAS TERAPÉUTICAS - Revisión de literatura-*

Edith Del Carmen Hernández Rojas - MSc
Asesora UCMC

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C., FEBRERO DE 2018

DEDICATORIA

A Dios por habernos permitido iniciar y culminar este proceso, por darnos la oportunidad de hacer parte de nuestra amada alma mater, con un cuerpo docente extraordinario, que nos llevó al crecimiento constante y la realización como profesionales íntegros, gracias a cada uno de ellos por su constancia, esfuerzo y radicalidad porque si no fuese por sus múltiples aciertos nuestro camino no sería el de ahora.

A nuestras familias, que nos han acompañado y brindado apoyo durante el proceso de formación profesional, que confiaron en nuestras capacidades y nos regalaron la oportunidad de estudiar, que han sido el motor para culminar esta etapa tan importante en nuestras vidas, convertirnos en bacteriólogos y laboratoristas clínicos con consciencia social y alto sentido de pertenencia.

Gracias totales.

AGRADECIMIENTOS

La investigación es una puerta de entrada a posibilidades, retos, aciertos y fracasos, depende de nosotros superar los obstáculos, aprender de ellos y generar conocimiento. Es por ello que el presente trabajo es el esfuerzo conjunto de nosotros como estudiantes, también de los distintos aportes, observaciones, correcciones, críticas y propuestas que hicieron posible el resultado final de este proyecto.

Especial agradecimiento a nuestra asesora Edith Del Carmen Hernández Rojas quien con su mirada profesional, su tiempo y paciencia afianzó cada uno de los pasos en el proceso de trabajo, demostrando que el maestro es compañero fiel del aprendizaje.

Por último y en alto grado de importancia a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, a la Facultad de Bacteriología y Laboratorio Clínico por todos los años de pedagogía, bienestar universitario y apoyo académico, todas nuestras exaltaciones por su sentido de responsabilidad y humanidad en busca de la transformación social desde el campo de la academia, la ciencia y la investigación.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	15
INTRODUCCIÓN	16
OBJETIVOS	18
1. ANTECEDENTES	19
2. MARCO TEÓRICO	23
2.1 ENFERMEDAD DE CHAGAS	23
2.1.1 Agente etiológico	23
2.1.2 Vector	27
2.1.3 Ciclo de vida	29
2.1.4 Vías de transmisión	32
2.1.5 Manifestaciones clínicas	32
2.1.5.1 Fase aguda	32
2.1.5.2 Fase indeterminada y Fase crónica	33
2.2 EPIDEMIOLOGÍA	33
2.3 DIAGNÓSTICO	37
2.3.1 Métodos directos	37
2.3.2 Métodos indirectos.	38
2.3.3 Métodos Serológicos	40
2.4 DETERMINANTES ANTIGÉNICOS	45
2.4.1 Mucinas	45

2.4.2	GP72	45
2.4.3	Superfamilia GP85/ TSA	45
2.4.4	Gp90	47
2.4.5	Gp35/50	47
2.4.6	Gp30	47
2.4.7	HSP70	47
2.4.8	Cruzipaina o Gp57/51	48
2.4.9	Oligopeptidasa B	49
2.5	INVASIÓN CELULAR DE <i>Trypanosoma cruzi</i> .	49
2.6	RESPUESTA INMUNE FRENTE A INFECCIÓN POR <i>Trypanosoma cruzi</i>	51
2.6.1	Innata	51
2.6.2	Adaptativa	54
2.6.2.1	Celular	54
2.6.3	Humoral	55
2.7	EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE POR <i>Trypanosoma cruzi</i>	56
2.7.1	Invasión celular y sobrevida al stress oxidativo	56
2.7.2	Escape del fagolisosoma	60
2.7.3	Inactivación del complemento	61
2.7.3.1	Proteínas involucradas en la evasión del complemento.	62
2.7.4	Inmunomodulación a partir de la activación de patrones de reconocimiento molecular	65
2.7.5	Activación policlonal de células B de forma inespecífica	67
2.7.6	Inmunodominancia	67
2.8	TRATAMIENTOS	68

2.8.1	Convencionales	68
2.8.1.1	Benzonidazol	68
2.8.1.2	Nifurtimox	70
2.8.2	Perspectiva de medicamentos	71
2.8.2.1	Itraconazol	71
2.8.2.2	Amiodarona	71
2.8.2.3	Alopurinol	72
2.8.2.4	Fexinidazol	72
2.8.3	Esquema terapéutico	73
2.8.4	Intervención en el metabolismo del parásito	74
2.8.4.1	Bloqueo de la proteína Cruzipaina	74
2.8.4.2	Inducción de estrés	75
2.8.4.3	Inhibición de metabolismo de pirofosfatos	75
2.8.5	Resincronización cardíaca	75
2.8.6	Vacunas contra Trypanosoma cruzi	76
3.	DISEÑO METODOLÓGICO	79
3.1	TIPO DE INVESTIGACIÓN	79
3.2	UNIVERSO	79
3.3	POBLACIÓN	79
3.4	MUESTRA	80
3.5	CRITERIOS	80
3.5.1	Criterios de inclusión	80
3.5.2	Criterios de exclusión	80
3.6	PROCEDIMIENTOS	80

3.6.1	Obtención de la información	81
3.6.2	Análisis de la información	81
4.	RESULTADOS	82
4.1	TIPO DE DOCUMENTOS	82
4.2	AÑO DE PUBLICACIÓN	83
4.3	PAÍS DE PUBLICACIÓN	83
4.4	IDIOMA DE PUBLICACIÓN	84
4.5	TEMA DE LOS DOCUMENTOS	85
4.6	MECANISMOS DE EVASIÓN INMUNE	86
4.7	TRATAMIENTOS UTILIZADOS	86
4.7.1	Tratamientos convencionales	86
4.7.2	Perspectivas terapéuticas	87
4.7.3	Tipos de Vacunas	88
4.8	TRATAMIENTO Y PERSPECTIVAS FRENTE A LA EVASION DEL SISTEMA INMUNE	88
4.9	ALGORITMOS DIAGNÓSTICOS BASADOS EN LA LITERATURA	89
4.9.1	Transmisión vectorial	90
4.9.2	Transmisión pos-transfusional	91
4.9.3	Transmisión congénita	92
4.9.4	Transmisión en paciente inmunosuprimido	93
4.9.5	Transmisión Oral	95
4.9.6	Transmisión por accidente en el laboratorio	96
4.10	ALGORITMO TERAPÉUTICO BASADO EN LA LITERATURA	98
4.10.1	Fase Aguda	98

4.10.2	Fase indeterminada y crónica	99
5.	DISCUSIÓN	101
6.	CONCLUSIONES	110
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Vías de transmisión de <i>Trypanosoma cruzi</i> (2).	32
Tabla 2. Brotes de la enfermedad de Chagas en Colombia 2017(43).	35
Tabla 3. Tasas estimadas de transmisión del <i>Trypanosoma cruzi</i> al hombre, como porcentaje de la incidencia total.	36
Tabla 4. Sensibilidad de los diferentes métodos para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas (35).	44
Tabla 5. Valor límite de linfocitos CD4 para iniciar tratamiento antichagásico según grupo etario.	73

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Cuadro taxonómico de <i>Trypanosoma</i> .	24
Figura 2. Organelos del tripomastigote de <i>Trypanosoma cruzi</i> (32). Editada por los autores	25
Figura 3. Organelos del Amastigote de <i>Trypanosoma cruzi</i> (32). Editada por los autores.	26
Figura 4. Organelos del Epimastigote de <i>Trypanosoma cruzi</i> (32). Editado por los autores	27
Figura 5. Estadios ninfales del vector <i>Rhodnius prolixus</i> desde huevo (1 ^o) hasta la hembra adulta (5 ^o) (34).	28
Figura 6. Distribución de los géneros <i>Rhodnius</i> y <i>Triatoma</i> en Colombia, en café lugares donde cohabitan simultáneamente <i>Rhodnius</i> y <i>Triatoma</i> , en verde presencia exclusiva del género <i>Rhodnius</i> y en azul presencia de <i>Triatoma</i> únicamente(35)	29
Figura 7. Ciclo de vida de <i>Trypanosoma cruzi</i> , del numeral 1 al 6 transformación del tripomastigote en epimastigote en el intestino del vector triatómino, del numeral 7 al 13 invasión celular del hospedero humano o mamífero y liberación de los tripomastigotes al torrente sanguíneo. (32).	30
Figura 8. Distribución geográfica de la enfermedad de Chagas. Zonas endémicas en gris y antropozoonóticas en blanco(41).	34
Figura 9. Semanas epidemiológicas SIVIGILA hasta la semana 9 de 2017, línea roja, en contraste con todos los casos presentados en el año 2016, línea gris.	35
Figura 10. Tripomastigotes metacíclicos de <i>T. cruzi</i> (A) frotis de sangre periférica, (B) Gota gruesa, coloración Giemsa en objetivo 100X.	37

Figura 11. Métodos de concentración (A) Microhematocrito centrifugado, detección de Tripomastigotes metacíclicos en leucocitos y plaquetas, (B) Strout, sangre total centrifugada para la detección de Tripomastigotes metacíclicos en sobrenadante.	38
Figura 12. Xenodiagnóstico para hallar formas tripomastigotes metacíclicos de <i>T. cruzi</i> . Imagen de la izquierda muestra un triatoma succionando sangre de paciente con probable caso de infección por <i>T. cruzi</i> , en la imagen de la derecha se observan las heces del triatómino con presencia de tripomastigotes.	39
Figura 13. Hemocultivo positivo en la imagen de la izquierda y tripomastigotes metacíclicos con tinción de Giemsa en objetivo 100X de <i>T. cruzi</i> en la imagen de la derecha.	39
Figura 14. PCR para <i>T. cruzi</i> . Patrón de peso molecular (carril 1), control positivo (carril 2), muestra DNA (carril 3), control negativo (carril 4)	40
Figura 15. Resultado de una IFI positiva mediante fluorescencia para <i>T. cruzi</i>	41
Figura 16. Técnica ELISA. Pocillos de color amarillo positivos para IgG anti- <i>T. cruzi</i>	42
Figura 17. Resultado positivo de una HAI para <i>T. cruzi</i> de los pozos 1 a 9, con aglutinación evidente. Pozo 10 vacío, Pozo 11 control positivo y pozo 12 control negativo.	42
Figura 18. WB con sueros positivos para Chagas. Suero positivo (tira 1), suero negativo (tira 2), marcador de peso molecular (tira 3).	43
Figura 19. Distribución de los tipos de fuente bibliográfica consultada.	82
Figura 20. Organización de fuente bibliográfica adquirida según año de publicación.	83
Figura 21. Selección de bibliografía según el país de publicación.	84
Figura 22. Distribución según el idioma de publicación.	85
Figura 23. Selección de temática del cuerpo de trabajo.	85
Figura 24. Mecanismos de evasión inmune del parásito <i>T. cruzi</i> .	86

Figura 25. Documentación según el tratamiento convencional de la enfermedad de Chagas.	87
Figura 26. Selección de la información según las perspectivas terapéuticas para la enfermedad de Chagas.	87
Figura 27. Distribución de la información según los tipos de vacuna empleados para <i>T.cruzi</i>	88
Figura 28. Evasión de la respuesta inmune relacionado con el tratamiento. ESC: Escape del fagolisosoma, EVAS: Evasión del sistema de complemento, INMUNO: Inmunoregulación, INV: Invasión, PRRs: Receptores de patrones de reconocimiento	89
Figura 29. Diagnóstico y esquema terapéutico propuesto en paciente de infección vectorial	91
Figura 30. Diagnóstico y esquema terapéutico propuesto en paciente post-transfusional	92
Figura 31. Diagnóstico propuesto en paciente congénito	93
Figura 32. Esquema diagnóstico propuesto en paciente inmunosuprimido	95
Figura 33. Diagnóstico propuesto Transmisión oral de la enfermedad de Chagas	96
Figura 34. Diagnóstico propuesto en paciente con enfermedad de Chagas por accidente en el laboratorio.	97
Figura 35. Esquema terapéutico propuesto en la fase aguda de la enfermedad de Chagas.	99
Figura 36. Esquema terapéutico propuesto en la fase crónica de la enfermedad de Chagas.	100

RESUMEN

La enfermedad de Chagas es una enfermedad causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), este circula en sangre y puede alterar la función de órganos como el corazón, colon y esófago aumentando el tamaño de los mismos. Es transmitida principalmente vía vectorial por las heces de diversos triatóminos entre ellos el *Rhodnius prolixus*. Al ser catalogada una enfermedad desatendida representa un problema de salud pública en América Latina.

T. cruzi, durante su ciclo evolutivo atraviesa por diferentes estadios: Tripomastigote, amastigote y epimastigote. Cada estadio expresa un patrón de proteínas específicas, las cuales proveerán al parásito de características propias en cuanto a biología, morfología y función que se asocian con la virulencia y la infección de este, por consiguiente la dificultad para emplear tratamientos efectivos. Además de que el parásito cuenta con diversos mecanismos de evasión que son obstáculo en la recuperación de la enfermedad. La revisión bibliográfica permitió indagar acerca de los diversos mecanismos de evasión inmune y relacionarlos con posibles perspectivas terapéuticas funcionales en contraparte con el tratamiento convencional, añadido se expone un algoritmo diagnóstico que permita la valoración oportuna de la enfermedad de acuerdo a la vía de transmisión. En ese sentido, se realizó una búsqueda de revistas científicas, libros y otras fuentes sobre los temas objeto de estudio. Se encontró como el mecanismo de evasión más reportado el del complemento por la inhibición de la porción C3, de otro modo las perspectivas terapéuticas las más prometedoras se enfocan en la inhibición del metabolismo del parásito.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*, mecanismos de evasión, perspectivas terapéuticas, Enfermedad de Chagas.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es causada por el protozoo flagelado *T. cruzi* que se transmite principalmente por vectores hematófagos triatóminos pertenecientes al orden *Hemiptera*, familia *Reduviidae* como: *Rhodnius prolixus*, *Triatoma infestans*, *Triatoma dimidiata*, *Triatoma brasiliensis*, *Panstrongylus megistus* entre otras especies de insectos. El reservorio natural lo constituyen armadillos, marsupiales, zarigüeyas, roedores, murciélagos y primates silvestres, además de mamíferos domésticos como perros, gatos, ratas o cobayas (1). Es de gran importancia en Salud Pública y se encuentra ampliamente distribuida en América latina, Estados Unidos de América, Canadá, y hoy expandida en algunos países europeos como España Italia, Reino unido y suiza y del Pacífico occidental Según el Instituto Nacional de Salud se han reportado de 700.000 a 1.200.000 casos de personas infectadas en Colombia (2).

Clínicamente, la enfermedad provoca desde afecciones del sistema circulatorio y linfático hasta del tejido cardiaco, y del sistema digestivo, llegando incluso a causar la muerte. La enfermedad se caracteriza por presentar una fase aguda corta con alta parasitemia seguida de una fase indeterminada y crónica persistente donde la parasitemia es difícil de demostrar (3).

La invasión del parásito *T. cruzi* a las células mamíferas es viable gracias a las proteínas del mismo como las transialidasas las cuales adhieren el ácido siálico de la célula a la membrana del parásito, con lo cual se activa oligopeptidasa B y se secreta cruzipaina lo que aumenta el nivel de Ca^{2+} en la célula blanco facilitando el ingreso, las proteínas de igual forma influyen en las células del sistema inmune del hospedero deprimiendo su acción, por lo que el establecimiento intracelular del parásito en el organismo implica mecanismos de evasión inmune como mimetismo celular alterando respuesta inmune tanto celular como humoral, inactivación de la vía alternativa del complemento, infección de células con poca capacidad

microbicida, evasión de la fusión fagosoma-lisosoma, escape de la vacuola fagocítica, neutralización del contenido tóxico de los lisosomas, activación policlonal de linfocitos B y modulación de la muerte celular programada (4).

El diagnóstico de Chagas se realiza dependiendo el estadio de la enfermedad, en la fase aguda, se realiza una detección directa del parásito en la sangre del paciente mediante microscopía, microhematocrito y el método de Strout. En la fase crónica, en la que el título de anticuerpos IgG anti-*T. cruzi* es elevada se emplean las técnicas serológicas como ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), IFI (inmunofluorescencia indirecta), HAI (hemaglutinación indirecta), Western blot (WB) y moleculares que incluyen PCR (reacción en cadena de polimerasa). Actualmente, para el diagnóstico de los pacientes, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la realización de dos pruebas basadas en diferentes principios y antígenos, y una tercera en caso de discordancia (5).

Dada la variabilidad antigénica del parásito se ha indagado acerca de diversos métodos terapéuticos, desde 1960 – 1970 se estableció: el nifurtimox que actúa a través de la producción de radicales libres que originan derivados tóxicos del oxígeno y el benznidazol el cual actúa a través de la unión covalente de los intermediarios de nitroreducción de las moléculas parasitarias (6); es baja la descripción en cuanto a nuevos fármacos y vacunas empleadas en la enfermedad de Chagas por lo que se pretende con la presente monografía ahondar en los mecanismos de resistencia y nuevas perspectivas terapéuticas para la enfermedad de Chagas.

OBJETIVOS

GENERAL

Determinar la información relevante sobre los mecanismos de evasión de la respuesta inmune por parte del parásito *Trypanosoma cruzi*, así como llevando a cabo la identificación y análisis de las diferentes perspectivas terapéuticas para la enfermedad de Chagas.

ESPECÍFICOS

- Revisar fuentes bibliográficas referentes a los mecanismos de evasión inmune del parásito *Trypanosoma cruzi*
- Identificar las perspectivas farmacológicas para el tratamiento anti Chagásico.
- Presentar un posible algoritmo terapéutico teniendo en cuenta lo disponible en el mercado y los diferentes mecanismos de evasión del microorganismo encontrados en la revisión realizada.

1. ANTECEDENTES

En 1909, el médico investigador brasileño Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas (1879-1934) encontró un nuevo parásito al que denominó *Trypanosoma cruzi* causal de la Tripanosomiasis americana mientras trabajaba en el instituto Oswaldo Cruz de Río de Janeiro.

El ingeniero Cantarino Mota y el médico Belisario Perina, hacen conocer a Chagas sobre la existencia de los entonces llamados “barbeiros”, insectos triatóminos hematófagos que colonizaban las viviendas y se nutrían de animales y humanos mientras dormían (7); mecanismo principal de transmisión del triatómino (picadura e infección por posterior deyección) descubierto por Brumpt en 1913 (8). Al examinar el contenido intestinal de estos insectos con ayuda del Doctor Oswaldo Cruz, encuentran los parásitos flagelados con caracteres morfológicos de crithidas con lo que se define al *Trypanosoma cruzi* como agente etiológico de la enfermedad (1).

Los estudios de la sintomatología típica inician una vez G. Vianna en 1911(9), describe las alteraciones cardíacas y formas tisulares de *Trypanosoma cruzi* en los casos de Chagas crónico. En 1935 C. Romaña describe el “signo del ojo” causado si la vía de entrada es la oftálmica, por ello se describe como un complejo oftalmoganglionar característico de la fase aguda de la enfermedad (10) como el Chagoma si la vía de entrada del parásito es la piel.

La enfermedad de Chagas es descrita en diferentes países, en Venezuela para el año 1919 Enrique Tejera fue el primero en describir el Mal de Chagas y en estudiar a *Rhodnius prolixus*, su principal transmisor después de *Triatoma infestans* (11). Para este mismo año, Escamel describió el primer caso en Perú (12). En 1927 Salvador Mazza describe un caso agudo en Argentina y para 1928 fundó la Misión de Estudios de Patología Regional Argentina (MEPRA) destinada al estudio y la

lucha contra la enfermedad (13) En Chile el primer caso se describió en 1937 (14), después se encontraron alteraciones electrocardiográficas en individuos infectados crónicamente en 1947 (1) En el año 1938 Mazzotti describe el mal Chagas en México en la localidad de Oaxaca (7).

Debido a la importancia de la patología los estudios inmunológicos y terapéuticos crecen cada día más, en el año 1983 Titto (15) se describe los mecanismos de invasión celular por parte del parásito, sin embargo para la fecha se desconocían otros procesos como la formación de vacuolas de membrana unidas al parásito y a precisión como este evita el fagosoma y se desplaza a matriz citoplasmática transformándose en amastigote o el cómo se activa la sensibilización de linfocitos T llevada a cabo por la serie monocito- macrófago los cuales empiezan a ser descritos para el año 1987.(4)

A partir de este año, se conoce la supervivencia y multiplicación del parásito intracelularmente por la cual escapa de la vacuola fagocítica y se libera el contenido tóxico de los lisosomas el cual también es capaz de neutralizar o evitar su unión con el fagosoma. Además *Trypanosoma cruzi* mediante la interacción con los linfocitos tanto T como B PMN y NK puede inducir inmunosupresión o inmunodepresión al reducir el número de anticuerpos frente a los antígenos (16).

En 1970 Globe inicia los estudios que comprenden la inmunidad celular de la tripanosomiasis Americana (17) la cual describe la interacción con las células presentadoras de antígeno (CPA) lo epitopes antigénicos son presentados al complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) I o II a los linfocitos CD4+ o CD8+ para la regulación y activación de las diferentes quimiocinas (18).

A partir del año 1997 (19) se refiere la detección de anticuerpos específicos o la determinación de la prevalencia de las inmunoglobulinas IgG, IgM las cuales darían entonces el conocimiento de una respuesta humoral específica, sin embargo el

polimorfismo de la respuesta por anticuerpos anti- *Trypanosoma cruzi* dificulta conocer los determinantes antigénicos dependientes del estadio de la enfermedad que reconoce el parásito así como la variabilidad funcional de las inmunoglobulinas. Los primeros anticuerpos en ser descritos son los responsables de la aglutinación directa y la inmunofluorescencia indirecta seguido de los fijadores de complemento.

El estudio de la respuesta inmune de este parásito cobra relevancia al momento de realizar una vacuna o inmunoterapia que controle de manera pertinente y precisa la expansión y transmisión continua de la enfermedad (20). Sin embargo, debido a la variabilidad antigénica y diversidad de mecanismos de evasión demuestra una complejidad biológica que complica la posibilidad de crear una vacuna eficaz.

En 1937, Salvador Maza empleo la amino quinolina 7602 proveniente del laboratorio BAYER de Alemania que aunque por su acción supresora era útil para combatir la fase aguda no resulto curativa (21), es entonces cuando en 1943 el laboratorio IMPERIAL CHEMICAL INDUSTRIES (I.C.I.) produjo la droga M3024 o CRUZON la cual resulto satisfactoria en las formas cardiacas y meningoencefalitis de la fase aguda de Chagas, pero tampoco resulto ser curativa (22). Por lo que a partir de 1965 la casa BAYER crea el BAY 2502 (Nifurtimox) y Laboratorio ROCHE, la Ro 1051 (Benzonidazol) las cuales se emplean en la actualidad debido a su eficacia tripanocida descrita desde 1969 (23). Sin embargo hay quienes aseguran que el tratamiento es solo efectivo para la fase aguda de la enfermedad, o para curar la enfermedad crónica reciente en niños y adolescentes (24) en la fase crónica de la enfermedad, Itraconazol ha demostrado ser un tratamiento útil en la fase crónica ya que previene el desarrollo de anormalidades de la electrocardiografía (ECG), al igual que Alopurinol (25).

Al 2018, no existe vacuna alguna contra la enfermedad, sin embargo Malchiodi E. mediante ingeniería genética diseña una molécula quimérica (Traspaina) que combina tres antígenos del parásito que produce la enfermedad: Transialidasa,

Cruzipaina y una parte de ASP2 (26) la cual promueve la producción de LT CD4+ y potencia la efectividad de LT CD8+ (27).

La efectividad o no del tratamiento será comprobada mediante la erradicación de la parasitosis, es por esto, que antes y después del tratamiento se recomienda la realización rutinaria de exámenes parasitológicos (28) sin embargo la eliminación del insecto vector sería en realidad el tratamiento eficaz a la enfermedad (29).

2. MARCO TEÓRICO

2.1 ENFERMEDAD DE CHAGAS

2.1.1 *Agente etiológico*

El agente etiológico de la enfermedad de Chagas es el *Trypanosoma*, perteneciente al orden *Cinetoplástida*, familia *Trypanosomatidae*, reino *Eukaryota*, clase *Euglenozoa*, género *Trypanosoma*, subgénero *Schizotrypanum*, contando con seis especies diferentes, *Trypanosoma vivax*, *Trypanosoma rangeli*, *Trypanosoma evansi*, *Trypanosoma equiperdum*, *Trypanosoma brucei*, y *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*) (Figura 1) ,estas dos últimas son la únicas infectivas para el hombre causando la Enfermedad del sueño o Tripanosomiasis Africana y la Enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana en su orden.

El género *Trypanosoma* se caracteriza por utilizar dos huéspedes, uno vertebrado y otro invertebrado, para completar su ciclo de vida, sin embargo es propio de *T. cruzi* la invasión y multiplicación dentro de las células del hospedero invertebrado ya que *T. brucei* vive y se replica en torrente sanguíneo, los vectores de transmisión y vía de entrada también son diferentes, *T. cruzi* es transmitido por los vectores de la familia *Reduviidae* y el parásito es depositado in situ para posteriormente ser arrastrado tras la defecación de este mismo vector, *T. brucei* por su parte se inocula mediante la picadura de la mosca perteneciente al género *Glossina* conocida como mosca tse-tse (5)(30).

Trypanosoma se caracteriza por poseer un orgánulo particular denominado cinetoplasto que es DNA extracelular mitocondrial, compuesto de 5.000 a 20.000 mini círculos de 100 a 2500 pb los cuales codifican para ARNs pequeños que participan en el procesamiento de ARNs mensajeros mitocondriales y 50 copias por

red de maxicirculos de 30.000 a 50.000 pb estos codifican por ARNs de proteínas, ARNs ribosomales y de transferencia mitocondrial (31).

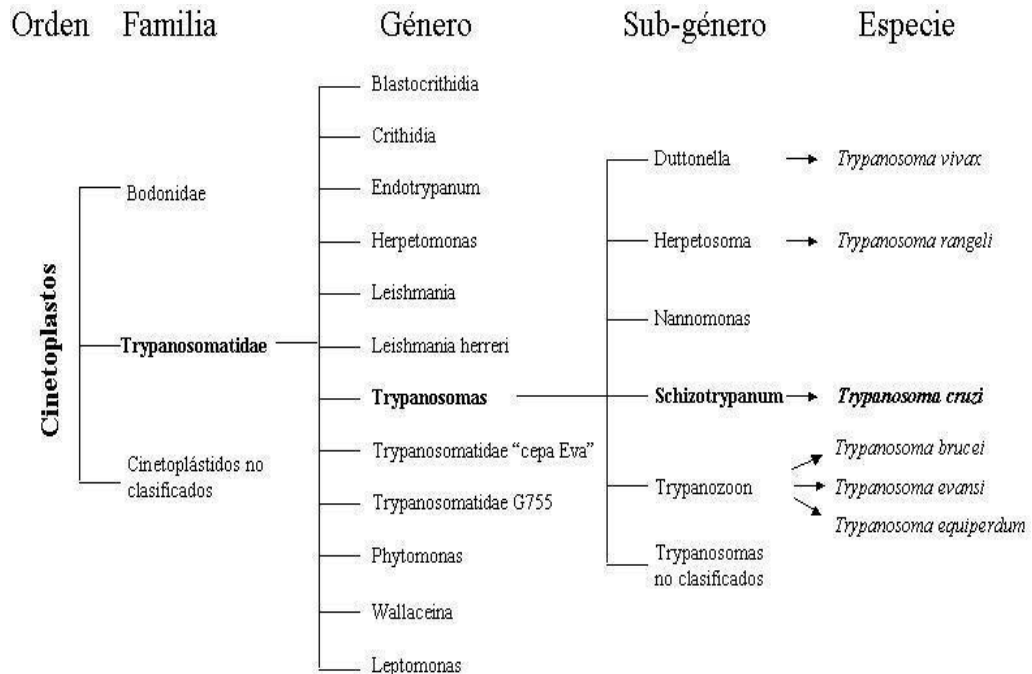


Figura 1. Cuadro taxonómico de *Trypanosoma*.

El *Trypanosoma cruzi* debido a su diversidad genética se ha clasificado en dos grandes grupos, *Trypanosoma cruzi I* y *Trypanosoma cruzi II* (30)

Este protozoo presenta cuatro fases evolutivas; amastigote, tripomastigote sanguíneo, tripomastigote metacíclico, y epimastigote; se distinguen morfológicamente entre sí por la posición del cinetoplasto y la presencia o ausencia de una membrana ondulante.

En el vertebrado el parásito presenta dos fases de desarrollo:

- Tripomastigote sanguíneo: Circulante en sangre, es la forma que infecta al vector a partir del hombre, tiene forma fusiforme y mide 12 a 30 µm,

incluyendo el flagelo el cual sale del extremo posterior y se dobla hacia delante a lo largo del cuerpo del parásito, formando una membrana ondulante a lo largo de todo el parásito y emerge en forma libre en su extremo anterior, presenta un gran núcleo central, con un cinetoplasto grande de ubicación subterminal en el extremo posterior (2) (Figura 2).

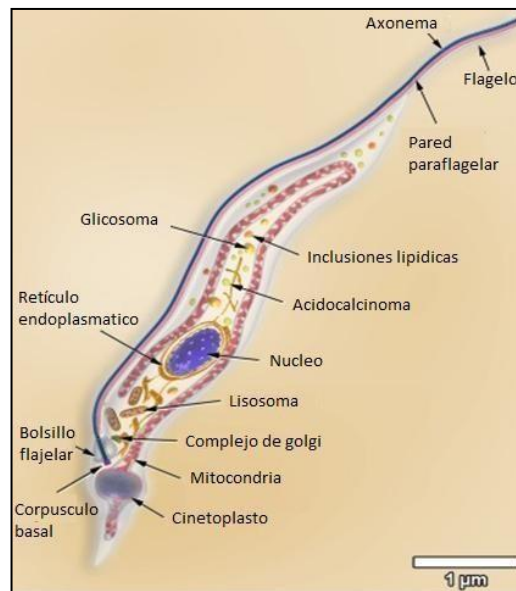


Figura 2. Organelos del tripomastigote de *Trypanosoma cruzi* (32). Editada por los autores

- Amastigote: Es intracelular, vegetativo, es redondeado u ovoide carece de flagelo y de membrana ondulante, mide 1.5 - 4.0 μm . En él pueden apreciarse el núcleo y el cinetoplasto, que forman nidos titulares o pseudoquistes intracelulares (2) (Figura 3).

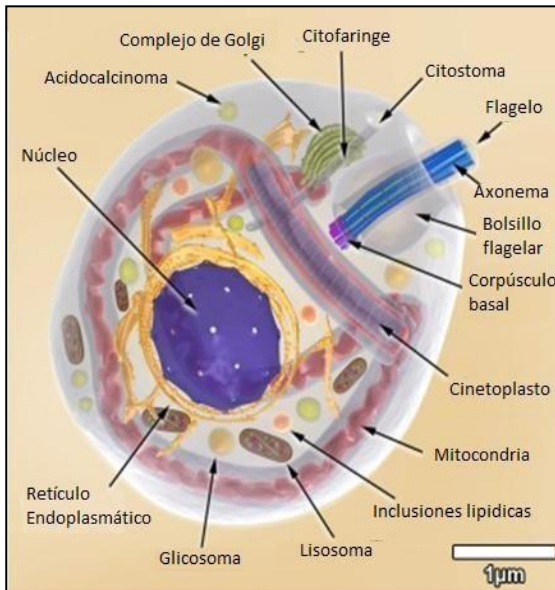


Figura 3. Organelos del Amastigote de *Trypanosoma cruzi* (32). Editada por los autores.

En el invertebrado el parásito presenta dos formas de desarrollo:

- Epimastigote: Observable en cultivos y sangre periférica, el cinetoplasto se encuentra localizado en la parte media del organismo delante del núcleo. Posee flagelo el cual emerge de la parte media del parásito y forma una membrana ondulante más pequeña que la observada en el tripomastigote (30). (Figura 4).

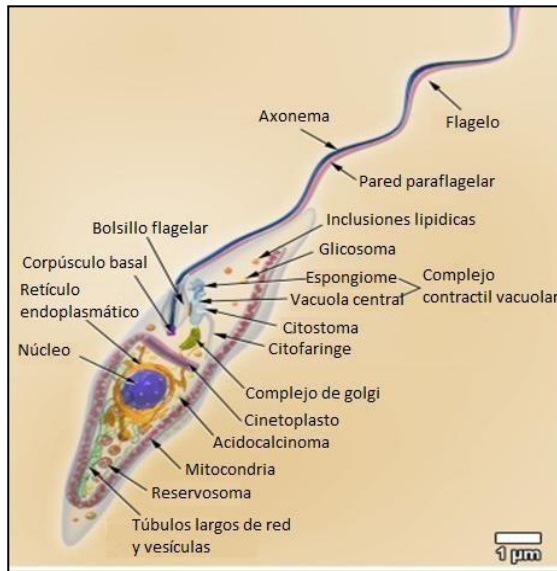


Figura 4. Organelos del Epimastigote de *Trypanosoma cruzi* (32). Editado por los autores

- Tripomastigote metacíclico: Formas muy similares a los tripomastigotes sanguíneos, pero más cortos, finos y activos, no tienen capacidad reproductiva. Se eliminan en las heces de los triatóminos y son la forma infectante a partir del vector (10).

2.1.2 Vector

Los vectores de *Trypanosoma cruzi*, conocidos en Colombia con el nombre popular de “pitos”, son insectos hematófagos de la familia *Reduviidae*, subfamilia *Triatominae*, orden *Hemipteros*, la especie más ampliamente encontrada en domicilios donde pueden alcanzar altas densidades de población en grietas y ranuras donde se encuentre una temperatura de 16 y 28 °C es el *Rhodnius prolixus*, sin ignorar la existencia de otras especies representativas como *Triatoma dimidiata*, *Triatoma maculata*, *Triatoma infestans* y *Panstrongylus geniculatus* (33).

Estos triatóminos se desarrollan mediante metamorfosis incompleta, que comprende la fase de huevo y pasa por cinco estadios ninfales hasta llegar a adulto (Figura 5) (31). Todos los estadios tanto hembras como machos son hematófagos estrictos (se alimentan habitualmente en la noche) y por tanto son susceptibles de infectarse con *Trypanosoma cruzi* (2). Durante la picadura defecan en la piel del hospedero allí se encuentran los tripomastigotes metacíclicos, que penetran por rascado o frotamiento del mismo hospedero.

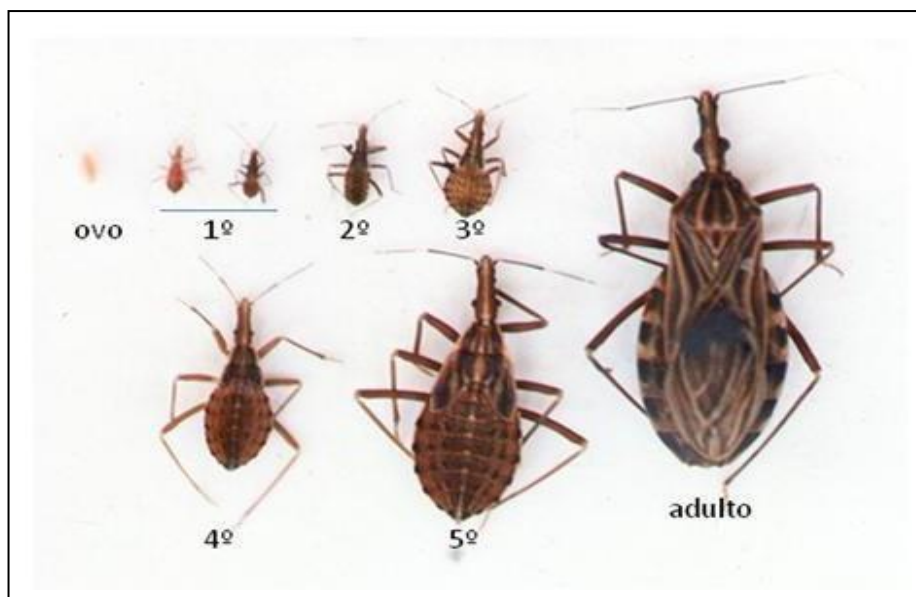


Figura 5. Estadios ninfales del vector *Rhodnius prolixus* desde huevo (1º) hasta la hembra adulta (5º) (34).

La regulación natural de los triatóminos mediada a nivel primario por la interacción con los huéspedes vertebrados donde el insecto se verá obligado a succionar cantidades reducidas de sangre si la población crece y deben alimentarse de un número fijo de huéspedes, por lo que la defecación será más tardía y no será un vector eficiente del *Trypanosoma cruzi*. Sin embargo esta regulación no limita la transmisión del parásito en Colombia, la enfermedad es transmitida en las diferentes regiones debido en primera instancia a los vectores (Figura 6) (35)

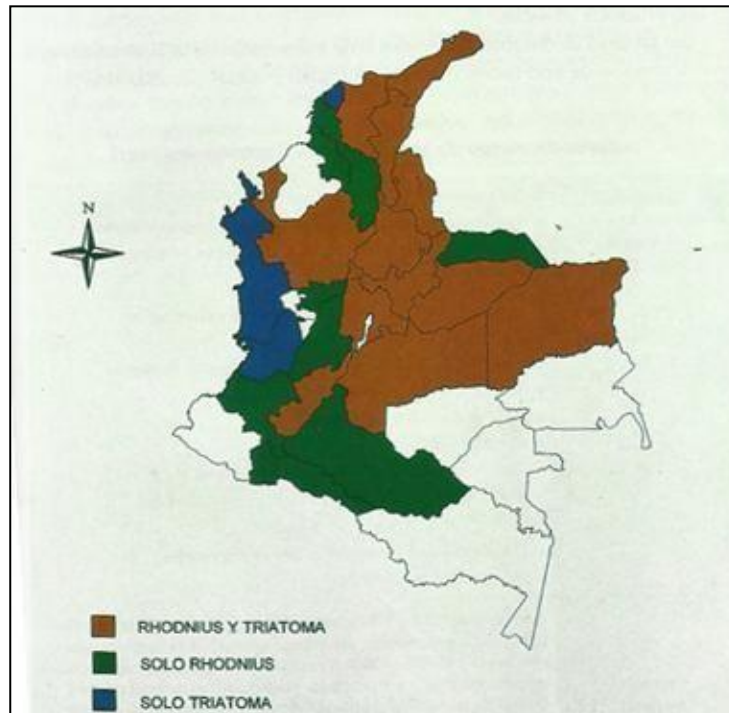


Figura 6. Distribución de los géneros *Rhodnius* y *Triatoma* en Colombia, en café lugares donde cohabitan simultáneamente *Rhodnius* y *Triatoma*, en verde presencia exclusiva del género *Rhodnius* y en azul presencia de *Triatoma* únicamente(35)

2.1.3 Ciclo de vida

En el orden kinetoplastida, *Trypanosoma cruzi* tiene uno de los ciclos de vida más complejos, en el insecto y en el humano(5) (Figura 7).

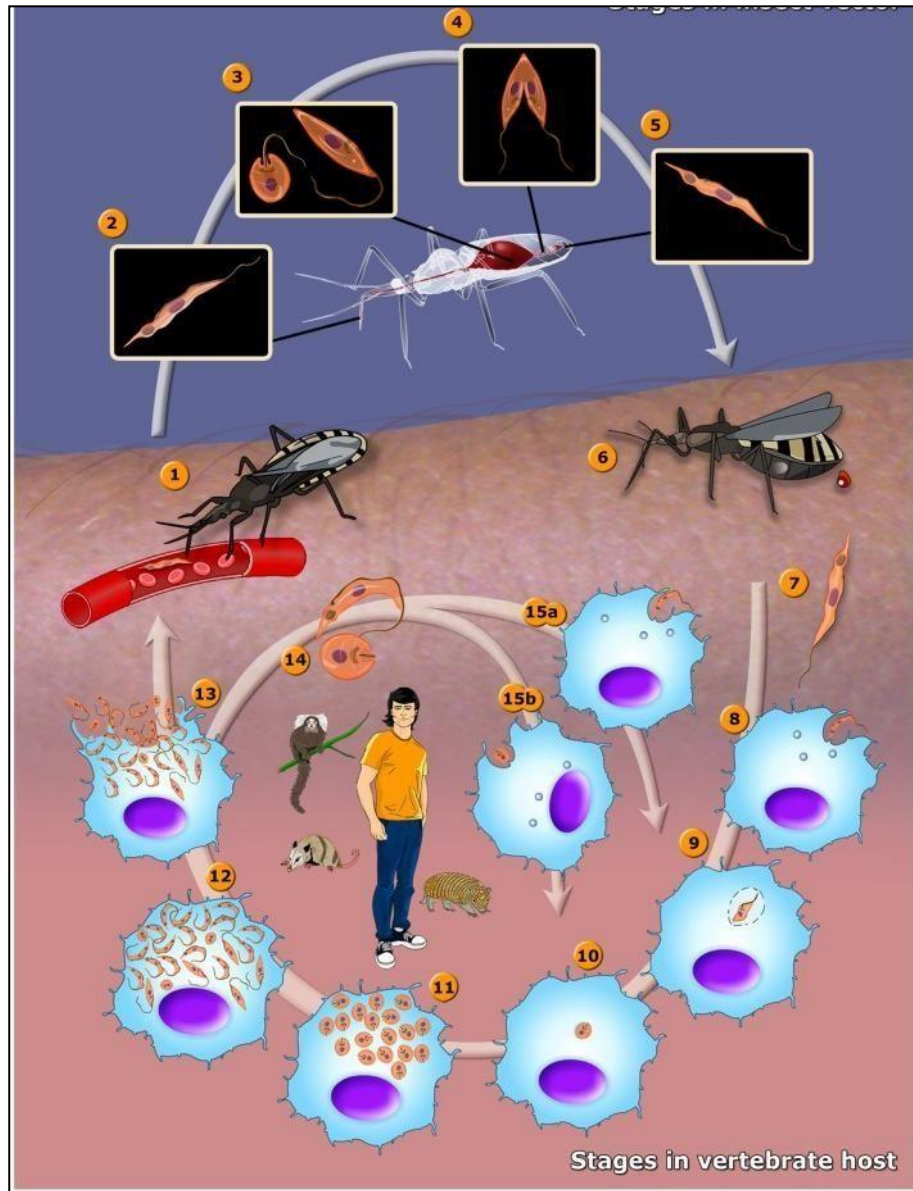


Figura 7. Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*, del numeral 1 al 6 transformación del tripomastigote en epimastigote en el intestino del vector triatómino, del numeral 7 al 13 invasión celular del hospedero humano o mamífero y liberación de los tripomastigotes al torrente sanguíneo. (32).

- Insecto: El ciclo se inicia cuando un insecto hematófago (hembra o macho) pica a un ser humano ingiriendo los tripomastigotes localizados en sangre (estadio diagnóstico), el parásito viaja a través del estómago del insecto y al llegar al intestino se transforman en epimastigotes, que se replica mediante

fisión binaria y pasadas alrededor de 2 semanas pasan al recto, allí se convierten en tripomastigotes metacíclicos (forma infectante) los cuales son evacuados a través de las heces logrando infectar a un nuevo huésped (36).

- Humano: Ingresa a través de la picadura, el tripomastigote metacíclico proveniente de las heces del insecto ya sea una herida o por las membranas mucosas. Infecta a los macrófagos, transformándose en amastigotes y replicándose intracelularmente, luego se libera de la vacuola parasitófora (Pseudoquiste) y se multiplica en el citoplasma de las células hasta convertirse en tripomastigote sanguíneo, que va a generar la ruptura celular y consecuente liberación de dichos tripomastigotes que infectarán otros tejidos(36).

La transmisión del parásito a través del vector se lleva a cabo en tres ciclos: Doméstico, el cual involucra la presencia del insecto en áreas rurales y suburbanas. Peridoméstico donde el triatómino se encuentra en las periferias de los asentamientos humanos. Selvático, que se refiere a la transmisión exclusiva a los reservorios silvestres alejados de la población humana (37). Anteriormente, se conocía la infección por *Trypanosoma cruzi* como una enfermedad que no involucraba el contagio hacia el ser humano, sin embargo, posteriormente se empezaron a presentar alteraciones ecológicas que promovieron la migración y adaptación de los triatóminos a zonas domésticas, lo que contribuyó a la aparición de la enfermedad de Chagas y su consecuente importancia como enfermedad de salud pública y zoonosis. Los reservorios que contribuyen como huéspedes del parásito son exclusivamente mamíferos, principalmente de mediano y pequeño tamaño, reconociéndose alrededor de 150 especies involucradas, entre las que se encuentran perros, gatos y roedores para la zona doméstica y peridoméstica, y armadillos y comadrejas para la zona selvática (38).

2.1.4 Vías de transmisión

Trypanosoma cruzi puede invadir al huésped a través de diferentes mecanismos, el principal de estos es vía vectorial, producida por la deposición de las heces del triatómino y posterior ingreso del parásito que penetra por rascado, por el orificio de la picadura, heridas o mucosas. Sin embargo existen otras vías de transmisión como sanguínea, transplacentaria, oral o infección accidental en el laboratorio (Tabla 1).

Tabla 1. Vías de transmisión de *Trypanosoma cruzi* (2).

Vía de transmisión*	Descripción
Vectorial	Picadura de un triatómino infectado con tripomastigotes metacíclicos los cuales circularan en sangre
Sanguínea y trasplante de órganos	Presencia de tripomastigotes vivos e infectantes en la sangre de donantes provenientes de zonas endémicas.
Congénita	Principal mecanismo de transmisión vertical puede ocurrir en cualquier fase de la enfermedad materna: aguda o crónica. Existe la posibilidad de infección del hijo por la leche de madre que padece la enfermedad de Chagas.
Oral	Ingestión de alimentos o bebidas contaminadas con las heces de los triatóminos infectados con el parásito, utensilios de cocina contaminados o por alimentos mal cocidos de animales infectados.
Laboratorio	Infección accidental por manipulación de triatóminos y animales infectados, cultivos de <i>Trypanosoma cruzi</i> , o punción con material contaminado.

2.1.5 Manifestaciones clínicas

2.1.5.1 Fase aguda

* Las vías de transmisión son presentadas en orden de frecuencia aun así se debe tener precaución con cada una de ellas

En la enfermedad de Chagas se distinguen fases diferenciadas en el diagnóstico clínico. La enfermedad se inicia con una fase aguda tras la infección del parásito donde pueden producirse manifestaciones clínicas típicas como el signo de Romaña si la penetración se produce vía conjuntiva o el Chagoma si su puerta de entrada de la infección es a través de la piel, el 95% de los casos son asintomáticos. En los casos sintomáticos restantes cursa con sintomatología leve como fiebre, malestar general, dolor de cabeza, miocarditis e inapetencia por lo que con frecuencia la enfermedad no es detectada en esta fase (1-2%)(30), tiene una corta duración de 20-30 días registrando altos niveles de parasitemia en sangre del paciente, permitiendo así la detección de tripomastigotes por examen microscópico directo(39).

2.1.5.2 Fase indeterminada y Fase crónica

Puede presentarse una fase crónica indeterminada o latente (98 %), que inicia ocho a 10 semanas luego de la fase aguda sin manifestaciones clínicas pudiendo durar varios años o indeterminadamente, el diagnóstico en esta fase se realiza mediante detección de anticuerpos o ADN parasitario mediante PCR, mediante serología positiva (anticuerpos IgG) en dos pruebas serológicas de principio diferente, en ausencia de manifestaciones clínicas, de hallazgos electrocardiográficos compatibles con cardiopatía Chagásica crónica y con estudios radiográficos de tórax y digestivos normales. Progresar hacia la fase crónica determinada (2%) distinguida por una baja parasitemia donde comienzan a aparecer las afectaciones orgánicas características como la cardiopatía Chagásica cuyas consecuencias clínicas más importantes son la insuficiencia cardíaca, arritmias cardíacas y tromboembolia, los síntomas digestivos: megacolon, megaesófago estas pueden llegar a aparecer hasta 10 años después del primer contacto con el parásito(40).

2.2 EPIDEMIOLOGÍA

La enfermedad de Chagas se distribuye desde el norte de México y Sudamérica hasta Argentina y Chile en el sur, afectando un total de 21 países (Figura 8) (41).



Figura 8. Distribución geográfica de la enfermedad de Chagas. Zonas endémicas en gris y antrozoónicas en blanco(41).

Refiriéndonos a América afecta a veinte millones de personas, con una población en riesgo cercana a 100 millones. En Colombia hay aproximadamente 700.000 a 1.200.000 habitantes infectados y 8.000.000 individuos en riesgo de adquirir la infección (42). A la fecha, han ingresado al SIVIGILA 76 casos, cuatro en fase aguda (cuatro probables según signos y síntomas de la enfermedad de Chagas) y 72 casos en fase crónica (57 probables y 15 confirmados) (Figura 9).

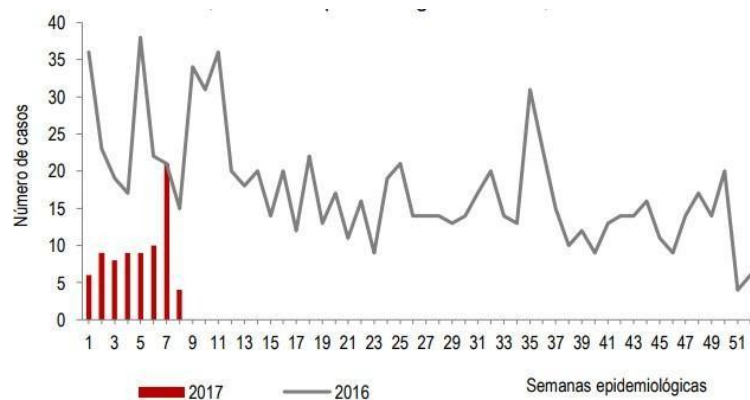


Figura 9. Semanas epidemiológicas SIVIGILA hasta la semana 9 de 2017, línea roja, en contraste con todos los casos presentados en el año 2016, línea gris.

Además, el SIVIGILA reporta en Cundinamarca el número de casos positivos para esta región de interés y otros departamentos con mayor endemia enunciados en la Tabla 2 (43).

Tabla 2. Brotes de la enfermedad de Chagas en Colombia 2017*(43).

Departamento	Probables	Confirmados	Total
Casanare	22	3	25
Boyacá	15	1	16
Santander	10	1	11
Cesar	2	5	7
Sucre	2	0	2
Arauca	1	1	1
Guaviare	0	2	2
Cundinamarca	2	0	2
Meta	2	0	2
Cauca	1	0	1
Bogotá	0	1	1
Nariño	1	0	1

* Casos probables y positivos de la enfermedad de Chagas en fase crónica en Colombia por entidad territorial, semanas epidemiológicas 01 – 08, 2017.

Total	58	14	72
--------------	----	----	----

Esta enfermedad parasitaria conlleva un impacto social y económico de relevancia, se relaciona la infección con el parásito *Trypanosoma cruzi* cuyo ciclo debería permanecer selvático, sin embargo la intromisión del hombre a la selva ha introducido un ciclo peri- doméstico, donde la transmisión por vector es la más común pudiendo resaltar ciertas especies de triatóminos como *Rhodnius prolixus* y *Triatoma infestans* aunque se conocen otros varios métodos de transmisión (Tabla 3) (44).

Tabla 3. Tasas estimadas de transmisión del *Trypanosoma cruzi* al hombre, como porcentaje de la incidencia total.

Tipo de transmisión	Porcentaje
Transmisión por vector	>80%
Transmisión por transfusión de sangre de donante infectado	16%
Transmisión congénita de madre infectada al feto	<2%
Otras rutas (Oral, trasplante de órganos, accidente en el laboratorio, manipulación de animales infectados)	1%

Gracias a las autoridades sanitarias correspondientes que realizan intervenciones de control que interrumpen la transmisión especialmente por triatóminos teniendo en cuenta estimativos de incidencia se ha observado una disminución cercana al 70%, sin embargo continua siendo un problema de salud pública debido a la dificultad de acceso al diagnóstico, la calidad y cobertura de atención de la fase crónica de la enfermedad (45).

2.3 DIAGNÓSTICO

El método diagnóstico a realizar depende de la fase en que se encuentra la enfermedad; En la aguda, las pruebas están orientadas a detectar la presencia del parásito en la sangre ya que en esta fase la cantidad de parásitos circulantes es alta.

2.3.1 Métodos directos

El examen directo de sangre fresca obtenida por punción con lanceta y observada en 100x con aceite de inmersión al microscopio se coloca entre lamina y laminilla en busca de los tripomastigotes metacíclicos (forma infectante) en movimiento.

En Gota gruesa y extendido de sangre periférica teñidos con Giemsa, o cualquier coloración que mantenga el principio de la tinción con Romanovsky, se buscan al microscopio en objetivo 100x con aceite de inmersión tripomastigotes metacíclicos fijados con sus estructuras características: Forma alargada o en de C o S, presencia de núcleo y cinetoplasto, flagelo y membrana ondulante (2), (Figura 10) (46).

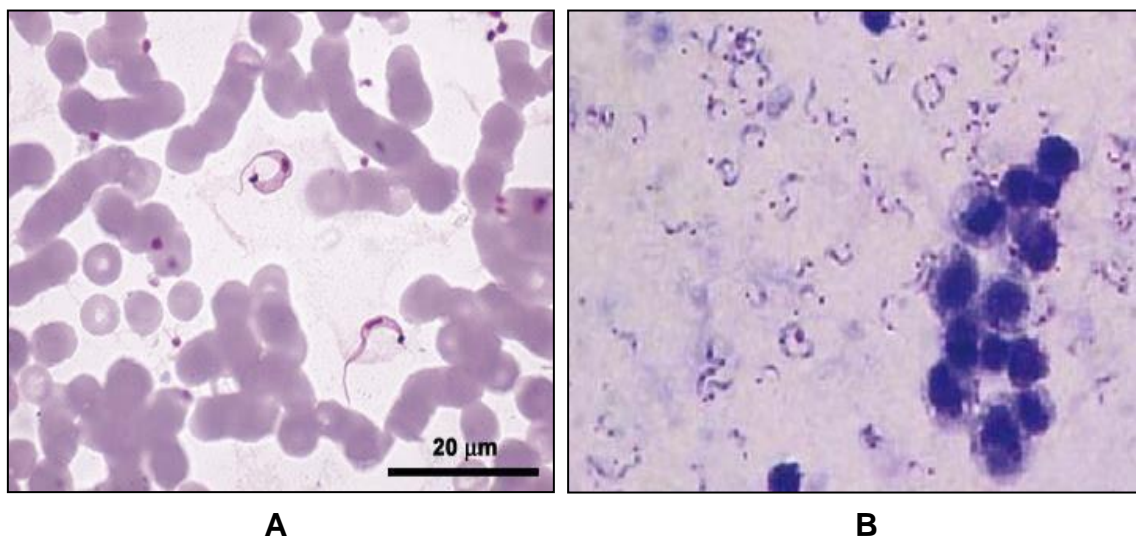


Figura 10. Tripomastigotes metacíclicos de *T. cruzi* (A) frotis de sangre periférica, (B) Gota gruesa, coloración Giemsa en objetivo 100X.

Dentro de los métodos de concentración se encuentra el microhematocrito y el método de Strout, para el primero se realiza una separación de los componentes de la sangre por centrifugación en capilares heparinizados encontrando los tripanosomas móviles en la interface entre los glóbulos blancos y el plasma bajo examen microscópico en objetivo de 10X de aumento y luego con el objetivo de 40X. El segundo método consiste en la concentración de los parásitos en la muestra sanguínea por centrifugación y examen del sedimento al microscopio en busca de tripomastigotes móviles de *Trypanosoma cruzi* con objetivos de 10X y 40X de aumento (35)(47) · (Figura 11) (48).

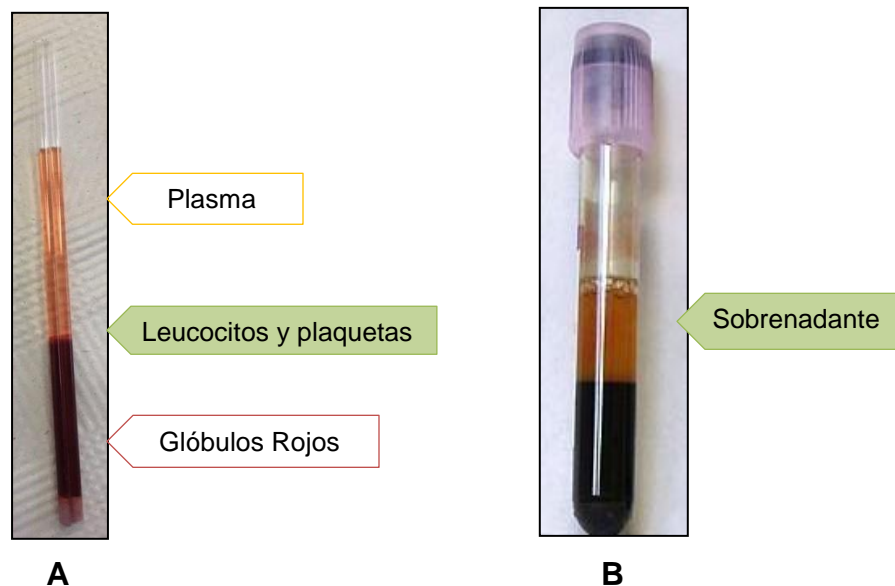


Figura 11. Métodos de concentración (A) Microhematocrito centrifugado, detección de Tripomastigotes metacíclicos en leucocitos y plaquetas, (B) Strout, sangre total centrifugada para la detección de Tripomastigotes metacíclicos en sobrenadante.

2.3.2 Métodos indirectos.

Para el Xenodiagnóstico es preciso contar con triatóminos libres de infección en los cuales se buscaran formas tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi* bajo el

microscopio producto de las deyecciones del triatómino luego de treinta a sesenta días de haberse alimentado con sangre de pacientes (Figura 12) (49).

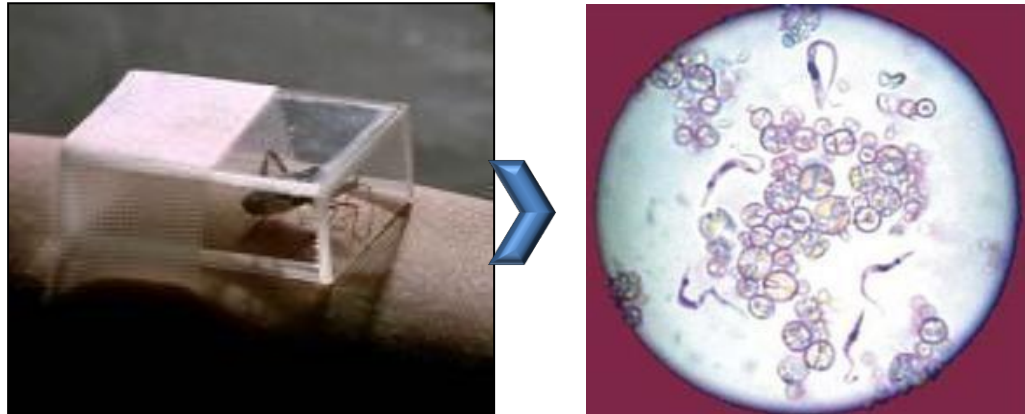


Figura 12. Xenodiagnóstico para hallar formas tripomastigotes metacíclicos de *T. cruzi*. Imagen de la izquierda muestra un triatoma succionando sangre de paciente con probable caso de infección por *T. cruzi*, en la imagen de la derecha se observan las heces del triatómino con presencia de tripomastigotes.

El hemocultivo por su parte consiste en la amplificación de parásitos al inocular en ellos la sangre del paciente (Figura 13) (50) Se emplean medios líquidos tales como LIT (triptosa de infusión de hígado) o BHI (infusión cerebro-corazón) (51).

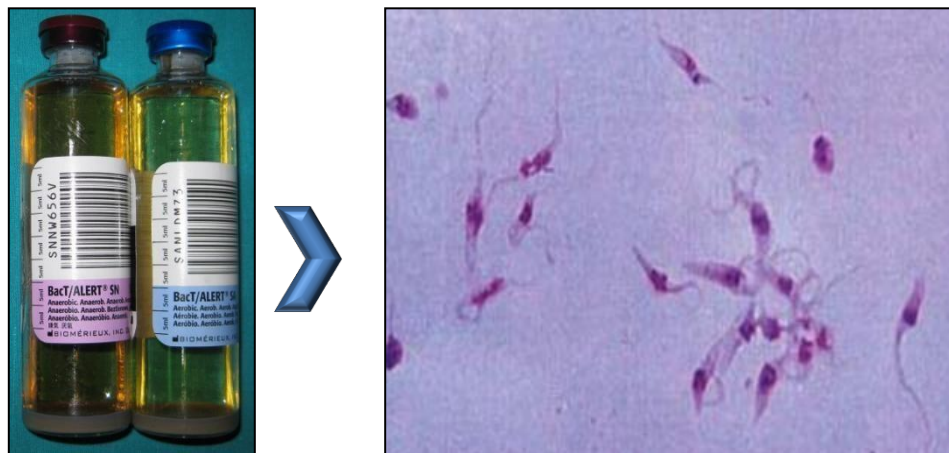


Figura 13. Hemocultivo positivo en la imagen de la izquierda y tripomastigotes metacíclicos con tinción de Giemsa en objetivo 100X de *T. cruzi* en la imagen de la derecha.

La Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Permite medir la carga parasitaria circulante y es útil especialmente en los pacientes inmunodeprimidos y donantes de órganos en los cuales la serología no resulta útil por bajos niveles de CD4. Se toma sangre de pacientes, de la cual se extrae ADN total y se realiza PCR con iniciadores específicos para amplificar una región del ADN de *Trypanosoma cruzi* (52), (Figura 14) (53).

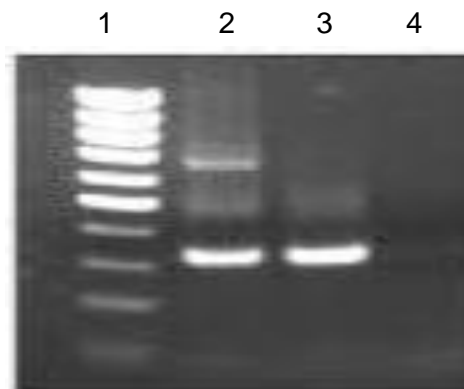


Figura 14. PCR para *T.cruzi*. Patrón de peso molecular (carril 1), control positivo (carril 2), muestra DNA (carril 3), control negativo (carril 4)

Durante la fase crónica, los ensayos serológicos son los más importantes para demostrar la presencia de anticuerpos circulantes, debido a que la cantidad de parásitos sanguíneos es muy baja o ausente, con capacidad de evidenciarlos a partir de la tercera semana de ocurrida la infección (2).

2.3.3 Métodos Serológicos

Entre las diversas pruebas serológicas disponibles para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas se encuentra la inmunofluorescencia indirecta (IFI) donde se preparan placas de vidrio con pocillos a las que se le adhieren epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* (parásito completo) obtenidas de cultivo. Si el suero del paciente

tiene anticuerpos (clase IgG o IgM), se produce una reacción antígeno-anticuerpo, la que se detecta con la adición de un conjugado (anti-IgG o anti IgM humana) marcado con sustancias fluorescentes como isotiocianato de fluoresceína. Esta reacción se observa posteriormente en un microscopio de fluorescencia (54). (Figura 15) (3).

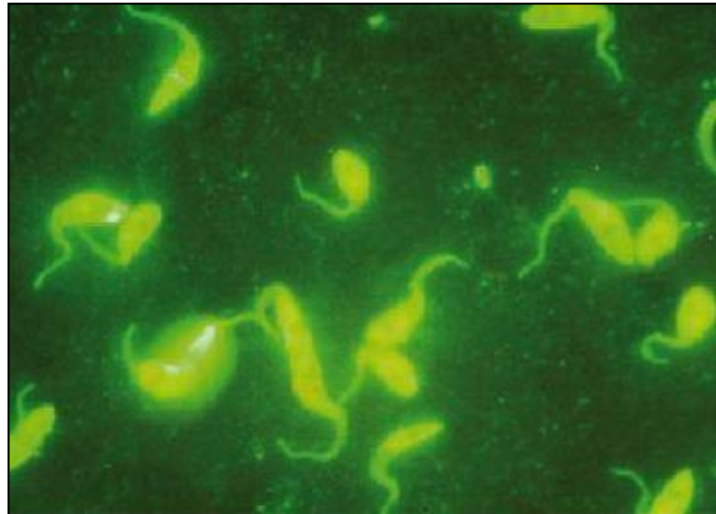


Figura 15. Resultado de una IFI positiva mediante fluorescencia para *T. cruzi*

La prueba *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) emplea placas de poliestireno las cuales son sensibilizadas con antígeno soluble de *Trypanosoma cruzi* (Epimastigotes obtenidos de cultivo), los que se unirán a anticuerpos específicos contra el parásito si están presentes en la muestra. Se agrega conjugado formado por un anti anticuerpo humano unido a una enzima (fosfatasa alcalina o peroxidasa) y se podrá evidenciar una reacción positiva si al adicionar sustrato específico (paranitrofenilfosfato u ortofenilendaimina) se desarrolla una reacción de color que puede leerse en forma visual o en un fotocolorímetro, esta indicaría la presencia de anticuerpos en la muestra del paciente (35) (55). (Figura 16) (3).

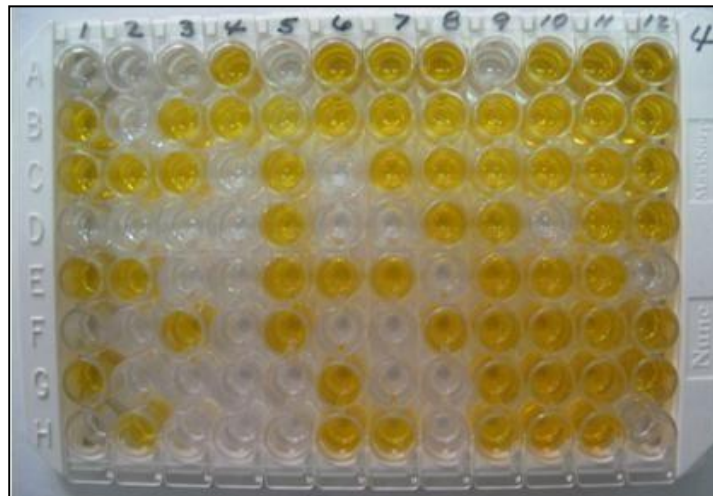


Figura 16. Técnica ELISA. Pocillos de color amarillo positivos para IgG anti- *T. cruzi*

La hemaglutinación indirecta (HAI) se basa en la aglutinación de los glóbulos rojos de carnero o humanos, sensibilizados con antígenos de epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* en presencia de suero que contiene anticuerpos contra el parásito. La prueba se realiza en una placa de microdilución, de fondo U o en V (Figura 17) (56). La lectura debe realizarse a contraluz o empleando un fondo de contraste, si la muestra es positiva los glóbulos rojos se aglutinan observando los resultados a simple vista (35).

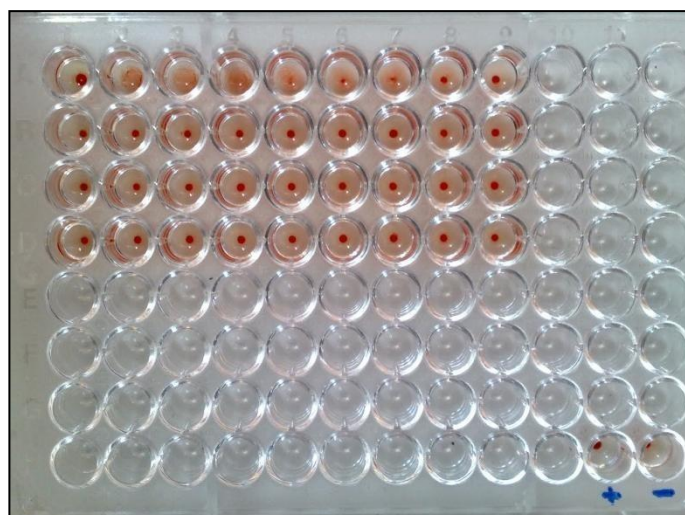


Figura 17. Resultado positivo de una HAI para *T. cruzi* de los pozos 1 a 9, con aglutinación evidente. Pozo 10 vacío, Pozo 11 control positivo y pozo 12 control negativo.

El Western Blot (WB), permite detectar la presencia de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* que reaccionan contra antígenos parasitarios que han sido separados mediante electroforesis en gel de poliacrilamida y luego transferidos a una membrana de nitrocelulosa empleando un buffer de transferencia (57) sobre la cual se realiza una reacción enzimática (peroxidasa), que según sea el conjugado empleado, detecta la presencia de anticuerpos IgA, IgG o IgM por separado o simultáneamente. Las reacciones positivas se observan como bandas de precipitación en tiras de membranas sensibilizadas (55), (Figura 18) (58) .

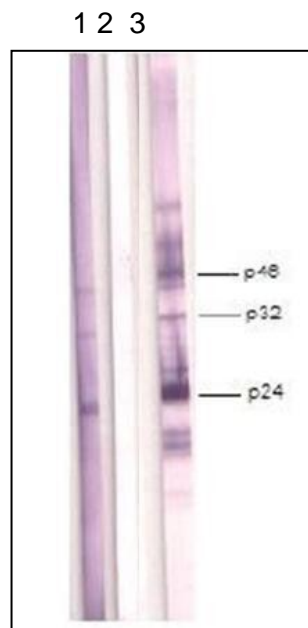


Figura 18. WB con sueros positivos para Chagas. Suero positivo (tira 1), suero negativo (tira 2), marcador de peso molecular (tira 3).

Dado el carácter transitorio de los parásitos en sangre periférica, los métodos serológicos constituyen una herramienta valiosa en el diagnóstico de la enfermedad. En una etapa inicial los anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* son de tipo IgM (20-30 días), los cuales son remplazados gradualmente por anticuerpos tipo IgG en cuanto progresa la enfermedad. La sensibilidad de los métodos anteriormente descritos se expone en la Tabla 4.

Tabla 4. Sensibilidad de los diferentes métodos para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas (35).

Método	Porcentaje (%) de Sensibilidad
Métodos directos *	
Examen sangre fresca	80-90
Gota gruesa	<70
Extendido	<60
Microhematocrito	90-100
Strout	90-100
Métodos indirectos	
Xenodiagnóstico	Fase aguda 100 Fase crónica <50
Hemocultivo	Fase aguda hasta 100 Fase crónica < 40
Métodos Serológicos	
ELISA	95
IFI	96
Western blot	95.4-100
Métodos Moleculares	
PCR	96-100

Es indispensable conocer el protocolo de diagnóstico para la enfermedad de Chagas, iniciando con la identificación del paciente, si este es residente, ha viajado a zonas endémicas o convive con personas que padezcan la enfermedad de Chagas. El tamizaje se realiza con la prueba de ELISA IgG anti *T.cruzi* de extractos totales la cual tiene una sensibilidad mayor o igual a 98%, un resultado negativo descarta la enfermedad de Chagas y un resultado positivo o indeterminado de esta técnica direcciona a realizar una segunda ELISA de antígenos recombinantes con una especificidad mayor o igual al 95% que de resultar positiva confirma la enfermedad de Chagas la cual debe ser notificada tanto al paciente como al SIVIGILA y continuar con el tratamiento adecuado, si el resultado es negativo se realizara una tercera prueba confirmatoria, IFI o WB que descartara o afirmara en última instancia el padecimiento de la enfermedad (51).

* Los métodos directos se emplean de preferencia en la fase aguda de la enfermedad debido a la alta parasitemia que se presenta en las primeras semanas.

2.4 DETERMINANTES ANTIGÉNICOS

2.4.1 Mucinas

Son glicoproteínas principales las cuales generan una capa de oligosacáridos funcionales en la protección del parásito y representan el 1% del genomas de *Trypanosoma cruzi* (59) estas se dividen en TMUC I y TMUC II y otro pequeño grupo con menos variabilidad y expresado durante el paso por el vector denominadas TsMUC, los dos primeros grupos se expresan únicamente en el estadio presente en el mamífero y tienen como función proteger al parásito de la respuesta inmune tanto del mamífero como del insecto y establecen el punto de anclaje para la invasión de diferentes tipos de células (60) dichas proteínas también son los principales aceptores del ácido siálico provenientes de las células del hospedero mamífero obtenido mediante la acción de las transialidasas, es por ello que la infección efectiva puede generarse al momento en que las mucinas se ubican en la vesícula parasitófora (60)

2.4.2 GP72

Proteína de 72 kDa presente en epimastigotes y tripomastigotes metacíclicos, la cual se encuentra implicada en la morfogénesis del parásito, probado mediante el uso de un anticuerpo monoclonal (WIC 2926) que inhibe el cambio de epimastigote a tripomastigote *in vitro* (4), y además está involucrada en la adhesión flagelo-cuerpo basal (61). Interactúa con las lectinas presentes en el intestino del vector y promueve su adherencia en el estadio epimastigote (62).

2.4.3 Superfamilia GP85/ TSA

Solo ha sido encontrada en las forma infectivas, es decir que no está presente en epimastigotes se especula dicha superfamilia está involucrada en procesos de adhesión e invasión en la célula debido a la interacción con múltiples ligandos como proteínas de superficie y extracelulares, incluidas también algunas como laminina y colágeno (60) las que tienen función transialidasa poseen una tirosina en el sitio catalítico que es remplazado por una histidina en caso de no ser transialidasa (63).

Muy abundantes en el parásito asociadas con la infección de este, además presentan la propiedad de unirse a un tallo glicosilfosfatidilinositol (GPI) Los anclajes GPI están constituidos por glicolípidos que se unen al C-terminal de ciertas proteínas hidrófilas durante su maduración postraduccional para que éstas queden ancladas en el lado extracelular de la membrana entre ellas se encuentran gp82, gp80, gp35/50 y gp85 las cuales son importantes en la transferencia del ácido siálico ya que *Trypanosoma cruzi* no es capaz de producirlo por el mismo y con ello evade así la acción del sistema de complemento (27).

Esta superfamilia se divide en cuatro grupos el I de las transialidasas, el II de proteínas de superficie como Tc-85 gp-90 y gp-82, el III que posee una molécula FL-60 que se encarga de inhibir la acción del complemento generada por el hospedero y el grupo IV sin función conocida (64) Ahora bien, gp82 otra molécula perteneciente a la superfamilia de la Gp85/TSA presenta una función adhesina del parásito que posee un ligando N-oligosacárido que se une a la células epiteliales mediante un anclaje GPI que favorece la adhesión e invasión celular además está involucrada en el aumento transitorio del Ca^{2+} intracelular mediante la activación de tirosina quinasa (PTK) y fosfolipasa C (PLC) generando así la ruptura del citoesqueleto de actina dependiente de calcio y el reclutamiento de los lisosomas para la formación de la vacuola. Es altamente conservada en alrededor de 90% de las cepas (60).

2.4.4 Gp90

Es una glicoproteína de la familia de las transalidasas con un peso de 90 kDa (65), actúa en el proceso de invasión celular se expresa diferencialmente en las cepas de *Trypanosoma cruzi* y es propia del estadio tripomastigote metacíclico, se une a la membrana con anclaje GPI, esta no posee acción de liberación del calcio y es un regulador negativo de la invasión (66). Se habla de que se encuentra exclusivamente en *T. cruzi* y no en *Leishmania* ni *T. rangeli* (67).

2.4.5 Gp35/50

Presente tanto en tripomastigotes como en epimastigotes también se encuentra involucrada en la vía de señalización para el incremento del calcio intracelular pero más pobre que la Gp82, mediante la activación de la adenilato ciclasa con la consecuente liberación de Ca^{2+} además se asocia a cepas poco infectivas y no es dependiente de ácido sálico (68)

2.4.6 Gp30

Posee un peso de 30kDa, propia de tripomastigotes metacíclicos participa en la invasión celular principalmente en cepas carentes de Gp82 contribuyendo a un aumento en la infectividad (60) es capaz de ligarse a la célula hospedera, generando la exocitosis de los lisosomas facilitando la internalización del parásito, además también induce la señalización por Ca^{2+} (69)

2.4.7 HSP70

Son una familia de ATPasas altamente conservadas una proteína de un peso molecular de 70 Kda, y funciona como una chaperona y antígeno de membrana de choque térmico, son altamente inmunogénicas y con una importante función y eficiencia en la activación de los linfocitos T CD8+ (20), sin embargo esta también demostrada la activación de LT CD4+ por medio de la interacción con MHC tipo II (70), además de que ha resultado ser un antígeno dominante en la infección humana, existiendo un alto nivel de anticuerpos frente a éste, en pacientes Chagásicos (68).

Es un estudio (70) realizado se evidencia que tras un largo período de activación de las células en proliferación con la presencia de HSP70, esto conduce a una regulación baja significativa de la expresión superficial de TCR $\alpha\beta$ y CD3, que a su vez conduce a la muerte celular. Aparentemente, la muerte celular no es mediada directamente por las interacciones del ligando Fas-Fas (FasL).

2.4.8 Cruzipaina o Gp57/51

Es una cisteína proteasa lisosomal de 40-45 Kda cuya forma es similar a la de una bobina circulante sin embargo, la enzima exhibe un comportamiento anómalo en SDS-PAGE produciendo un variación en los valores de peso molecular aparente según las condiciones experimentales utilizadas(71), es codificada por genes polimórficos organizados en tándem es importante en la progresión de la enfermedad y se encuentra en todos los estadios pero considerablemente en epimastigotes, y es totalmente conservada, pesa y se encuentra involucrada en la internalización del parásito, además de ello tiene actividad litica de la porción Fc de la IgG lo que sugiere fervientemente que esta proteína se encuentra involucrada en la evasión del sistema inmune (71). Se informa que este antígeno incrementa el número de células del bazo de gran tamaño (llegando a generar la esplenomegalia) y contribuye a altos niveles de interleuquinas tipo 2 como IL-4, IL-5, IL-10, niveles bajos de Interferón gama e IL-12 (20)

La cruzipaina es capaz de romper de forma eficiente ciertas regiones de las quininas que pueden unirse a receptores de proteína G heterotrimericos, receptores B2 de bradikinas presentes en células cardiovasculares, de esta forma se activa la cascada de quininas, se activan las proteínas g hetero trimericas y se aumenta la susceptibilidad de invasión(41)

2.4.9 Oligopeptidasa B

La oligopeptidasa B de *T. cruzi* (OPBTc)(60), es una proteína que posee una masa molecular de 80 ó 120 kDa, dependiendo de si se obtiene en condiciones denaturantes o en su conformación nativa, respectivamente. Esta enzima se encuentra involucrada en la activación de vías de señalización celular en el hospedero mamífero, claves para el proceso de infección. Por tales motivos OPBTc es considerada como un importante factor de virulencia en tripanosomátidos.

Las oligopeptidasas pertenecen al grupo de las serino-proteasas que, en eucariontes recientes, participan activando péptidos biológicamente inactivos. Por su parte, en el genoma de *T. cruzi*, representan el grupo más grande de proteasas(60)

Participa en el proceso de invasión de células no fagocíticas, participando como un agonista que lleva al aumento de calcio intracelular de la célula hospedero (60). Esto en conjunto con otra peptidasa la cruzipaina.

2.5 INVASIÓN CELULAR DE *Trypanosoma cruzi*.

En la invasión de los diferentes tejidos se llevan a cabo dos mecanismos principales: la primer estrategia acontece en un 20 a 30 % de los casos, y es llamada la ruta

lisosoma dependiente, donde se induce la señalización de calcio (Ca^{2+}) (72). La segunda estrategia se denomina vía de invaginación de la membrana plasmática, seguida de la fusión intracelular con el lisosoma, formando así el fago lisosoma (73).

En la diferenciación de un estadio parasitario a otro, el parásito sufre cambios conformacionales que se encuentran implicados en la respuesta inmune y la capacidad de evasión de la misma, así mismo perpetua la invasión hasta la fase crónica. En cuanto al ingreso del parásito se reconoce como clave que el aumento de calcio libre en la células del hospedero propicia la entrada de este mediante el reclutamiento y fusión de lisosomas en el sitio de unión al parásito, los tripomastigotes son capaces de inducir la señalización del calcio a través de tres moléculas: gp82, gp30 y gp35/50 dependiendo de la cepa implicada y activar diferentes vías de señalización del Ca^{2+} (74) los lisosomas son orgánulos relativamente grandes, formados por el aparato de Golgi, que contienen enzimas hidrolíticas y proteolíticas encargadas de degradar material intracelular de origen externo (heterofagia) o interno (autofagia) que llegan a ellos. Es decir, se encargan de la digestión celular. Es así que el estadio infectante (tripomastigotes sanguíneos) son capaces de provocar ese incremento transitorio del Ca^{2+} en varias células eucariotas, propiedad que no se manifiesta con el estadio epimastigote. La invasión no fagocítica sucede con diversas células por mecanismo de adhesión entre moléculas de superficie del parásito y receptores celulares cargados negativamente del huésped.

La invasión puede dividirse en tres etapas adhesión y reconocimiento, señalización e invasión (60) en la primera etapa el parásito tiene contacto con células que se ubican en la zona de la picadura, macrófagos, fibroblastos y células endoteliales, posterior a ellos se da un proceso de adhesión a la células y de internalización donde el parásito se encuentra en la vesícula denominada vesícula parasitófora la cual genera un estrés oxidativo al cual las formas tripomastigotas deben sobrevivir para pasar al citoplasma y establecer una infección intracelular (75) todo este

proceso involucra proteínas diferentes tanto en cantidad como en el tipo de ellas, teniendo en cuenta la cepa y el tipo de células involucrada.

La respuesta inmune frente a *Trypanosoma cruzi* puede caracterizarse en las siguientes etapas comunes en lo que concierne a enfermedades infecciosas: La respuesta inmune innata y adaptativa (76).

2.6 RESPUESTA INMUNE FRENTE A INFECCIÓN POR *Trypanosoma cruzi*

2.6.1 Innata

El complemento es uno de los principales sistemas de defensa que tiene el organismo frente a infección por *Trypanosoma cruzi* el cual posee la capacidad de activarlo por dos vías principales, La vía clásica (de anticuerpos) y la vía de las lectinas, sin embargo, esta última es más común, donde la lectina de unión a manosa (MBL) reconoce las proteínas glicosiladas con manosa del parásito, junto con la MBL están las MASP1 y MASP2 dos serin proteínas que al unirse al sustrato en la superficie de *Trypanosoma cruzi* actúan como clivaje para las proteínas C2 y C4, después de este suceso estas se unen covalentemente a la membrana del parásito donde forman la C3 convertasa que tiene como función iniciar la fase efectora del sistema del complemento. En general la fijación del complemento desencadena el ensamblaje eficiente de citotoxicidad que va a contribuir en la lisis del microorganismo, denominado Complejo de ataque a Membrana (MAC), sin embargo en el caso de *Trypanosoma cruzi* posee diversas proteínas que retrasan e impiden la acción del complemento. Sin embargo, el complemento aunque no cumple su función de lisis a cabalidad, es capaz de producir opsonización y generación de péptidos quimioatrayentes que aumentan la respuesta de las células de la inmunidad innata (77)

El sistema inmune inicialmente trata de controlar la replicación y propagación del parásito esto mediante la segregación de moléculas capaces de actuar frente al agente extraño. Es así que la inducción de la liberación de agentes pro inflamatorio como la IL-12 la cual es un mediador clave del INF-gamma a través de la inducción del desarrollo de Th1 y células Natural killer. El INF-gamma tiene un papel fundamental en la activación de los macrófagos quienes segregan Óxido Nítrico (NO) para generar la muerte intracelular del *Trypanosoma cruzi*. Por otro lado, los TLR son mediadores importantes de las respuesta inmune innata, después del reconocimiento del ligando por parte del TLR este tiene un dominio llamado: Toll-interleucina 1 receptor (TIR), después de la unión de su ligando, la señalización comienza a través de proteínas adaptadoras que contienen a su vez el dominio TIR , la proteína de respuesta primaria Myd 88, proteína adaptadora que contiene dominios TIR (TIRAP), proteína adaptadora similar a Myd 88 (Mal) y proteína adaptadora que contiene el dominio TIR e induce INF- beta y proteínas adaptadoras relacionada a TRIF (TRAM), que intervienen en la señalización para la activación de factores de transcripción como el factor nuclear NF-kB y el factor regulador el interferón (IRF). Este factor de transcripción, se une al promotor e induce la expresión y secreción de diversas citoquinas inflamatorias.

Mediante el uso de los diferentes adaptadores se reconocen dos vías de señalización dependiente e independiente de Myd88. En la ruta dependiente Myd88 traduce las señales de todos los TLR excepto el TLR3 e induce la aparición de diferentes citocinas como IL-1, IL-8, TNF-alfa, e IL-12 y lleva al desarrollo de Th1 que induce la producción de INF-gamma. Por el contrario en la vía independiente de Myd88, TRIF juega un rol crucial en la activación de la señal mediada por TLR3 y TLR 4; que también activa NF-kB con la producción de INF-beta para la expresión de los genes IGR47, que son inductores de INF-gamma.

Dichas citocinas inflamatorias son secretadas por macrófagos tisulares que inducen a la expresión de integrinas, P y e-selectina por parte de los capilares cercanos al sitio de la lesión, estas moléculas funcionan como anclaje para el reclutamiento de células como neutrófilos que forman el infiltrado inflamatorio, de igual manera que la IL-8 y los péptidos quimio tácticos procedentes de la respuesta parcial del complemento.

En la familia de los TLR, el TLR2 fue el primero en participar en la respuesta inmune innata generada por *Trypanosoma cruzi*. Los anclajes GPI, glicoproteínas similares a mucinas ubicadas en la superficie de la membrana del parásito del *Trypanosoma cruzi*, se encargan de inducir la síntesis de citoquinas pro inflamatorias y Óxido Nítrico (NO) en las células inmune innatas y su composición lipídica variable determina su reconocimiento por TLR2 (alquilaciliglicerol) o TLR 4 (dihidroceramida) (78), por otra parte TLR9 también se encuentra involucrado en el reconocimiento del parásito activado por los CpG de *Trypanosoma cruzi* (cuyo contenido en *Trypanosoma cruzi* representa un 51%). Estas regiones CpG serán reconocidas por TLR9 en los lisosomas, haciéndose accesibles una vez que el parásito ha sido destruido (73)

También existen otras estrategias que no involucra los TLR sino otro tipo de PRRs llamados receptores citoplasmáticos NOD, que reconocen peptidoglicanos y muramil di péptidos que también activa el NF- κ B y conduce a la producción de IL-12 e INF-gamma.

Además el parásito recurre a otros mecanismos, por ejemplo haciendo uso de la Tc52 una proteína liberada por *Trypanosoma cruzi* actúa como inductor de la expresión de moléculas estimuladoras, producción de citocinas y quimioquinas además del aumento del Ca^{2+} intracelular con el fin de movilizar la actina para la formación de los lisosomas que permitan la invasión parasitaria a la célula, esto también ocurre con la activación de la vía IP3 (inositol tri fosfato) que desempeña la

función. Este aumento de Ca^{2+} conduce a la activación de la vía calmodulina/calcineurina que contribuye a activar otro factor nuclear denominado NF-AT que a su vez también genera la producción de INF-gamma y es capaz de inducir la respuesta hacia el perfil Th1, independiente de los PRRs (73).

La defensa del huésped contra patógenos intracelulares depende de la producción de IFN-gamma dependiente de Th1 que induce la activación de macrófagos para eliminar los patógenos intracelularmente. Las diferentes estrategias conllevan a la producción de IL-12 y/o IFN-gamma, y de esta forma propiciar la respuesta adecuada por Th1.

2.6.2 Adaptativa

2.6.2.1 Celular

Paralelo a la respuesta producida por las células presentadoras de antígeno, además de los complejos propios de la respuesta innata, se lleva a cabo un proceso de presentación de péptidos derivados de *Trypanosoma cruzi* en la superficie de las células dendríticas a través del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CHM) clase I y II los cuáles son capaces de activar linfocitos T vírgenes. La célula presentadora de antígeno exteriorizará el péptido a los linfocitos T vírgenes, quienes llevarán a cabo un reconocimiento por medio de TCR (Receptor de linfocitos T), y a partir de este momento se inicia lo que se denomina inmunidad adaptativa, que dependerá del tipo de HLA que presentó el péptido, las quimiocinas e interleucinas producidas, entre otros factores. Esto teniendo en cuenta que se presentan como péptidos exógenos si las células dendríticas fagocitan y procesan el parásito presentándolo a través del CMH II a LT CD4+, si por el contrario el parásito rompe la vacuola parasitófora transformándose en amastigote y segrega sus proteínas o el producto de su lisis, la células los reconoce como péptidos endógenos que presenta a través del CMH I a los LT CD8+. En un primero

encuentro del sistema inmune con *Trypanosoma cruzi* clásicamente los LT respondedores a antígeno específico se expanden clonalmente y durante este proceso ellos cambian el su perfil de expresión y adquieren funciones efectoras. Los LT CD8+ se encargan de producir más citocinas e inducir la apoptosis en la célula blanco su función se establece de acuerdo al perfil de citocinas secretadas al momento de su activación. Durante el proceso de activación de los LT CD4+ estos pueden diferenciarse en distintos perfiles, y cumplir múltiples funciones desde la inducción del cambio de clase de inmunoglobulinas en las células B y la regulación de la producción de células de memoria o plasmocitos por las células T colaboradoras foliculares_(77)

Un grupo de los LT CD4+ efectores presentan el péptido a los linfocitos B, que a su vez se diferenciaran y se expanden de forma clonal en LB, efectores de memoria o células plasmáticas, las cuales producirán el perfil de inmunoglobulinas necesario

2.6.3 Humoral

La respuesta humoral contra el *Trypanosoma cruzi* se caracteriza por una respuesta a diferentes antígenos. La producción de anticuerpos contra los diferentes determinantes antigénicos, depende de la etapa de la infección en que se encuentre el huésped (20) es por ello que por ejemplo los tripomastigotes metacíclicos poseen invasinas, que son específicas de estadio, por lo que la inmunidad inducida en un estadio no es capaz de generar una respuesta ante las invasinas expresadas por la siguiente generación de tripomastigotes (79) La IgM aparece precozmente en el transcurso de la infección, tiene su máxima expresión de 15-20 días y disminuye hasta niveles no detectables en la fase crónica. La IgG se hace evidente de 10-15 días después de la infección, con presencia de niveles altos de IgE manteniéndose a niveles detectables durante todo el curso de la enfermedad (15). La respuesta inmune humoral frente a *Trypanosoma cruzi* es capaz de generar el desarrollo de

las cuatro subclases de IgG y el cambio de IgM a IgG se establece a partir de la secreción de IL-4; el aumento de dicha interleucina como del INF-gamma y el desarrollo de las cuatro subclases de IgG se relacionan con una respuesta mixta de LT efectores Th1 (INF-gamma) y Th2 (IL-4) en la infección crónica (80).

2.7 EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE POR *Trypanosoma cruzi*

Trypanosoma cruzi utiliza una gran variedad de antígenos para efectuar una infección adecuada en el hospedero mamífero. Sin embargo, el sistema inmune de este último, posee un amplio espectro de mecanismos de neutralización, que van desde la inmunidad innata, hasta la adaptativa. Por otro lado *Trypanosoma cruzi* (81), articula una amplia diversidad de determinantes antigénicos, con el fin de eludir la respuesta del hospedero.

Es así como seis principales mecanismos de evasión de la respuesta inmune son utilizados:

2.7.1 Invasión celular y sobrevida al stress oxidativo

Luego de la invasión al hospedero mamífero(81) *Trypanosoma cruzi* puede encontrarse con células de tipo no fagocítico profesional (aunque puede haber también CDS (células dendríticas), o macrófagos que se dirijan de forma oportuna al sitio de entrada del parásito, además de fibroblasto y epitelio mesenquimales, musculares cardiacas entre otras. Es así como el parásito ingresa dependiendo el tipo de célula, (81) y en la infección primaria es fagocitado por macrófagos .Este reconocimiento se da por medio de los toll- like receptors los cuales reconocen glicoproteínas de superficie, posterior a esto el parásito es fagocitado e ingresa en la vacuola parasitófora, luego el lisosoma del citoplasma se fusiona a la vacuola y

se forma el fagolisosoma en el cual se propiciará la eliminación del parásito a través de radicales libres de oxígeno.

De otro modo en las células no fagocíticas el parásito ingresa a través de dos formas, la primera ocurre en un 20-30 % de los casos, es denominada ruta lisosoma dependiente, en la cual se induce una señalización de Ca^{2+} , seguido por el reclutamiento y fusión del lisosoma en el sitio de entrada del parásito. *Trypanosoma cruzi*, activa vías de señalización que resultan en la movilización de calcio dependientes de una fosfolipasa C y de inositol trifosfato (IP3), así los lisosomas responden rápidamente a la elevación de los niveles de Ca^{2+} y se someten a una fusión con la membrana plasmática (82) (83). Siendo un punto clave la expresión de la proteína de membrana lisosomal synaptotagmina VIII (Syt VIII), la cual funciona como una proteína con capacidad de detectar niveles de calcio intracitoplasmático.

Además de la señalización de calcio(84), los tripomastigotes inducen la elevación de los niveles de cAMP, evento que está correlacionado con el mejoramiento y desarrollo de la exocitosis lisosomal.

La segunda ruta(83)(85), se desarrolla en un 70-80% de los casos, también denominada lisosoma dependiente y se lleva a cabo una invaginación de la membrana plasmática (endocitosis) seguida de la fusión intracitoplasmática con el lisosoma, esta inicia con la entrada del parásito en la membrana citoplasmática que culmina con la formación de una vacuola y posterior fusión con los endosomas tempranos y lisosomas.

Dentro del fagolisosoma(86), especialmente en células fagocíticas como los macrófagos, *Trypanosoma cruzi* puede soportar el extremo ambiente, utilizando enzimas antioxidantes como peroxidasas y superóxido dismutasas (SODs).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) (87), derivan en parte, de reactivos de oxígeno molecular reducido. La sucesiva reducción univalente del oxígeno molecular incluye anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radicales hidroxilo (OH^{\bullet}). Si bien el H_2O_2 no es excesivamente reactivo, es un precursor de OH^{\bullet} , el cual es altamente reactivo en su sitio de producción. ROS puede ser generada como consecuencia de una reacción citotóxica, con la capacidad de daño de la mitocondria, ácidos nucleicos, proteínas y lípidos del parásito. En el proceso de fagocitosis(83), los tripomastigotes desencadenan la activación de una NADPH oxidasa asociada a la membrana de los macrófagos, lo que conlleva a la producción de aniones radicales superóxidos que se convertirán en peróxido de hidrógeno a través de SOD, disminuyendo de este modo la capacidad de acción de ROS.

De otra manera (87), existen especies reactivas de nitrógeno (RNS) las cuales incluyen óxido nítrico ($\bullet NO$) y sus derivados. $O_2^{\bullet-}$ $\bullet NO$, que por sí mismos no son especialmente reactivos, sin embargo, el peroxinitrito ($ONOO^-$), un potente oxidante, se forma por una rápida reacción entre $O_2^{\bullet-}$ y $\bullet NO$. ROS/RNS son inestables y reaccionan rápidamente con otros radicales libres y macromoléculas en reacciones en cadena para generar oxidantes cada vez más perjudiciales. Entonces *Trypanosoma cruzi* emplea un sofisticado grupo de enzimas que impedirán su perjuicio ante ROS y NOR, así (88), se reduce NADPH (de la vía pentosas fosfato) y se oxidan sistema de desintoxicación enzimática a través del ditiol tripanotiona, bis glutatión espermidina, y tryparedoxina (TXN), que es un homólogo de la tioredoxina.

Se han identificado cinco tipos de peroxidasas en *Trypanosoma cruzi* que confieren la capacidad de detoxificación, estas difieren de su punto de localización subcelular además de su sustrato. Glutatión peroxidasa-I (TcGPXI) ubicada en citosol y glicosoma y TcGPXII ubicada en el retículo endoplásmico, confieren resistencia contra lípido e hidro peroxidasas respectivamente; La peroxidasa

tryparedoxina citosolica (TcCPX) y mitocondrial (TcMPX) de *Trypanosoma cruzi* poseen la capacidad de detoxificar ONOO⁻, H₂O₂ y pequeñas cadenas de hidroperoxidasas con la ayuda de TXN. La resistencia del parásito frente a ONOO⁻ es conferida por la sobre expresión de TcCPX, cuyo residuo que le confiere mayor actividad peroxidasa es Cys52 (Cys52Ala), también la sobreexpresión de TcMPX otorga resistencia frente a •NO. Por último esta una hemo-peroxidasa (TcAPX), la cual está localizada en el retículo endoplásmico y da resistencia frente a H₂O₂, utilizando ascorbato como un substrato reductor (88)(87).

También cuenta (89) con un grupo de cuatro superóxido dismutasas que son de igual forma utilizadas por diversidad de microorganismos para contrarrestar reacciones inmunes. Las SODs utilizadas por *Trypanosoma cruzi* son dependientes de la actividad del hierro (FeSODs)(90) que detoxifican O₂•, TcSODs A y C se ubica en la mitocondria TcSOD B1 actúa en el citosol y TcSOD B1-2 actúa en los glicosomas generado en el citosol, glicosomas y las mitocondrias.

Es claro que las ROS(83), son moléculas lábiles y sus efectos son debidos principalmente a su rápida acumulación en diferentes compartimentos es así como después de un estímulo fagocítico y ya dentro del fagolisosoma y como respuesta a citoquinas proinflamatorias como son IFN-γ and TNF, ROS se mantiene por 90 a 120 minutos no tiene una fácil difusión por la membrana debido a su naturaleza iónica (86), aunque •NO es sintetizado en el citoplasma es capaz de difundirse a través de la vacuola parasitófora conforme su característica hidrófoba. Y permanece durante 24 horas.

De otro modo(89) el stress oxidativo según recientes estudios permite a la forma resultante de la metacyclogenesis el amastigote, obtener rápido acceso al hierro el cual es crítico para el crecimiento y desarrollo del parásito.

2.7.2 Escape del fagolisosoma

Una vez *Trypanosoma cruzi*(83) se encuentra dentro del fagolisosoma, tiene la capacidad de utilizar un grupo de proteínas de membrana pertenecientes a la súper familia de trans-sialidasa, además de utilizar a su favor la disminución del pH, para su posterior salida a citoplasma y diferenciación en la forma replicativa.

Estudios han demostrado que el tripomastigote metacíclico expresa menores cantidades de trans-sialidasa en contraste con la forma sanguínea obtenida dentro del hospedero mamífero, hecho que en teoría disminuiría la capacidad infectiva en una infección temprana (83), no obstante, esto no interfiere en la capacidad en este caso de escape del fagolisosoma, pero si interviene en la velocidad del escape, ya que los tripomastigotes sanguíneos escapan de forma más temprana a la vacuola (91).

Proteínas de membrana del parásito(92), interactúan con la membrana interna del fagolisosoma .las proteínas de membrana asociadas a lisosoma 1 y 2 (LAMP 1 y 2), que son la principales proteínas integrales de los lisosomas, se encuentran altamente glicosiladas (92). Por otro lado el parásito no tiene la capacidad de producción de ácido siálico sin embargo por medio de la trans-sialidasa transfiere los glicoconjugados con elevados niveles de ácido siálico de LAMP 1 y 2 a mucinas de la membrana del parásito. A pesar de ello es necesaria la presencia de una proteína formadora de poro que es Tc.Tox(peptido que guarda cierta homología con el factor 9 del complemento)(93), la cual es secretada por el parásito en presencia de un PH ácido(característico de la vacuola parasitófora), además de que se ha demostrado es más eficiente sin la presencia de ácido siálico en la vacuola (94). Es así como estudios en los cuales se han silenciado en ratones los genes codificantes de proteínas LAMP, la infección con *Trypanosoma cruzi* no ha sido tan eficiente, permitiendo afirmar y confirmar la importancia del ácido siálico en la infección (95).

2.7.3 Inactivación del complemento

El sistema del complemento consiste una serie de proteínas solubles con la capacidad de interactuar con estructuras del patógeno, que luego conllevará la activación de una cascada de proteasas cuya función principal es la eliminación del microorganismo invasor (96).

En la infección por *Trypanosoma cruzi*(96),la activación del sistema de complemento a través de cualquiera de las tres vías existentes converge en la producción de la convertasa C3 y C5, y culmina con la formación del complejo ataque de membrana MAC. De esta forma y posterior a la formación de C3 y C5 se da la opsonización de células o moléculas blanco por medio de C3b/iC3b seguido de fagocitosis y liberación de anafilotoxinas pro inflamatorias (C4a,C5a, C3a) que funcionan como quimioatrayentes de células inmunitarias, para así formar MAC.

Inicialmente *Trypanosoma cruzi* se convierte en un blanco fácil de activación de la ruta de las lectina del complemento (83), dicha vía es responsable de al menos un 70 % de todas las lisis mediadas por el complemento en la infección(97). También activa la vía alternativa puede activarse ya sea por una baja tasa de conversión de C3 a C3b o por la generación de C3b desde otras vías del complemento, además cuando la infección ha progresado y se producen anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi*, estos se unen a la superficie del parásito y se unen a C1 activando la ruta clásica del complemento.

El sistema de complemento(98),utiliza un complejo grupo de proteínas de control para seleccionar blancos y regular la amplificación por medio de la unión de fragmento a C3. De esta manera C3b y C4b son inactivados por la serino proteasa factor-I en presencia de cofactores como MCP (cofactor de membrana y el receptor

del complemento (CR1), que están unidos a la membrana, además de factor H unido en la superficie del hospedero.

El inhibidor de C1 (C1-INH) inactiva C1r C1s y MASP 2. Por otro lado(98), también es posible la prevención del ensamble de C3, la inhibición de la actividad, mediante factores aceleradores del decaimiento como DAF (CD55), la proteína de unión a C4 (C4-pb). Así mismo(96), la formación del complejo ataque de membrana se ve cohibido debido a la acción de la proteína S (glicoproteína plasmática sintetizada en endotelocitos, la vimentina(proteína del citoesqueleto),y CD50 que interfieren en el ensamblaje.

Incluso con todas las formas de activación y los mecanismos regulatorios de la misma, *Trypanosoma cruzi* posee la extraordinaria capacidad de eludir este complejo sistema, tal que utiliza un grupo de moléculas con la capacidad de inhibir el sistema, y dentro de ellas se puede encontrar las siguientes:

2.7.3.1 Proteínas involucradas en la evasión del complemento.

2.7.3.1.1 Calrreticulina

Es (97), una proteína de superficie de 45 kDa del parásito e une a MBL de los tallos de colágeno, previniendo su interacción con las manosas del parásito, también es capaz de inhibir la acción de C1 previniendo su interacción con C4 , además interactúa con la ficolina (I-ficolina), previniendo la conversión de C4 a C4b, de esta forma la calrreticulana puede perjudicar de forma directa la vía clásica y de las lectinas del complemento, igualmente inhibe la ruta alternativa de forma indirecta .

2.7.3.1.2 Proteína reguladora del complemento CRP (GP160)

Es una proteína de superficie del tripomastigote con acople GPI(99), con la capacidad de unión a C3b y C4b, disociando la convertasa C3 de la vía clásica y alternativa del complemento. Se han descrito varios genes paralogos a CRP, dentro del genoma de *Trypanosoma cruzi*, que comparten secuencias homologas con miembros de la súper familia de las tran-sialidasas carentes de actividad TS.

2.7.3.1.3 Proteína inhibidora del receptor C2 del complemento tri-funcional CRIT

La cual es una proteína trans membrana que bloquea el clivaje de C2 en C2a, inhibiendo la ruta clásica y de las lectinas. CRIT es una proteína de 32 kDa. Su primer dominio extracelular del extremo N-terminal (ed1) presenta una secuencia homóloga con la cadena β del componente C4 del complemento, por lo que compite con éste por la unión a C2. Al producirse la unión, CRIT inhibe la activación de C2 por parte de C1s(100).

2.7.3.1.4 Factor acelerador del decaimiento del tripomastigote (Tc- DAF)

Es una proteína de 87- a 93 KDa que similar al factor acelerador del caimiento en humanos (DAF). Interfiere en el ensamble de la convertasa C3, afectando las tres vías del complemento. De forma similar la Gp58/68 de *Trypanosoma cruzi* inhibe el ensamble de C3 pero solo afecta la vía alternativa del complemento, inhibiendo la acción del factor a C3b(99).

Se sabe que DAF está unido a la membrana por un anclaje de fosfatidilinositol y, sin embargo, T-DAF está presente en el líquido sobrenadante de los cultivos de tripomastigotes. Aunque no se ha llegado a una evidencia clara de que T-DAF tenga

el mismo anclaje, se cree que podría ser así y que una fosfolipasa endógena podría romper el anclaje liberándolo al medio(101).

2.7.3.1.5 *Trans-sialidasa*

Son un grupo de proteínas que se clasifican en cuatro grupos principales de las cuales, del grupo III destaca la FL-60 una proteína con la capacidad de inhibir la ruta clásica y alternativa del complemento(98).

2.7.3.1.6 *Micro vesículas*

Se ha identificado(96)(83) que *Trypanosoma cruzi* induce la liberación de vesículas derivadas de la membrana plasmática de las células del hospedero. Dichas vesículas están involucradas en diversos procesos de evasión de la respuesta inmune incluyendo la unión e inhibición de la convertasa C4b2a.

Los tripomastigotes metacíclicos inducen en las células sanguíneas la liberación al medio de fragmentos de membrana plasmática en forma de micro vesículas(98), el proceso ocurre rápido, tan solo unos minutos tras el contacto parásito-hospedador, y es calcio dependiente. Estas micro vesículas son capaces de formar un complejo en la superficie del parásito con la convertasa C3, lo que da lugar a su estabilización e inhibición y aumenta la supervivencia de *Trypanosoma cruzi*. Además, incrementan la capacidad para invadir células, gracias a que transportan TGF- β , una citoquina que podría aumentar la capacidad de invasión de células epiteliales y cardíacas, y también podría contribuir en la fibrosis durante la fase aguda de la infección.

2.7.4 Inmunomodulación a partir de la activación de patrones de reconocimiento molecular

Los receptores de patrones de reconocimiento PRRs(102), se han sido descrito como una de las principales líneas de defensa frente a varios patógenos incluidos protozoos, siendo expresados en células del sistema inmune innato y son responsables del reconocimiento de moléculas referidas en conjunto como patrones moleculares asociados a patógenos PAMPs.

Los toll like receptos TLR hacen parte de uno de los PRRs mejor caracterizados y detectan PAMPs ya sea en la superficie celular o en el lumen de las vesículas intracelulares como los lisosomas(102).Se encuentran en mayor cantidad en células presentadora de antígeno , sin embargo se han descrito en LT y células somáticas. Su activación conduce a la producción de citoquinas pro inflamatorias y quimioquinas que atraen células fagocíticas en el sitio de infección.(83). Existen entonces 10 miembro de la familia TLR en humanos. TLR 1 al 9 son expresados solamente en humanos y ratones, sin embargo el TLR 10 se expresa únicamente en humanos(83).

TLR 4 Y 9 (103) funcionan como homodimeros (cadenas peptídicas idénticas), mientras TLR 2 y 6 lo hacen de forma heterodimérica (las cadenas peptídicas que los conforman divergen). Luego de la estimulación se produce un cambio conformacional que recluta una molécula adaptadora al dominio TIR. Con lo cual a excepción de TLR3 conduce la activación de la cascada de señalización dependiente de myD88, culminando con la producción de citoquinas proinflamatorias(103), así Toros desarrollan un importante papel en la resistencia a la infección por *Trypanosoma cruzi*, así pueden estimularlo moléculas como mucinas material genético entre otros.

Las mucinas son proteínas de membrana con acople GPI y son un potente estimulador de TLR 2 y 6(78)(104), que in vitro producen importantes citoquinas como IL12 Y TNF , además de óxido nítrico lo cual está relacionado con una respuesta de tipo Th1, que es importante en el control de la parasitemia(102). De otro modo in vivo ratones con silenciamiento del gen codificante de TLR 2, desarrollan una fuerte respuesta pro inflamatoria con elevados niveles de INF- γ en suero, sugiriendo un efecto inmunoregulador.

En contraste TLR 7 Y 9 (83), son expresados en el retículo endoplásmico y en la invasión por *Trypanosoma cruzi* son translocados a los endolisosomas, mientras reconoce inmunoestimulatorios motivos derivados de DNA O RNA del parásito, estimulando la producción de citoquinas proinflamatorias tipo th1.

Las islas CpG NO están aleatoriamente distribuidas en el genoma del parásito(105), envés están enriquecidas son regiones genómicas que codifican mucinas trans-sialidasas y MASPs entre otras, involucradas en mecanismos de evasión y adhesión frente al hospedero, siendo una compensación entre la necesidad de invadir el hospedero y generar un reconocimiento por TLR 9. Sin embargo el escape del fagolisosoma permite a *Trypanosoma cruzi* eludir lisis y por consiguiente la exposición a TLR 9. Los Dominios de oligomerización de unión a nucleótidos Nod like receptor (83) están localizados en el citoplasma o pueden estar asociados a la membrana plasmática. Estas asociados a la activación de MAP quinasa y el factor de transcripción NF-Kb.

En contraste con otros patógenos(83), *Trypanosoma cruzi* no desencadena cambios en la expresión génica del parásito de forma temprana, si en forma tardía alrededor de 24 horas en fibroblastos, este retraso coincide con el escape del parásito del fagolisosoma al citoplasma y diferenciación en amastigote, así es posible plantear que en la etapa temprana de la infección *Trypanosoma cruzi* no desencadena la señal de PRRs conduciendo a una entrada silenciosa en las cepas de mayor

infectividad . Tres aspectos pueden contribuir a ello. El escape del parásito del fagolisosoma, la relativa baja cinética intracelular de *Trypanosoma cruzi* y el efecto inmunoregulatorio de TLR 2 Y 6 en CDCs.

2.7.5 Activación policlonal de células B de forma inespecífica

La variación antigénica del parásito (83)(20) es lograda por la expresión de variantes antigénicas idénticas en la superficie de una población parasitaria, mientras un pequeño grupo de subconjuntos se expresan en diferentes variantes. La infección a largo plazo es lograda(83) debido a la variación de los antígenos expresados. Sin embargo esta teoría no es bien aceptada aun. Por otra parte la teoría de mayor aceptación es que toda la población de *Trypanosoma cruzi* expone una variedad de proteínas de superficie antigénicas como mucinas trans-sialidasas y MASPs codificadas por una polimórfica familia multigenoma, la coexpresion de este repertorio antigénico diverso conduce a la producción de anticuerpos no neutralizantes, un mecanismo conocido como cortina de humo, la cual retrasa la producción de anticuerpos de alta afinidad y la preparación de efectivos TCD8.

Además de la alta variabilidad genética en las proteínas de superficie del parásito, la presencia de derivados del parásito mitogenos de células B(96), causa activación policlonal de células B e hipergamaglobulinemia de isotipos IgM IgG1 IgG2a IgGb e IgG3, resultando en un retraso en la respuesta específica de anticuerpos, siendo esta desenfocada respuesta crucial en la sobrevivida del parásito en la fase inicial de la enfermedad. Sin embargo cabe resaltar que este tipo de respuesta es dependiente de la cepa de *T.cruzi*, así parásitos pertenecientes a la unidad discreta de tipificación VI son los que generan con mayor eficacia este efecto de cortina de humo.

2.7.6 Inmunodominancia

Trypanosoma cruzi es presentado a los linfocitos T (83) por medio del complejo mayor de histocompatibilidad tipo 1 HMC 1 esta presentación promueve una fuerte pero retrasada respuesta de células T CD8+ que es efectiva en el control del número de parásitos, sin embargo solo será evidente 5- 6 días post infección coincidiendo con la primera ronda de replicación intracelular. Conforme avanza la infección aparecen células T específicas frente al patógeno que reconocerán de manera jerárquica un pequeño número de epitopes en un proceso denominado Inmunodominancia.

Los antígenos inmunodominantes pueden ser elegidos, de acuerdo a la abundancia de los epitopes en el parásito, la afinidad por HCM y a los receptores de las células T. Las tras-sialidasas están dentro de los principales inmunodominantes de T CD8+, debido a su elevada expresión en las formas infectivas y contenido antigénico repetitivo, tanto que TS han sido postuladas como blancos para una vacuna. TS pueden representar más del 30 % de toda la respuesta CD8+ en ratones y un porcentaje significativo en humanos(83).

2.8 TRATAMIENTOS

2.8.1 Convencionales

La OMS estipula los fármacos tripanocidas: Benzonidazol, y Nifurtimox como tratamiento para la enfermedad de Chagas, siendo efectivos en la fase aguda y perdiendo su efectividad al transcurrir del tiempo luego de la infección, aun así, el mismo tratamiento está indicado para la fase crónica de enfermedad, reactivación de la misma y casos de transmisión congénita (106) ya que no la elimina pero si puede disminuir la progresión de la enfermedad.

2.8.1.1 Benzonidazol

Es un derivado nitroimidazólico tripanocida cuyo blanco de acción es el quinetooplasto, el mecanismo de acción empleado evidencia la nitroreducción por nitroreductasas tipo I de Benzonidazol formando metabolitos electrofilicos (hidroxilamina) la cual es capaz de conjugar grupos tiolicos de proteínas, ácidos nucleicos y lípidos (54). Los metabolitos electrofilicos reducidos del Benzonidazol se unen covalentemente a los intermediarios de la nitroreducción con los componentes del parásito, ADN, lípidos y proteínas Inhibiendo la síntesis de proteínas y la cadena respiratoria (107).

El Benzonidazol se considera la primera línea de tratamiento para el Chagas, indicado en la fase aguda, en la fase crónica indeterminada, y en la fase crónica determinada, este fármaco es altamente lipofílico y fácilmente absorbido alcanzando las concentraciones plasmáticas máximas de 2 a 4 horas. En cuanto a la dosificación, en adultos: 5-7 mg/kg vía oral cada 12 horas, administradas a diario durante 60 días y Niños (hasta 12 años): 5-10 mg/kg vía oral cada 12 horas, administradas a diario durante 60 días.

El Benzonidazol no debe ser administrado antes del tercer trimestre de embarazo, si se presenta hipersensibilidad al medicamento o en pacientes con insuficiencia hepática, renal o hemática, de ser administrado se debe realizar vigilancia del recuento de leucocitos.

Existen algunos efectos adversos dentro de los cuales cabe destacar la aparición de exantema en las dos primeras semanas de iniciar el tratamiento y nauseas (108). De presentarse fiebre o purpura, síntomas de parestesias, polineuritis periférica, leucopenia o trombocitopenia, los cuales son efectos relacionados con la dosis debe suspenderse el tratamiento (109).

2.8.1.2 Nifurtimox

El mecanismo de acción de Nifurtimox consiste en originar radicales libres que originan derivados tóxicos del oxígeno como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo que generan un daño por reducción de componentes celulares parasitarios como peroxidación de lípidos, alteraciones de las membranas, inactivación de enzimas, degradación del ADN y mutagénesis aparentemente, debido a niveles bajos de glutatión reducido, carecimiento de catalasa y de glutatión peroxidasa (110). Este fármaco análogo de nitrofuranos tripanocida actúa contra las formas amastigotes y tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi*.

La formación de estos radicales inicia una vez las flavoproteínas actúan sobre el grupo nitro de las moléculas R-NO₂, produciendo R-NO₂⁻, este radical intermedio produce una reducción parcial del oxígeno lo que regenera la droga.

El oxígeno (O₂) posteriormente pasa a peróxido de hidrogeno (H₂O₂) gracias a la enzima superóxido dismutasa (SOD), la unión de O₂ con H₂O₂ en presencia de Fe³⁺ forman el radical libre hidroxilo, este radical altera la estructura de macromoléculas biológicas como lípidos, proteínas y DNA del parásito (111).

Nifurtimox está contraindicado en los pacientes con insuficiencia hepática y renal, mujeres embarazadas o en estado de lactancia.

La dosis recomendada en Adultos es de 8-10 mg/kg/día vía oral cada ocho horas en tres tomas separadas luego de ingerir alimentos durante 30 a 60 días siendo esta mejor tolerada por los niños cuya dosis es de 15-20 mg/kg vía oral en cuatro tomas separadas cada ocho horas. Ha demostrado ser efectivo en la fase aguda, fase crónica indeterminada y fase crónica determinada de la enfermedad. Los efectos adversos son más frecuentes en los adultos cursando con anorexia, pérdida de peso, manifestaciones gastrointestinales como náuseas, vómitos, dolor abdominal,

dolor de cabeza, diarrea, dermatitis y compromiso del SNC con insomnio, alucinaciones y psicosis llevando a la suspensión del tratamiento de presentar polineuritis periférica (112).

2.8.2 *Perspectiva de medicamentos*

El tratamiento convencional no es efectivo en la fase crónica e la enfermedad, y no es recomendado emplearlos para tratar casos de Chagas en mayores de 55 años o con afección cardíaca avanzada debido a la variedad de efectos adversos manifestados, para tales casos se han incorporado otras alternativas como Itraconazol y Alopurinol los cuales han demostrado el mejoramiento de la enfermedad en el 44% de los tratados con el Alopurinol y el 53% de los tratados con Itraconazol en cuanto a la evaluación electrocardiográfica se observa la normalización en el 36,5% para Alopurinol y 32.6% a 48,2% con Itraconazol (113) obteniendo un porcentaje a favor de 20% de los casos, con 50% de mejoría de las alteraciones electrocardiográficas (112).

2.8.2.1 *Itraconazol*

Es un derivado sintético del Imidazol que disminuye la síntesis del ergosterol el cual contiene el parásito inhibiendo la citocromo P450 dependiente de la lenosterol 14 de metilasa sin afectar el colesterol que contiene el humano ya que estos difieren por la presencia de un grupo metilo 24 y dobles enlaces en A7 y A22. Puede originar insuficiencia hepática. La dosis recomendada es 6 mg/kg/día vía oral por 120 días dividido en dos tomas (23).

2.8.2.2 *Amiodarona*

Para tratar las arritmias ventriculares características de la fase crónica de la enfermedad se ha incorporado también este fármaco (111) como nuevo tratamiento obteniendo reducción en los efectos adversos, este fármaco emplea el mismo mecanismo de acción que Itraconazol, es inhibidor de ergosterol del cual requiere el parásito para la viabilidad celular y proliferación en todos sus estadios, además trastorna la regulación del calcio de los parásitos (6). Recomendado en dosis de dosis de 600-800 mg/día por 10 días y mantenimiento de 300 mg/día (114).

2.8.2.3 Alopurinol

El mecanismo de acción de este fármaco, consiste en la inhibición de la síntesis de proteínas y purinas ya que el parásito no es capaz de sintetizarlas como el hombre, este análogo de la hipoxantina disminuye la producción de ácido úrico al inhibir la conversión de hipoxantinas en xantina. La dosis establecida es de Dosis 8,5 mg/kg/día vía oral durante 60 días dividido en dos tomas(107).

2.8.2.4 Fexinidazol

En el año 2014 el Congreso Internacional de Parasitología (ICOPA) presentó un nuevo fármaco en estudio, este es un 5-nitroimidazol para pacientes Chagasicos que cursan la fase crónica indeterminada de la enfermedad administrando una dosis de 200 mg/kg durante cinco días (115). El Fexinidazol se metaboliza para producir un metabolito sulfóxido seguido de metabolismo posterior a un derivado de sulfona (116).

Pertenece al grupo de drogas nitroimidazol por lo es un tripanocida que forma radicales libres los cuales originan derivados tóxicos del oxígeno como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo (117).

2.8.3 Esquema terapéutico

En diferentes casos de Chagas, como el caso de la infección congénita (118), se indica Nifurtimox en dosis de 10 mg/k/día durante 60 días, fraccionado cada 8 horas, garantizando mejores resultados de ser tratado en el primer año de vida, lo cual se logra mediante un diagnóstico precoz que se confirma después de los 9 meses de vida, por persistencia de serología positiva, una vez los anticuerpos positivos maternos han desaparecido. La mayoría de casos se presentan asintomáticos, sin embargo debe realizarse diagnóstico diferencial con el síndrome de Torch al presentar sintomatología similar al recién nacido Chagásico.

De adquirir la enfermedad de Chagas de manera accidental (119), se debe confirmar la contaminación del objeto o muestra con el parásito *Trypanosoma cruzi* y la infección posterior de la persona (serología y PCR) luego de 21 días, una vez confirmado, de manera inmediata iniciar el tratamiento con Nifurtimox 10 mg/k día, durante 15 días. En esta categoría se encierra la contracción de la enfermedad por transfusión sanguínea y vectorial.

Los pacientes con enfermedad de Chagas crónicos que presentan co-infección con VIH o pacientes inmunosuprimidos (54), debe realizarse seguimiento con PCR semanal y administrar tratamiento basándose en el número de células CD4 (Tabla 5). Administrando Nifurtimox 8-10 mg adultos (10-15 mg/kg en niños), Benzonidazol 5 mg/kg en adultos y 5-8 mg/kg en niños durante cinco meses o más dependiendo de la evolución del paciente.

Tabla 5. Valor límite de linfocitos CD4 para iniciar tratamiento antichagásico según grupo etario.

Valor límite de linfocitos CD4 para iniciar tratamiento antichagásico	
Grupo etario	Células/mm ³
0- 3 meses	1600

3 meses - 6 meses	1800
6 meses -12 meses	1400
12 meses- 24 meses	1300
24 meses - 6 años	700
6 años -12 años	650
12 años -18 años	530
>18 años	200

Existen cepas de *Trypanosoma cruzi* resistentes al tratamiento con Benzonidazol y Nifurtimox como la Tipo III estudiada por diversos autores entre ellos Camandadora y cols (120) en contraposición con la Tipo II y Tipo I quienes estudian la susceptibilidad de cepas altamente resistentes , sin embargo esta relación entre cepas no es siempre evidente como lo demuestra Mejia AM y cols (121) quienes estudiaron cepas de *Trypanosoma cruzi* selváticas y domesticas procedentes de Colombia obteniendo resistencia para los dos tipos. El tratamiento sigue entonces en controversia y aún más en la fase crónica de la enfermedad.

Como anteriormente se mencionó, no se ha encontrado evidencia suficiente a favor del uso de Nifurtimox y Benzonidazol en el tratamiento de la cardiopatía Chagásica grave y los efectos adversos que provoca. Sin embargo el benzonidazol en pacientes que cursan la fase crónica de la enfermedad de Chagas detiene la progresión de las lesiones cardiacas, como la miocardiopatía infecciosa y el estado protrombótico asociado a la presencia del parásito en la sangre, lo que actualmente lo confiere como el mejor tratamiento en las diferentes fases (122).

2.8.4 Intervención en el metabolismo del parásito

2.8.4.1 Bloqueo de la proteína Cruzipaina

Esta cistein proteasa es responsable de la mayor parte de la actividad proteolítica en los diferentes estadios del parásito por lo que inhibidores específicos son capaces de impedir la proliferación tanto de epimastigotes extracelulares como de amastigotes intracelulares, así como inhibir la transformación epimastigote-tripomastigote metacíclico in vitro (123). En este grupo de drogas se encuentran las thio-alquil-semicarbazonas (124).

2.8.4.2 Inducción de estrés

Mediante la inhibición de estrés oxidativo del metabolismo de tripanotona el cual mantiene el nivel de óxido-reducción celular se convierte en uno de los agentes anti *Trypanosoma cruzi* selectivos de estudio para atacar el microorganismo (125).

2.8.4.3 Inhibición de metabolismo de pirofosfatos

Estos inhibidores del metabolismo de pirofosfatos alteran la adaptación del microorganismo al estrés ambiental y el almacenamiento de polifosfatos y cationes, función propia del organelo acidocalcisomas del parásito al igual que el ingreso y salida de calcio de la matriz acidocalcisomal. Dentro de este grupo se describe fármaco risedronato, pamidronato aunque al momento no han sido probados para su uso (126), se espera la generación de dichas drogas que actúen contra estas sustancias.

2.8.5 Resincronización cardíaca

Se ha optado por terapias alternas que sean útiles en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca; las primeras manifestaciones de la enfermedad son las arritmias y en etapas más avanzadas, miocardiopatías dilatadas, por lo que el uso

de marcapasos biventricular , metodología introducida en 1990 por Mower (127) puede causar mejora de los síntomas del estadio crónico de la enfermedad, reduce la morbilidad y mortalidad de los pacientes con insuficiencia cardíaca avanzada asociada a aparición de cardiomegalia, fenómenos tromboembólicos, disfunción sinusal, arritmias auriculares y/o ventriculares, bloqueos sinoatriales, aurículo-ventriculares e intraventriculares, y aneurismas ventriculares (128).

2.8.6 Vacunas contra *Trypanosoma cruzi*

En cuanto a la vacuna contra el mal de Chagas, la OMS reporta que no existe en la actualidad vacunas preventivas o terapéuticas, el método más eficaz para prevenirla en América Latina es el control vectorial (106), la variabilidad genética y mecanismo de invasión silenciosa son algunos de los desafíos que se presentan en la detección temprana de la enfermedad lo que convierte en un reto el diseño de vacunas, sin embargo gracias a los avances científicos en Abril de 2017 el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y la Universidad de Buenos Aires (UBA) publico el diseño de una molécula que emplea tres proteínas que combina las características inmunogénicas más importantes de tres antígenos del *Trypanosoma cruzi* la cual llamaron Traspaina.

Las proteínas seleccionadas son, Cruzipaina, la principal cistein proteasa, esta glicoproteína está presente en todos los estadios del parásito y cumple un rol clave en su internalización, digestión lisosomal de proteínas, exógenas o del propio parásito y protección contra la respuesta inmune del hospedador, por destrucción del fragmento Fc de las inmunoglobulinas ligadas a los respectivos antígenos lo que impide la activación del complemento (129). Una segunda proteína de 83 kDa expresada en la membrana plasmática de la forma amastigote del parásito (ASP2) antígeno expresado exclusivamente durante la etapa intracelular del parásito (130) y una última proteína, Transialidasa anclada gracias a una fosfolipasa C puede

liberarse al torrente sanguíneo y liberar ácido siálico el cual puede unir a las mucinas del parásito, con el consiguiente efecto disuasorio de la respuesta inmunitaria (98).

Esta vacuna promueve la formación de LT CD4+ y potencia la respuesta de LT CD8+, fue probada en ratones con el empleo de diferentes adyuvantes como Freund, oligodesoxinucleótidos CpG (ODN-CpG) y un producto de origen bacteriano: c-di-AMP el cual controla el metabolismo de la pared celular, respuestas de estrés osmótico y esporulación, este último con mayor éxito logró disminuir los parámetros de daño analizados durante la fase crónica de la infección (27) .

Por otra parte, la investigadora de medicina Jain G de la Universidad de Texas, también sugiere una vacuna de tercera generación o vacuna de DNA, empleando los antígenos TcG2 y TcG4 los cuales inducen la producción de anticuerpos contra diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi* nombrada TcVac3 en la que usaron una combinación de vectores de ADN de origen bacteriano en los cuales se insertan los genes que codifican a las proteínas de interés y bajo el control de la secuencia corta de DNA del promotor de la cepa atenuada del virus Vaccinia (MVA), método conocido como *DNA-prime/MVA boost* (131).

Además de esta vacuna de DNA, Matos y colaboradores (132) quienes emplean *Salmonella* como un sistema de entrega de vectores de ADN conteniendo el polipéptido Tc52 de *Trypanosoma cruzi* con una respuesta importante de células Th1 y anticuerpos mediadores de lisis de los tripomastigotes en presencia de complemento y capaces de inhibir la invasión de células de mamífero in vitro, arrojando como dato importante después de estudiados los diferentes dominios, que la porción N-terminal de Tc52 se posiciona como un candidato óptimo para el desarrollo de una vacuna y que confiere la máxima protección contra la infección.

Esta inmunización primaria con ADN empleando los antígenos específicos, seguida de un refuerzo con los mismos antígenos pero como proteínas recombinantes

(TcVac3), estimula la respuesta inmune humoral y celular de mejor manera que empleando únicamente el DNA (TcVac1). Esta vacuna logro en el experimento realizado con ratones los cuales reconocieron los antígenos por anticuerpos líticos y células T CD8 la disminución de la organomegalia y el control de la infección en un 96% (133). Las vacunas compuestas de ADN son capaces de ofrecer protección ante un desafío con cepas patógenas de *Trypanosoma cruzi*; con lo que concluyeron que TcVac3 provocó inmunidad de células T efectoras de tipo 1 controlando la infección por *Trypanosoma cruzi* y posteriormente, el inicio de respuestas antiinflamatorias previno la inflamación crónica y la miocarditis en ratones Chagásicos (131).

Otro método terapéutico potencial a futuro es el expuesto a mediados del 2017 por la investigadora Pamela Cribb y su equipo de trabajo en el artículo "*Trypanosoma cruzi High Mobility Group B (TcHMGB) can act as an inflammatory mediator on mammalian cells*", quienes estudiaron una proteína clave de *Trypanosoma cruzi* denominada TcHMGB, por su nombre en inglés *High Mobility Group B* dicha proteína cumple funciones a nivel de núcleo y se encuentra implicada en funciones vitales del parásito, además de ello genera una respuesta en el hospedero mamífero, mediante diferentes ensayos in vitro e in vivo, los investigadores demostraron que esta proteína puede liberarse al exterior del parásito y así cumplir funciones de mediador inflamatorio induciendo la expresión de citoquinas pro inflamatoria y anti inflamatorias, dicha proteína es útil teniendo en cuenta que los mamíferos poseen proteínas que median la función de alarma tales como las DAMP (patrones moleculares asociados de peligro (o daño) segregadas por células necróticas que avisan al sistema inmune que algo está sucediendo, esta es la función de la HMGB-1, los investigadores apuntan hacia la importancia de la Tc HMGB teniendo en cuenta que la proteína del parásito podría tener un papel en la respuesta inmune y así mismo en la patogénesis de la enfermedad de Chagas, probablemente incorporándose con las funciones de las moléculas DAMP de la

célula huésped (134). Sin embargo este hallazgo es algo que hasta el momento tiene un desarrollo limitado pero que apunta hacia grandes avances.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La revisión llevada a cabo fue tipo documental, se realizó una recopilación de información a partir de libros, artículos científicos de investigación, artículos de revisión, conferencias, documentos web y tesis doctorales sobre la enfermedad de Chagas, inmunología del parásito, donde se resaltan los diversos mecanismos de evasión inmune; además de estudios sobre nuevas perspectivas terapéuticas.

3.2 UNIVERSO

Literatura científica publicada en el mundo sobre *Trypanosoma cruzi*.

3.3 POBLACIÓN

Libros, artículos científicos de investigación, artículos de revisión, conferencias, documentos web y tesis doctorales comprendidos en el periodo del año 2000 al 2018 relacionados con la enfermedad de Chagas, inmunología del parásito *Trypanosoma cruzi* y su tratamiento.

3.4 MUESTRA

Corresponde a ciento seis (106) libros, artículos científicos de investigación, artículos de revisión, conferencias, documentos web y tesis doctorales referentes a los mecanismos de evasión de la respuesta inmune por parte del parásito *Trypanosoma cruzi* y las nuevas perspectivas terapéuticas en busca de combatir la enfermedad.

3.5 CRITERIOS

3.5.1 Criterios de inclusión

Libros, artículos científicos de investigación, artículos de revisión, conferencias, documentos web y tesis doctoral del mundo publicado en internet, bibliotecas y bases de datos referente a la respuesta inmune, mecanismos e evasión y posibles medidas terapéuticas de la enfermedad de Chagas publicados en el periodo del año 2000 al 2018.

3.5.2 Criterios de exclusión

Literatura que requería de inversión monetaria para acceder.

3.6 PROCEDIMIENTOS

La revisión y obtención de información se llevó a cabo mediante la búsqueda de información bibliográfica en fuentes de datos académicas como Science Direct, Google Académico, PubMed, Biblioteca Luis Ángel Arango; mediante base de datos de MEDLINE y en revistas científicas como Medicina Experimental y Salud Publica, Federación Argentina de Cardiología (FAC), Revista española de Salud Pública.

3.6.1 *Obtención de la información*

La información seleccionada fue organizada en una base de datos empleando el programa Excel clasificada según tema, tipo de documento, país, idioma y año de publicación, teniendo en cuenta un periodo de tiempo comprendido entre el año 2000 y 2018.

3.6.2 *Análisis de la información*

Publicaciones sobre Generalidades de la enfermedad de Chagas, agente etiológico y su ciclo de vida, vector, vías de transmisión, manifestaciones clínicas diagnóstico, epidemiología, haciendo énfasis en la respuesta inmune del parásito y su tratamiento con la cual se realizó una estadística básica descriptiva analizando la información según incidencia en cada parámetro ya descrito, fue organizado en graficas de barras, lineales y tipo torta de una y doble entrada.

4. RESULTADOS

4.1 TIPO DE DOCUMENTOS

Se llevó a cabo la elección, revisión y análisis de 106 documentos en total, dentro de los cuales se tuvieron en cuenta los provenientes de literatura científica, conferencias, libros, documentos web y tesis, seleccionados de acuerdo a los criterios de inclusión, encontrando que la mayoría corresponden a artículos científicos con un 66% en el total de la revisión (Figura 19).

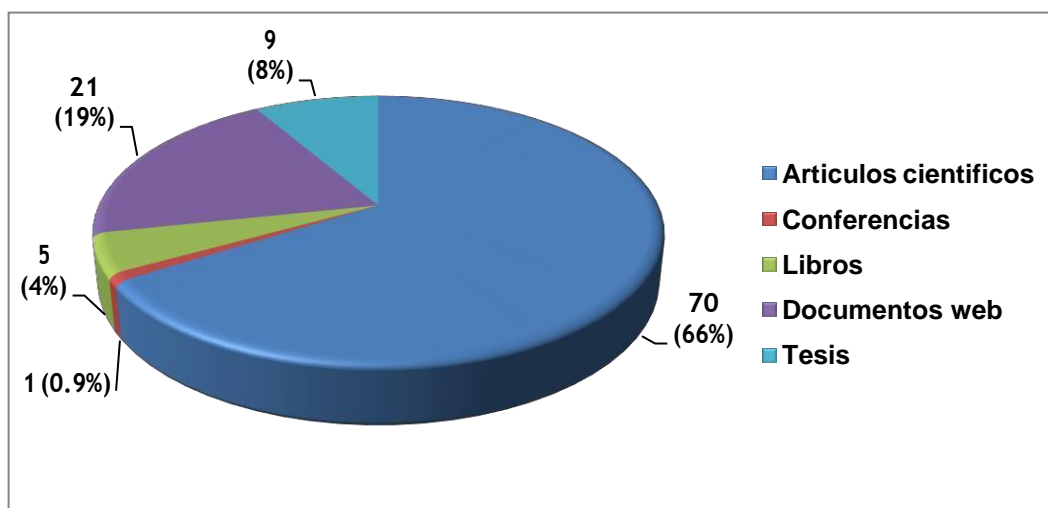


Figura 19. Distribución de los tipos de fuente bibliográfica consultada.

4.2 AÑO DE PUBLICACIÓN

Fueron seleccionados los documentos desde el año 2000 hasta 2018 obteniendo la mayor información publicada correspondiente al año 2012 (11%), contrario al año 2018 (0.9%) del que se encontró el menor número de documentos consultados (Figura 20)

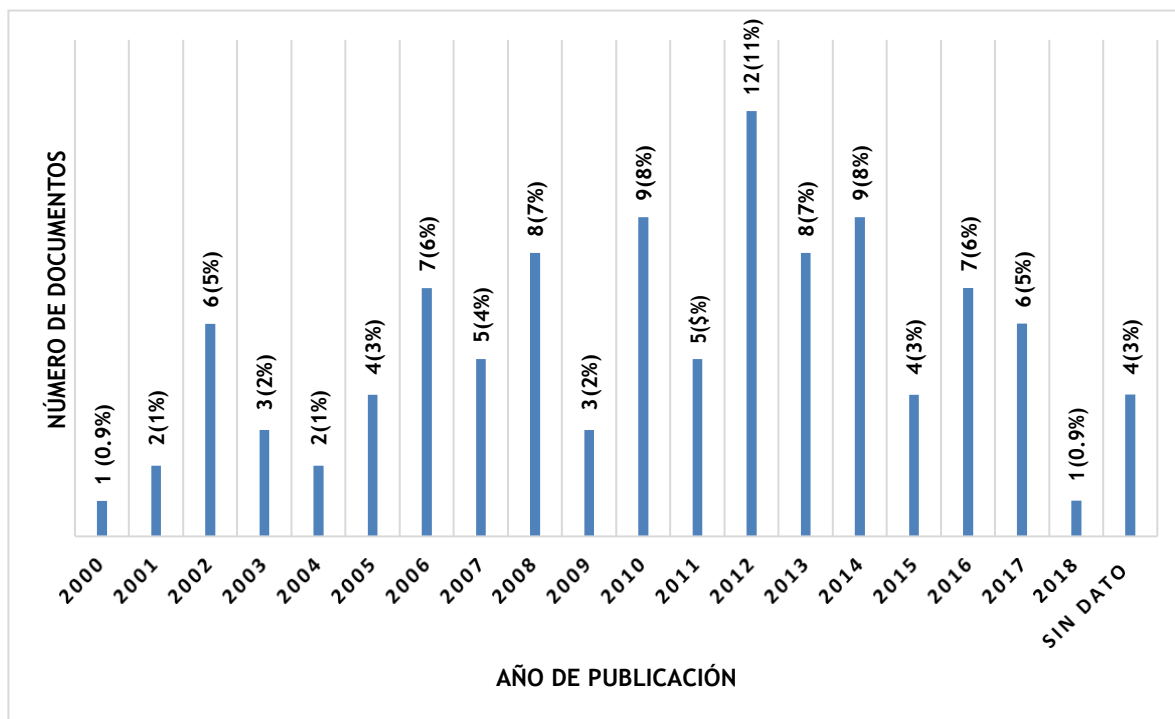


Figura 20. Organización de fuente bibliográfica adquirida según año de publicación.

4.3 PAÍS DE PUBLICACIÓN

El origen de los documentos de publicación en mayor porcentaje es de Colombia, 18 documentos (17%) dentro de la fuente bibliográfica consultada, centrando la

investigación en un ámbito local que permita conocer la situación de la enfermedad de Chagas en el país (Figura 21).

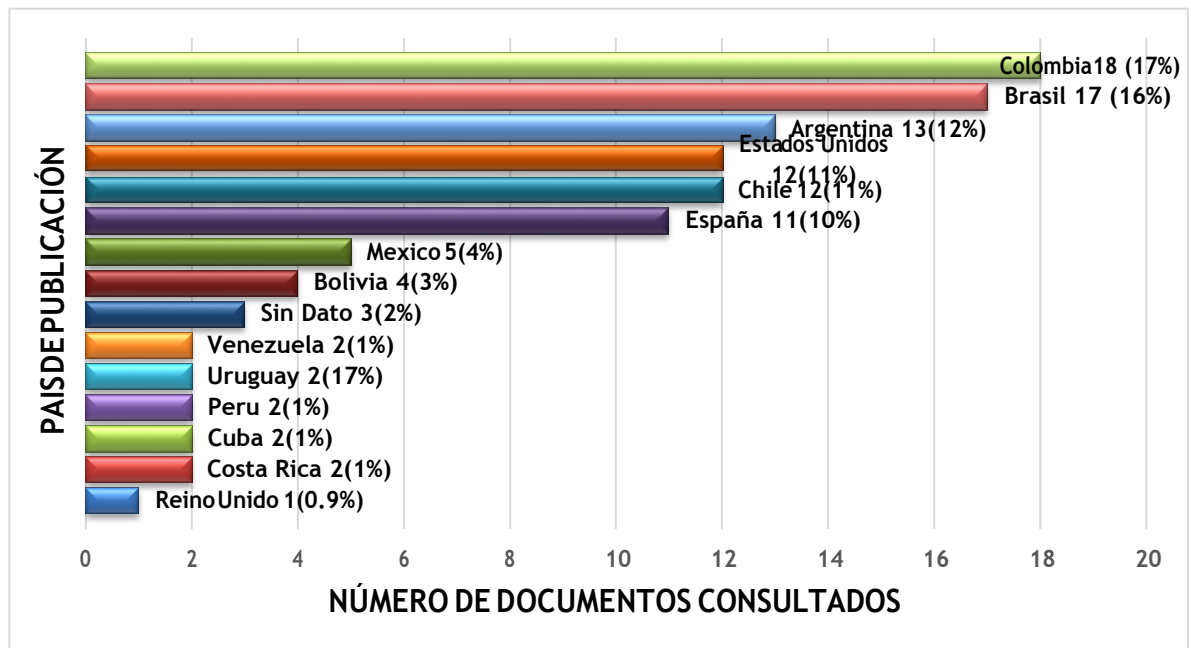


Figura 21. Selección de bibliografía según el país de publicación.

4.4 IDIOMA DE PUBLICACIÓN

Se encontró que la mayoría de los documentos empleados en esta revisión estaban escritos en español, 67(63%) frente al inglés y el portugués (Figura 22).

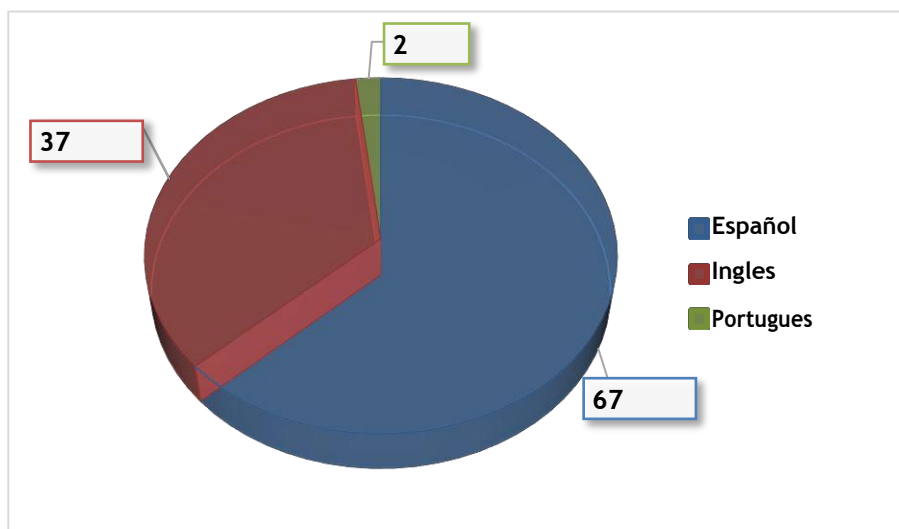


Figura 22. Distribución según el idioma de publicación.

4.5 TEMA DE LOS DOCUMENTOS

Relacionando la bibliografía consultada, en su mayoría trata acerca de los mecanismos de evasión del parásito *T. cruzi* 25 (23%) y los nuevos avances en cuanto a tratamiento para la enfermedad de Chagas 39 (36%). (Figura 23).

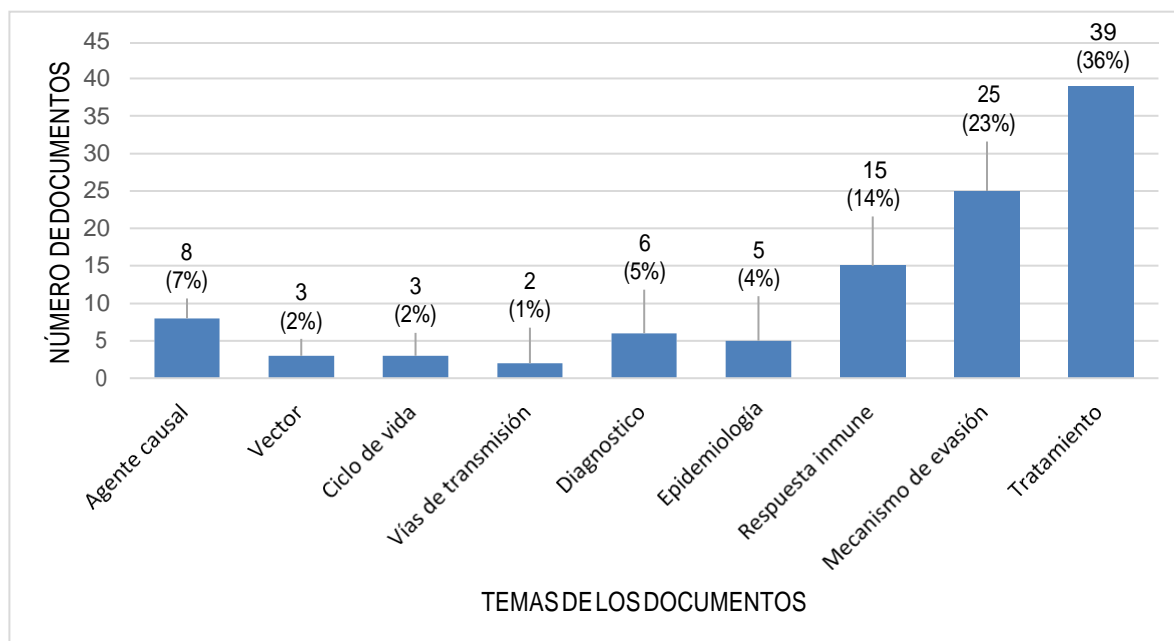


Figura 23. Selección de temática del cuerpo de trabajo.

4.6 MECANISMOS DE EVASIÓN INMUNE

Uno de los temas de interés de la presente revisión se centró en los diversos mecanismos de evasión por parte del parásito *T.cruzi* encontrando una mayor fuente de información (28%) en cuanto la inactivación del complemento (Figura 24).

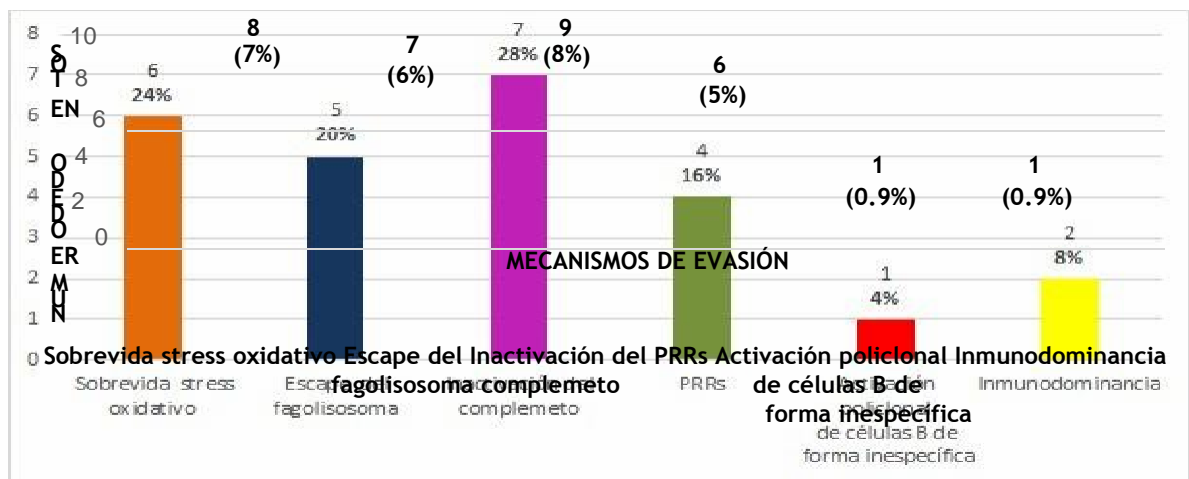


Figura 24. Mecanismos de evasión inmune del parásito *T.cruzi*.

4.7 TRATAMIENTOS UTILIZADOS

4.7.1 Tratamientos convencionales

La información analizada reportó como tratamiento convencional a Nifurtimox y Benznidazol en el tratamiento de la enfermedad de Chagas. (Figura 25)

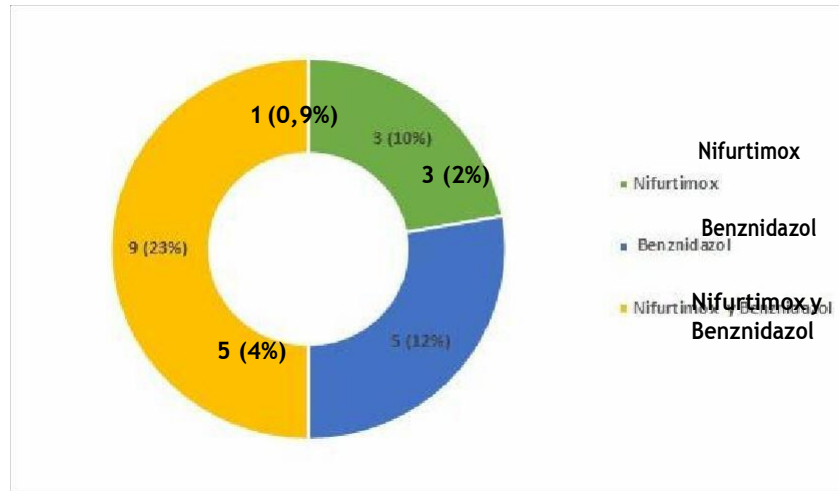


Figura 25. Documentación según el tratamiento convencional de la enfermedad de Chagas.

4.7.2 Perspectivas terapéuticas

Estas están dirigidas a nuevos medicamentos como Fexonidazol e Itraconazol del que se obtuvieron la mayor parte de los artículos consultados 8% para cada uno, (Figura 26).

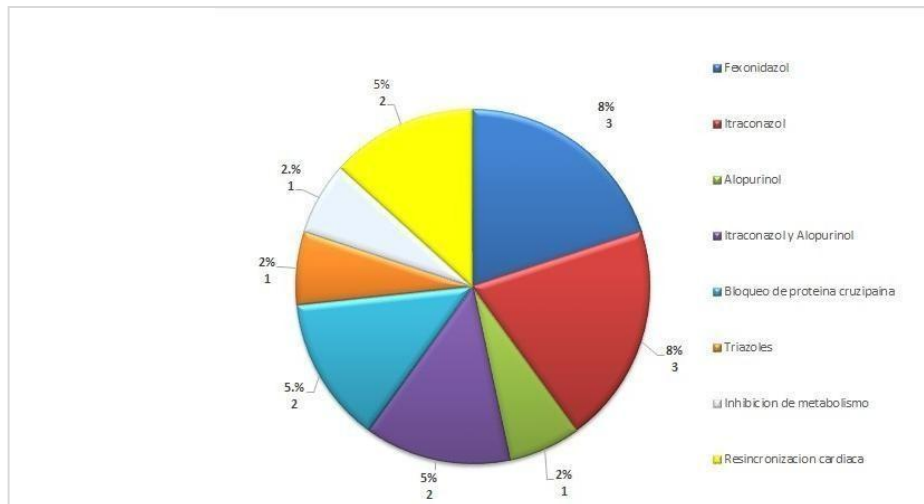


Figura 26. Selección de la información según las perspectivas terapéuticas para la enfermedad de Chagas.

4.7.3 Tipos de Vacunas

A manera preventiva se describen diferentes prototipos de vacunas de las cuales se encontró el mayor porcentaje (12%) de información la que emplea las proteínas de *T. cruzi* en su desarrollo (Figura 27).

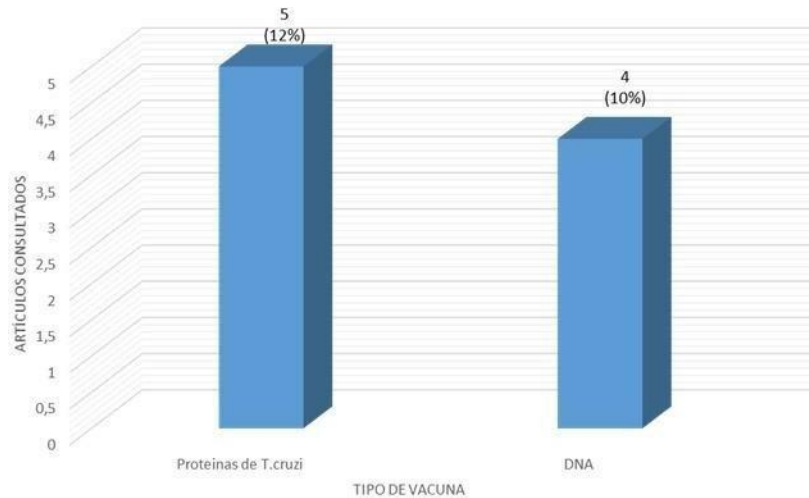


Figura 27. Distribución de la información según los tipos de vacuna empleados para *T.cruzi*

4.8 TRATAMIENTO Y PERSPECTIVAS FRENTE A LA EVASION DEL SISTEMA INMUNE

Del total de artículos referentes a la evasión de la respuesta inmune y tratamiento, 18 relacionaron estas dos variables, para lo cual los tratamientos en su mayoría (8 de 18) fueron dirigidos a impedir o dificultar la invasión del parásito a los diversos tipos celulares.

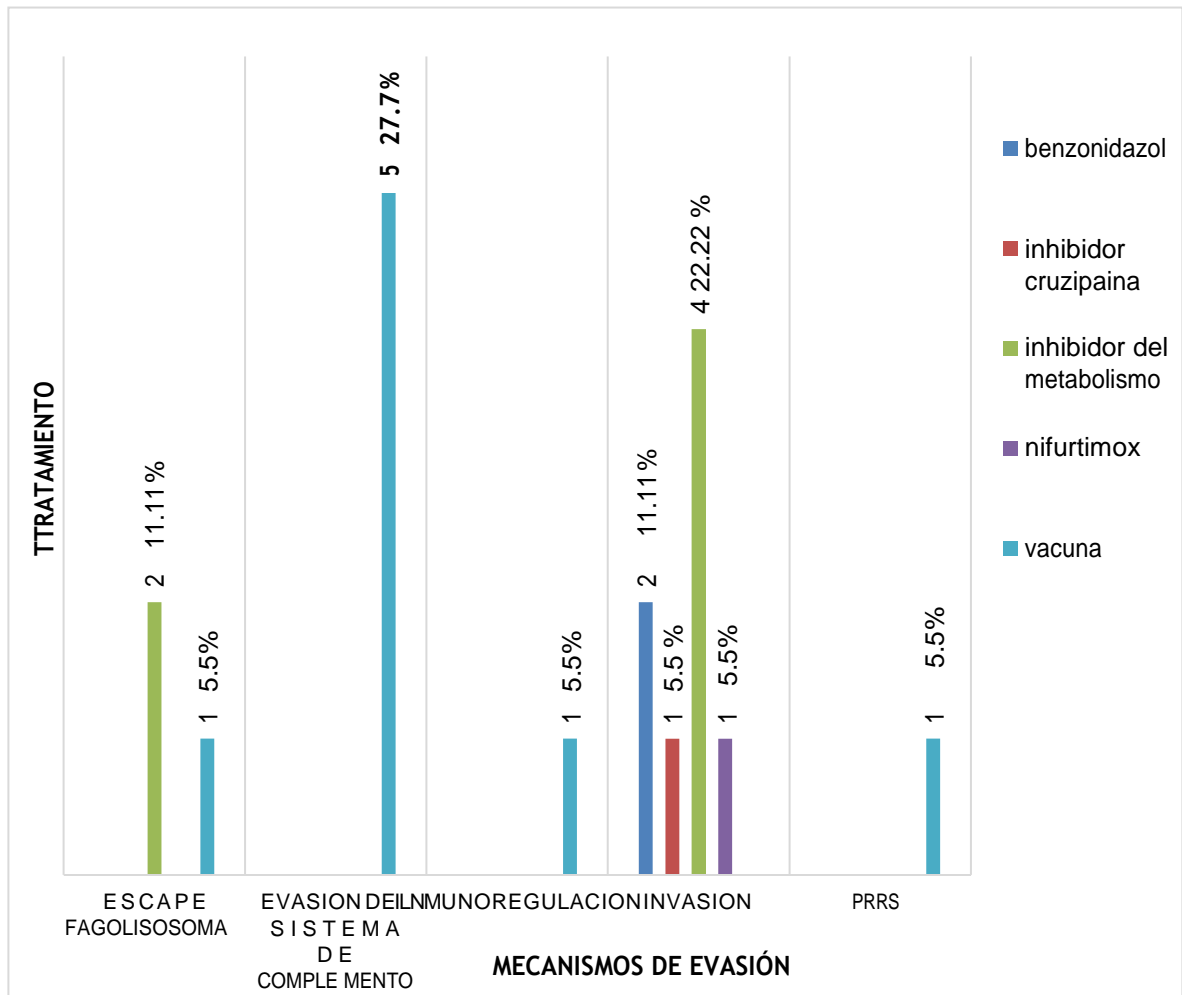


Figura 28. Evasión de la respuesta inmune relacionado con el tratamiento. ESC: Escape del fagolisosoma, EVAS: Evasión del sistema de complemento, INMUNO: Inmunoregulación, INV: Invasión, PRRs: Receptores de patrones de reconocimiento

4.9 ALGORITMOS DIAGNÓSTICOS BASADOS EN LA LITERATURA

Con base en la información de la literatura previamente reportada, a continuación se indican algunos de los procedimientos a realizar para el diagnóstico (que se encuentran ya reportados) y se indica el esquema sugerido por el grupo de investigación para cada una de las vías de transmisión de la enfermedad.

4.9.1 Transmisión vectorial

Tras la contaminación de piel y mucosas con heces de triatóminos infectados con el estadio tripomastigote metacíclico y posterior a la identificación sintomatológica del paciente se procede a buscar formas parasitarias en sangre mediante exámenes directos, seguido de serología con la que se buscara la presencia de la inmunoglobulina dependiente de la fase, finalizando con una prueba confirmatoria para descartar o confirmar al paciente con la enfermedad de Chagas. Para lo anterior se sugiere el siguiente algoritmo diagnóstico. (Figura 29).

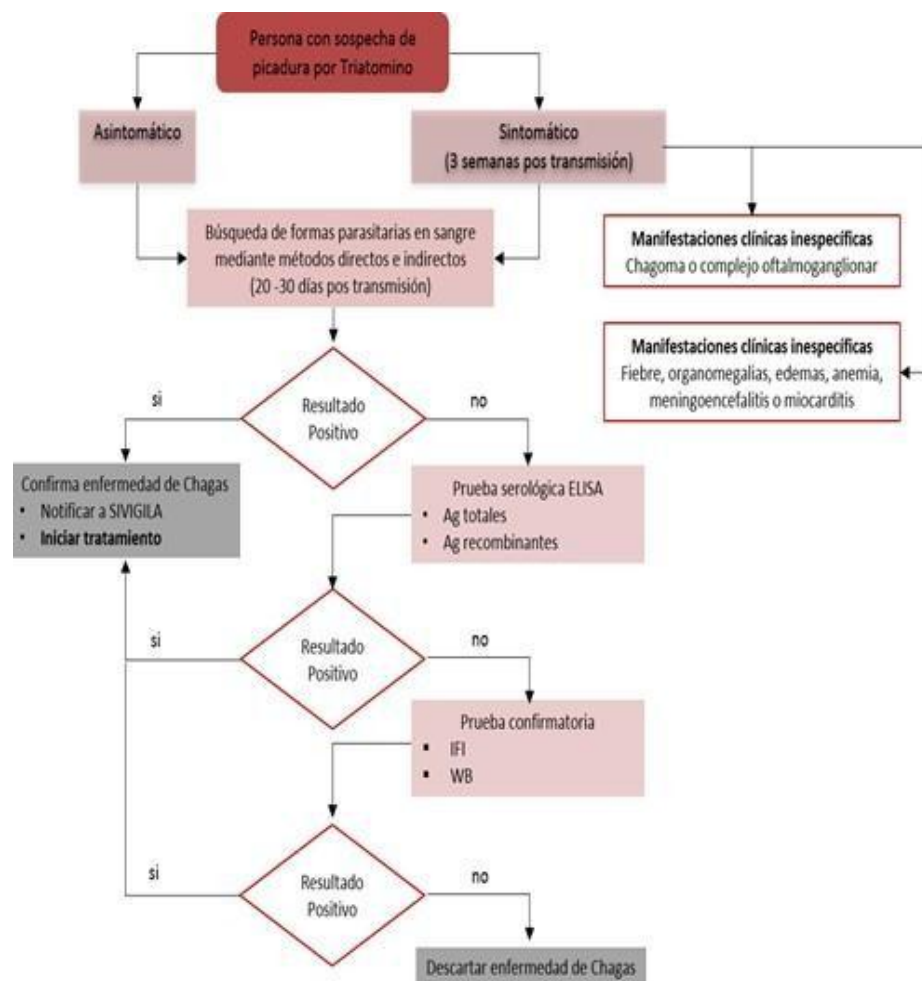


Figura 29. Diagnóstico y esquema terapéutico propuesto en paciente de infección vectorial

4.9.2 Transmisión pos-transfusional

En este tipo de transmisión, los pacientes sintomáticos presentan fiebre, signos clínicos de puerta de entrada, edema, adenopatías satélites, compromiso cardíaco, hepatomegalia y esplenomegalia, sin embargo son detectados durante el período de incubación de la Enfermedad de Chagas transfusional el cual varía entre 28 y 116 días tiempo en el que mediante serología se detectaran los antígenos que confirmen o descarten la enfermedad en el paciente.

El tamizaje en los bancos de sangre es clave a la hora de identificar al paciente donador Chagásico y diferirlo permanentemente, para esto se sugiere el siguiente esquema diagnóstico. (Figura 30).

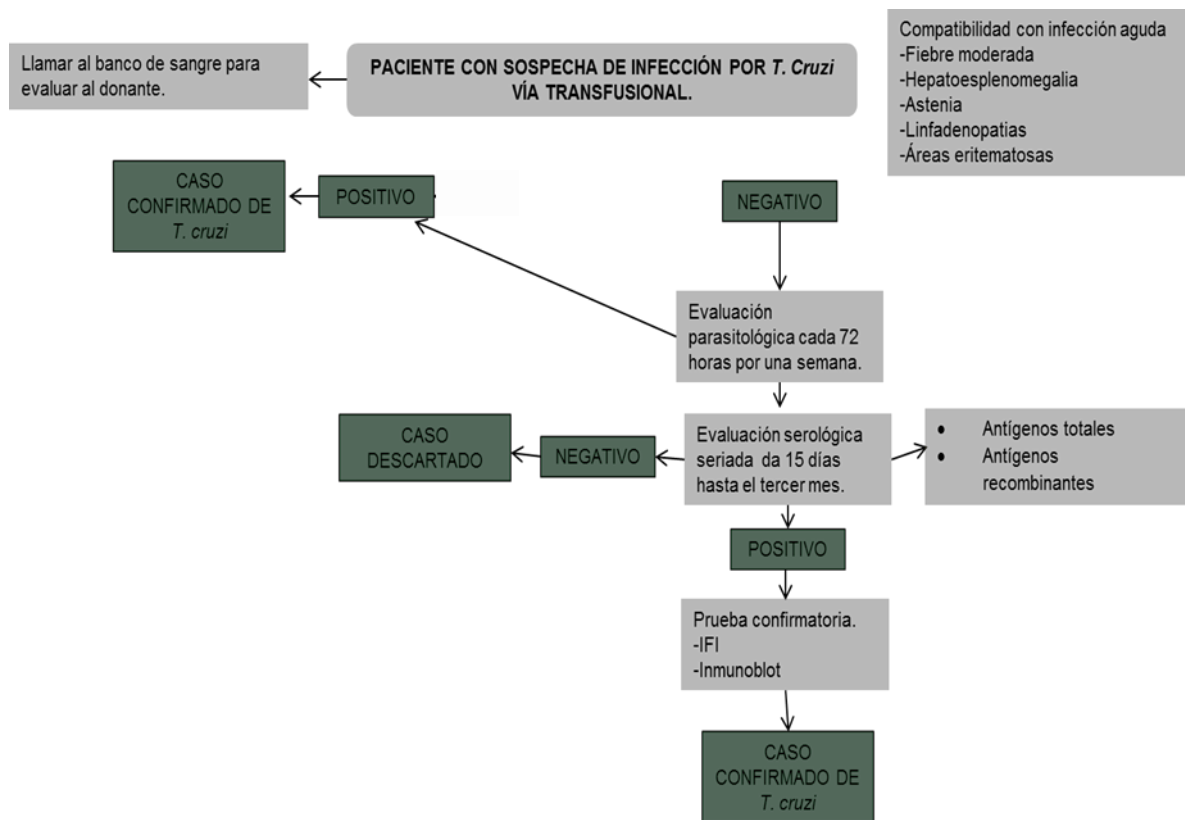


Figura 30. Diagnóstico y esquema terapéutico propuesto en paciente post- transfusional

4.9.3 Transmisión congénita

Con referencia a este tipo de transmisión, Inicialmente el estudio de la enfermedad se hace a través de exámenes parasitológicos que evidencia la existencia de parasitemia, al establecer la negatividad de ello, se estudia serológicamente al niño con sospecha de Chagas congénito, teniendo su primer estudio aproximadamente a los 9 meses descartando así la positividad serológica asociada los anticuerpos transmitidos de la madre al niño.

Es la tercera vía de transmisión más frecuente de la enfermedad de Chagas razón por la cual se debe conocer el esquema diagnóstico (Figura 31).

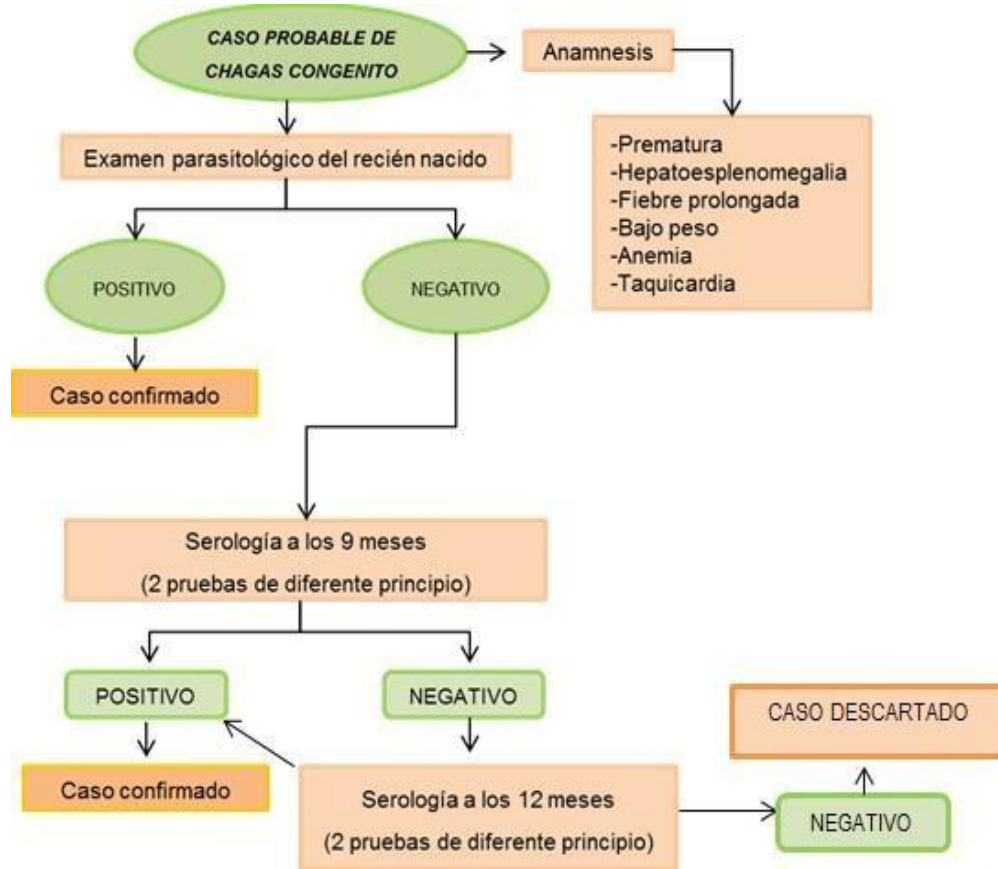


Figura 31. Diagnostico propuesto en paciente congénito

4.9.4 Transmisión en paciente inmunosuprimido

Los pacientes inmunosuprimidos tienen un gran riesgo de contraer la enfermedad de Chagas, por diferentes vías entre ellas la transfusional que se posiciona como una de las más relevantes, teniendo en cuenta la obligatoriedad de las transfusiones en gran parte de dichos pacientes, se hace menester diagnosticar esta enfermedad en los pacientes inmunocomprometidos ya que su déficit en el sistema inmune se asocia a un posible desenlace fatal. Es así que en los pacientes inmunocomprometidos deben tomarse otro tipo de muestras, que permitan la visualización del parásito como biopsias y aspirados y en caso de seguir con

sospecha por antecedentes clínicos y epidemiológicos se sugieren los cultivos aunque claramente estos requieren más tiempo para ser efectivos.

El grado de inmunodeficiencia es influyente en la respuesta a la enfermedad, la inmunodeficiencia es diferente de acuerdo al motivo que la origina. La primoinfección de la enfermedad para estos pacientes en general conlleva manifestaciones clínicas severas sin embargo la fase crónica también es relevante. (Figura 32).

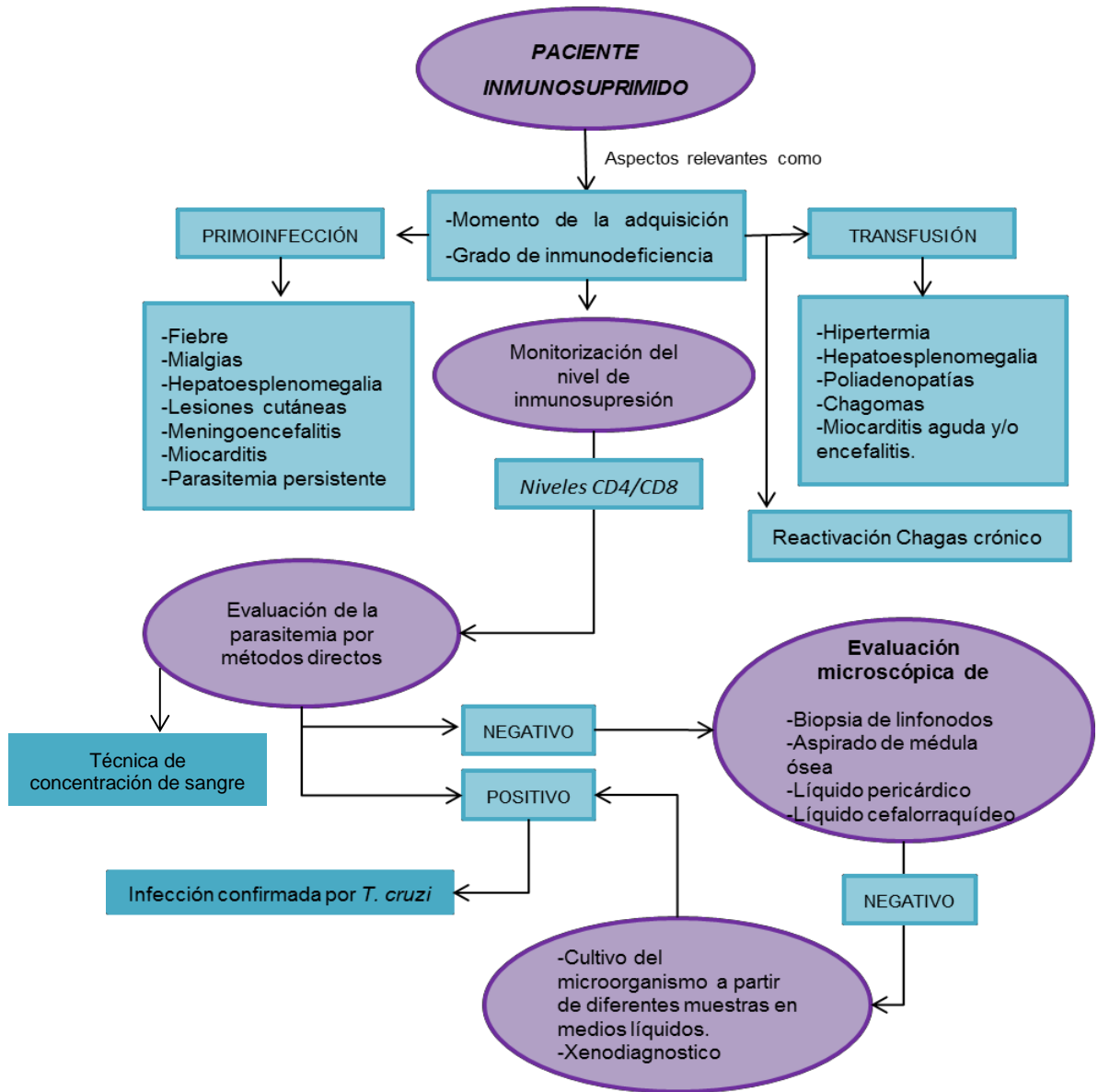


Figura 32. Esquema diagnóstico propuesto en paciente inmunosuprimido

4.9.5 Transmisión Oral

La vía de transmisión oral tiene un aumento significativo a la fecha, es por esto que los exámenes directos en busca de formas parasitarias se complementan con exámenes serológicos y de confirmación para asegurar el buen diagnóstico del paciente. Es necesario tener en cuenta que la anamnesis cumple un papel

importante dentro del diagnóstico, a sabiendas de que es un tipo de contagio poco frecuente, por lo que es menester integrar el trabajo entre el médico y el laboratorio.

Los utensilios de preparación de alimentos, o los mismos alimentos pueden ser infectados con las heces de triatóminos, el diagnóstico se presenta en la (Figura 33).

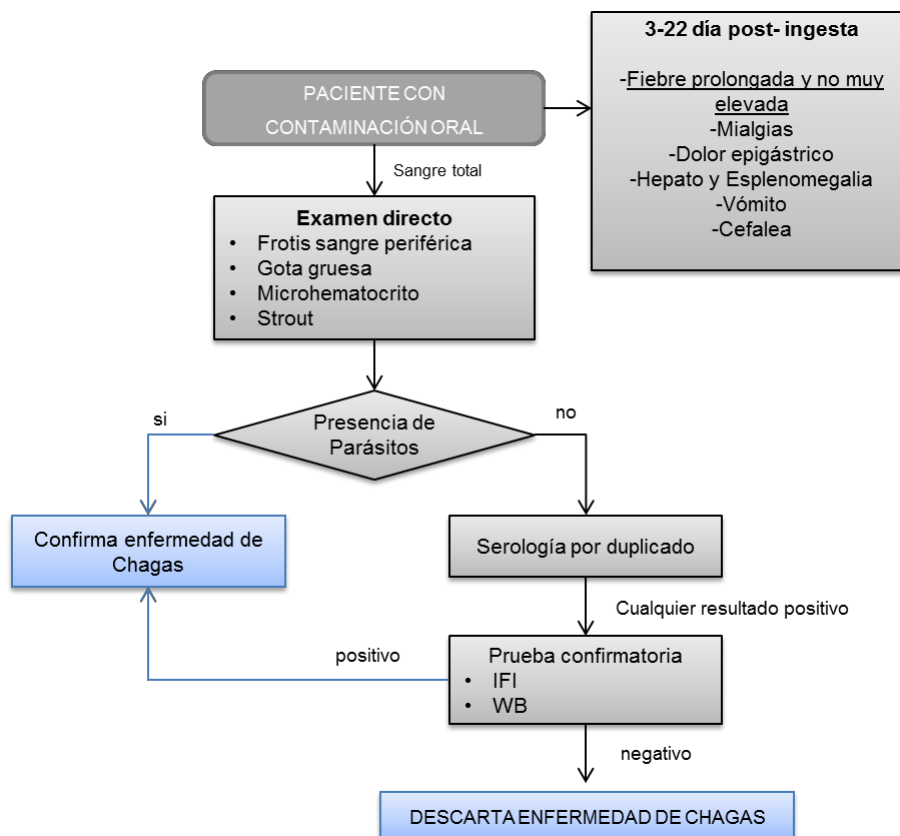


Figura 33. Diagnóstico propuesto Transmisión oral de la enfermedad de Chagas

4.9.6 Transmisión por accidente en el laboratorio

El contagio en el laboratorio es de baja incidencia cuando se manejan las normas y protocolos de bioseguridad adecuados. El procedimiento diagnóstico es similar al de un paciente en estadio agudo. Y los métodos directos resultan con mayor

efectividad en las primeras horas, esto bido a que os serológicos uscamos inmunoglobulinas y estas ardan un poco en aparecer como se ha descrito anteriormente

En laboratorios de investigación y clínicos, es posible contraer la enfermedad, en la (Figura 34) se muestra el esquema diagnóstico.



Figura 34. Diagnóstico propuesto en paciente con enfermedad de Chagas por accidente en el laboratorio.

4.10 ALGORITMO TERAPÉUTICO BASADO EN LA LITERATURA

Llegar a un tratamiento acertado no sería posible sin conocer los algoritmos diagnósticos de cada uno de los eventos que se pueden presentar para contraer la enfermedad de Chagas, conociendo lo anterior, se muestra según la literatura las nuevas perspectivas terapéuticas que se ofrecerían en mejora de lo que hoy se dispone en el mercado según la fase de la enfermedad.

4.10.1 Fase Aguda

Las perspectivas terapéuticas están encaminadas principalmente a dianas del parásito que cumplen funciones vitales en el parásito, es por eso que el empleo de inhibidores del metabolismo de *T.cruzi* constituye una de las estrategias con mejor futuro para el tratamiento, así mismo el uso de compuestos que actúen sinérgicamente con el tratamiento convencional y disminuya los efectos adversos conocidos.

Aunque los tratamientos convencionales son capaces de controlar la enfermedad de Chagas en esta fase, diagnosticarla a tiempo es un problema vigente por lo que se sugiere el siguiente esquema terapéutico que podría ampliar el periodo de tratamiento (Figura 35).

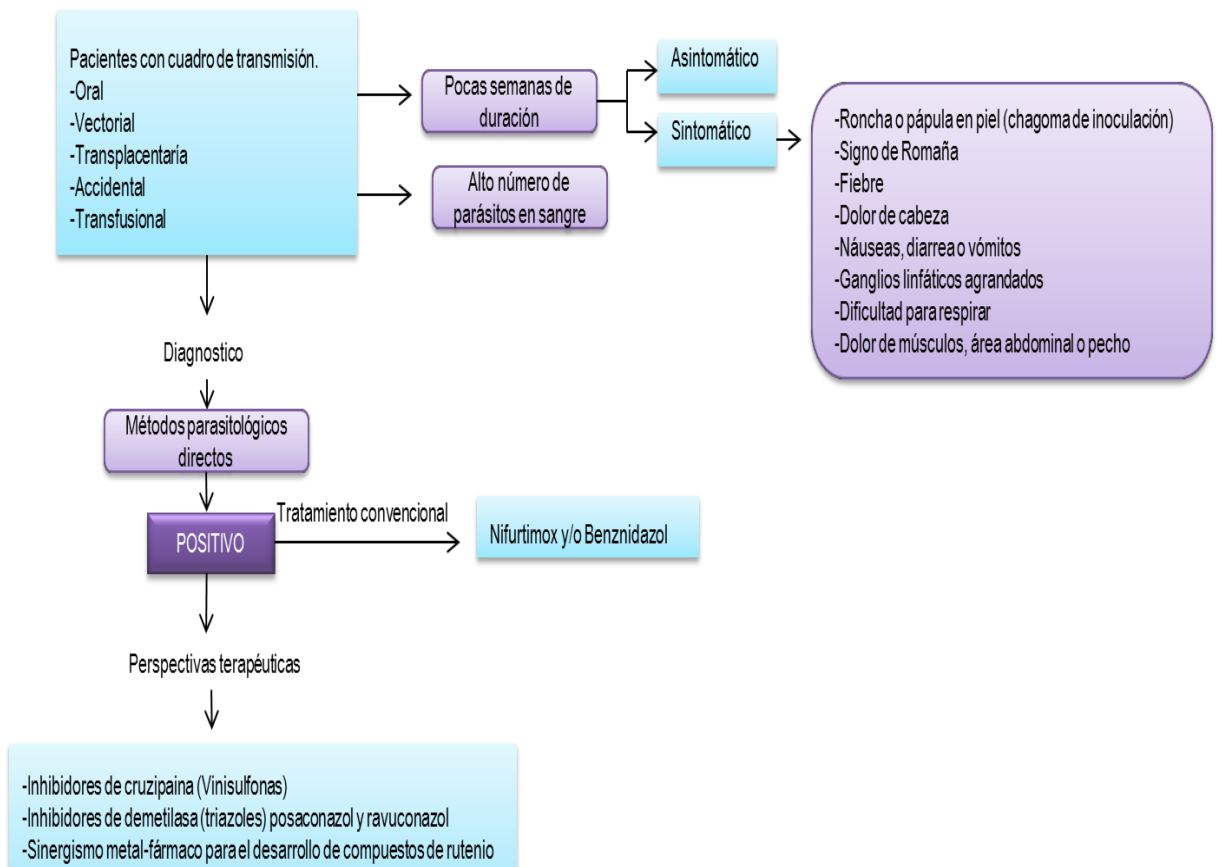


Figura 35. Esquema terapéutico propuesto en la fase aguda de la enfermedad de Chagas.

4.10.2 Fase indeterminada y crónica

Debido a la severidad de la megalias en la fase crónica, la indicación de tratamientos tripanocidas efectivos como itraconazol, alopurinol y fexinidazol minorizarían los efectos de la enfermedad.

La insuficiencia del tratamiento convencional en la fase crónica de la enfermedad ha llevado a presentar diferentes alternativas terapéuticas (Figura 36), algunas de estas se reportan en la literatura con éxito en pacientes Chagasicos.

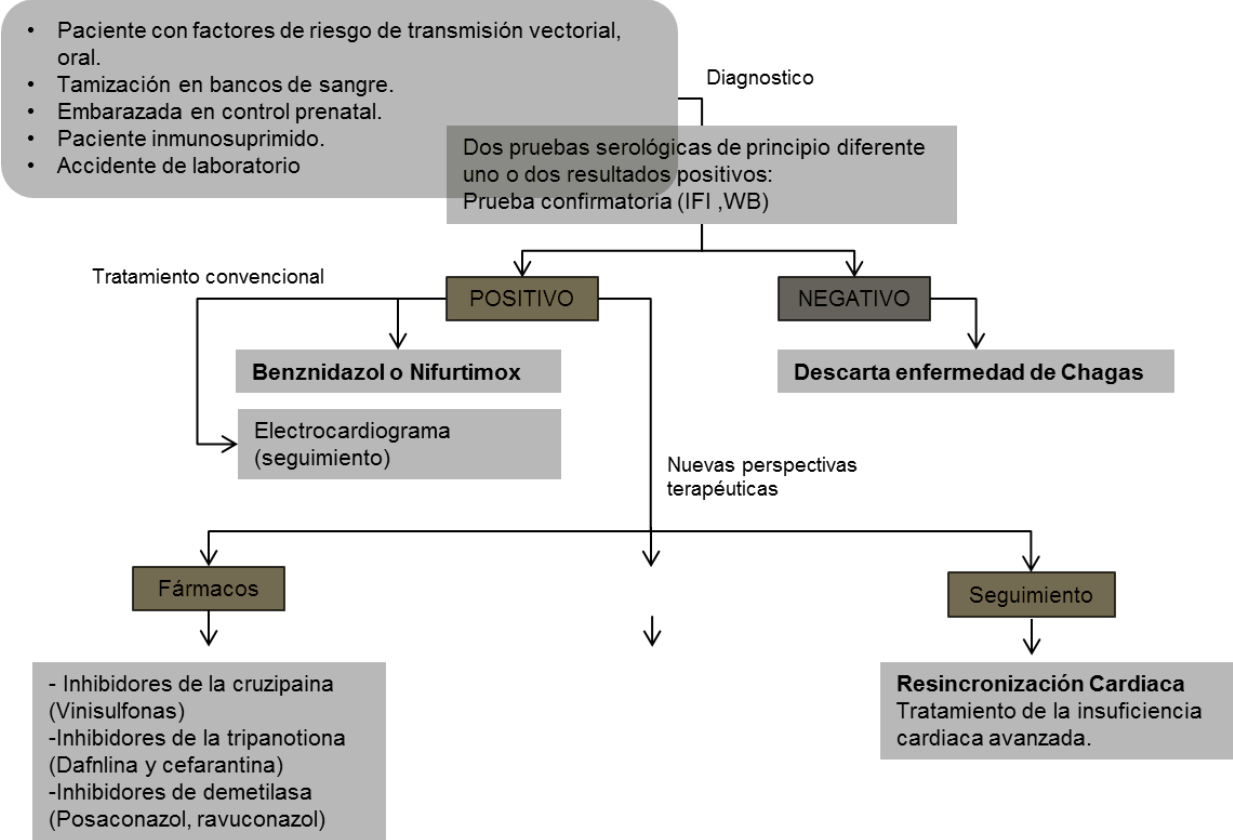


Figura 36 Esquema terapéutico propuesto en la fase crónica de la enfermedad de Chagas.

5. DISCUSIÓN

La presente revisión arroja que la información acerca de la Enfermedad de Chagas y su acercamiento terapéutico fue proveniente de países como Colombia y Brasil en su mayoría, esto podría deberse a que esta entidad es una enfermedad prevalente en los países tropicales, quienes poseen el mayor número de casos Chagásicos, como lo afirma Ciaponni y cols (135) quien hizo una revisión bibliográfica con 4.792 referencias y 143 publicaciones, donde encontró que la mayoría de estudios se publicaron en Suramérica.

De otro lado, la presente revisión evidencio que el año 2012 fue donde se encontró la mayoría de los artículos revisados e igualmente los temas más prevalentes en la revisión fueron diagnóstico, vector, manifestaciones clínicas, respuesta inmune y tratamiento, lo cual coincide con la guía actualizada de atención para el paciente infectado con *T.cruzi* (136) donde no solo se describen los aspectos anteriormente anunciados, también plantea una estrategia de control con la participación de la comunidad. En ese orden de ideas Eric Chatelain (137), en un artículo de revisión sugiere las prioridades a corto plazo frente a la enfermedad de Chagas, siendo la definición de un tratamiento adecuado para los pacientes crónicos, la correcta evaluación de la progresión de los pacientes indeterminados, la investigación en cuanto a nuevos medicamentos y nuevos marcadores de curación y progresión de la enfermedad, los más relevantes.

En cuanto a la evasión del sistema inmune por parte de *Trypanosoma cruzi*, la presente revisión encontró que los documentos más relevantes respecto a los mecanismos de evasión del sistema inmune, corresponden a la evasión del sistema de complemento, lo cual concuerda con lo reportado por Escario y cols (73), quienes indican que en la patología el complemento cumple un gran papel en cuanto a formación de complejos enzimáticos, opsonización de células, liberación de anafilotoxinas proinflamatorias y la formación de un complejo de ataque a

membrana, que son mecanismos importantes en la respuesta de defensa del hospedero frente al parásito. Sin embargo el complemento es potentemente inactivado por *T. cruzi* principalmente por la inhibición de la convertasa de C3, resultado del clivaje de C2 y C4 gracias a las serin- proteasas MASP1 y MASP2 asociada a MBL que reconoce proteínas glicosiladas con manosa en la superficie del tripomastigote. Para evadir el sistema de complemento de forma indirecta, el parásito emplea la enzima Prp-b (prolina racemasa b) la cual es capaz de producir la activación policlonal de linfocitos B inespecíficamente como lo expone Argüello F (77). Dentro de estos factores de virulencia se encuentran también las transialidasas las cuales toman el ácido siálico de glicoconjugados del hospedador y los transfiere a mucinas en la superficie del parásito esto permite la evasión de la activación del complemento y la cruzipaina la cual participa en el proceso de metacyclogenesis(98)

Por otro lado la sobrevida al estrés oxidativo y el escape del fagolisosoma se encontraron en el segundo y tercer lugar, con respecto a la cantidad de artículos encontrados frente al tema de mecanismos de evasión del sistema inmune. Según Diaz M y cols(138), la sobre expresión de genes codificadores de proteínas con capacidad de producir resistencia al estrés oxidativo es uno de las formas más contundentes que posee el parásito en la fase aguda para generar una persistencia en el hospedero mamífero. Desde otro punto de vista Marina V y COLS (139), evaluaron el papel del estrés oxidativo en la fase crónica de la enfermedad, encontrando una afectación a nivel del sistema nervioso, pudiendo ser una motivación para los investigadores el abordaje de esta tema, por su implicación complejidad teórica además de su implicación clínica.

Por otro lado el escape del fago lisosoma representa para *T.cruzi* según Ana. Nardy y Cols (140) una forma de evadir tempranamente la respuesta del sistema inmune, siendo la desialización de la membrana interna de fagolisosoma el primer paso. Esto representa a nivel inmune en la fase temprana de la enfermedad, el no

reconocimiento por algunos receptores de patrones de reconocimiento molecular, y por tanto no se produce una cascada de señalización que permita a producción de interleuquinas que conllevan a una respuesta Th1; convirtiéndose en uno de los principales blanco profilácticos y terapéuticos de estudio (75).

Lo anterior sustenta el hecho de que *T. cruzi* es un parásito de importancia epidemiológica el cual posee múltiples estrategias de evasión del sistema inmune del hospedero lo que lo hace un patógeno de difícil manejo médico como lo expone Jesús G y cols (141).

Respecto a los medicamentos utilizados como tratamiento de la enfermedad de Chagas, en la presente revisión, la mayoría de publicaciones correspondió a medicamentos que actualmente se encuentran aprobados como Nifurtimox y Benzonidazol, esto coincide con Molina y cols (6) quienes exponen que luego de más de cuarenta años se siguen empleando como tratamiento etiológico estos dos medicamentos.

El tratamiento convencional es eficaz en la fase aguda, en la fase crónica indeterminada y en la crónica determinada, estos hallazgos coinciden con lo reportado con lo reportado por la FDA (*Food and Drug Administration*) (142) en Argentina y Brasil, donde se realizaron dos ensayos clínicos evaluando el benzonidazol, en un cohorte de niños de hasta 12 años que padecieran la enfermedad de Chagas, con control de placebo, en ese orden de ideas en argentina el 60% presentaron negativización de anticuerpos post tratamiento , en comparación con los que recibieron el placebo que fueron un (14%), mientras en Brasil el 55% presentó negativización post tratamiento, en comparación con el 5% de quienes recibieron el placebo, lo que sugiere el establecimiento del tratamiento convencional para la enfermedad, tolerable en su mayoría por niños más que en adultos con disminución de efectos adversos o presencia de toxicidad como lo menciona el Laboratorio Farmacéutico del Estado de Pernambuco (LAFEPE)

(143).En cuanto a cómo actúan estos medicamentos, Nifurtimox, cuyo mecanismo de acción de reducción de grupos nitro a radicales inestables, conlleva a la producción de metabolitos de oxígeno altamente tóxicos, para los cuales el parásito no posee mecanismos de defensa, provocando así el estrés oxidativo; y el benzonidazol actúa uniéndose en forma covalente a los intermediarios de la nitroreducción con los diferentes componentes del parásito (112) .

Según la información recolectada otra de las perspectivas más estudiadas responde al uso de triazoles inhibidores del ergosterol , capaces de actuar en cualquier fase de la infección, apuntando hacia el uso de fármacos análogos estructurales a los comercialmente disponibles como el itraconazol, como posaconazol y ravuconazol de actividad tripanocida como lo afirma Urbina y Docampo (140), además cuenta con función en modelos murinos con infecciones agudas y crónicas y un estudio de Sánchez y cols (156) revela que el posaconazol supera en la reducción del daño cardíaco, al fármaco convencional Benzonidazol y también tiene actividad en un paciente inmunocomprometido por lupus eritematoso como lo afirma Otero y cols (141).

Debe tenerse en cuenta que según la Coalición de Chagas (144), los medicamentos convencionales previamente descritos son la única fuente de "salvación", por lo que afirman a su vez que no existe una vacuna para prevenir el mal de Chagas, sin embargo las nuevas investigaciones han hallado propuestas preventivas, la vacuna de la enfermedad de Chagas de la cual se obtuvo la mayor fuente de documentos en la presente revisión, describiendo el empleo de DNA, cepas atenuadas y las proteínas esenciales del parásito como blancos prometedoros para la creación de una vacuna, lo cual reafirma Vazquez y cols (145),donde describen las actuales propuestas de vacunas, dentro de las cuales se evidencian algunas de las revisadas en el presente trabajo, además de las nuevas investigaciones alrededor de esta temática, donde los métodos genéticos y moleculares son la base de todos los estudios, resaltando la utilización de vectores virales , primers heterologos de

impulso ,además de técnicas más convencionales como la reacción en cadena de la polimerasa , inmunohistoquímica, y microscopia confocal (138).

El aporte de los algoritmos diagnósticos sugeridos por el grupo de investigación según la vía de transmisión, la situación epidemiológica, los hallazgos clínicos y el diagnóstico de laboratorio, consiste en conocer las diversas manifestaciones clínicas, que conforme a la vía de transmisión dirigirán un diagnóstico preciso. Además es relevante tener en cuenta que algunos tipos de transmisión como la oral tienen su auge en los últimos años según la OMS y la FAO (146). Aunque Brasil se ha reportado el mayor número de casos por transmisión oral, Colombia, Argentina, Venezuela y Ecuador también cuenta con manifestación de esta vía según lo reportado por Pinto (147) y Suarez y cols (148)

La vía vectorial sigue siendo la principal vía de transmisión de la enfermedad producida a través de las heces del insecto ingresadas en el organismo, la erradicación del vector plantea un control de la enfermedad, así la OPS realizó un programa de erradicación vectorial en los departamentos de Arauca, Casanare, Boyacá y Santander, obteniendo una disminución de los casos para estos departamentos. (149). Otra vía relevante de transmisión es la congénita cuyo diagnóstico requiere de la adquisición de anticuerpos propios del niño que no arrojen falsos positivos a partir de la seroconversión materna como lo afirma Werner y cols (118); de igual manera en el caso de pacientes inmunosuprimidos, la serología no es el método más confiable, y es por ello que se recomienda un seguimiento, clínico (destacando de forma particular manifestaciones neurológicas) y parasitológico con método de concentración, además de la visualización de otros tipos de muestras, concordante con lo descrito en la "Guía para la atención al paciente infectado con *T. cruzi* (Enfermedad de Chagas)" (150).

Para el caso de la transmisión oral, al ser de baja frecuencia se habla de que es improbable reconocer el caso para dar un seguimiento, sin embargo se apunta hacia

la estrategia de un análisis anamnesico seguro que permite establecer la posibilidad de contagio por esta vía, analizando síntomas como fiebre prolongada y constante, acompañado de síntomas como megalias, exantemas, edemas y manifestaciones hemorrágicas como lo afirma Díaz y cols (151).

Ante la sospecha de una infección por transfusión el diagnostico está enfocado en la interpretación de síntomas compatibles con infección aguda en el primer y tercer mes, con un seguimiento de exámenes parasitológicos directos cada 72 h por las primeras semanas y luego estudios serológicos cada 15 días hasta completar el tercer mes.

En lo que respecta al algoritmo terapéutico sugerido por el grupo para este trabajo de grado, teniendo en cuenta los aspectos anteriormente descritos, se dividió en dos, agudo y crónico debido al curso de la fisiopatología(18), es así como se plantea una nueva alternativa basada en la literatura, teniendo en cuenta que el tratamiento convencional de nifurtimox y benzonidazol no resultan ser una droga ideal debido principalmente a los importantes efectos adversos que producen estos medicamentos, desde problemas dermatológicos hasta incluso alteraciones hematológicas, y además su efectividad se asocia al desarrollo de la enfermedad aguda e inicio de la fase crónica temprana, pero no en lo que respecta a la fase crónica además de otras inconsistencias a nivel de factores como la dosis, el sistema inmune del paciente, la resistencia natural de las diferentes tipos de cepas, entre otros (152), por lo cual no se evidencia una apropiada curación del paciente, siendo estos los principales obstáculos encontrados para un efectivo manejo terapéutico de la enfermedad.

La administración tanto de Benzonidazol como de Nifurtimox resulta hasta el momento imprescindible debido a que como ya es sabido la fase aguda de la enfermedad es característica por la parasitemia, y la presencia de síntomas no específicos, y en fase crónica el número de parásitos es en muchos casos no

identificable y pueden o no presentarse síntomas, siendo estos los únicos fármacos que a pesar de la presencia de efectos adversos son efectivos frente al parásito, lo cual concuerda con lo estipulado por Morillo y cols (153), y Colin y cols (154), en sus artículos los cuales comparan el efecto individual de cada fármaco en un grupo de pacientes y en combinación con otro tipo nuevo de medicamento, por lo que se sugiere y reafirmando con ambos autores que en el presente no existen fármacos con tanta efectividad como la presentada por estos dos. A pesar de ello, el grupo de trabajo decidió incluir en el esquema terapéutico en fase aguda y crónica, medicamentos que a futuro pueden ser eficaces en la terapia contra la enfermedad de Chagas, basados en el compendio de literatura consultada.

Para el caso de la fase aguda se habla del sinergismo con metales el cual está enfocado actualmente en algunos de los fármacos comerciales (itraconazol, clotrimazol, ketoconazol) con actividad tripanostática, y en fármacos convencionales (nifurtimox y benzonidazol); el sinergismo entre metal y fármaco apunta hacia una efectividad en múltiples dianas que contribuya a la disminución de efectos adversos por reducción en las dosis del fármaco como lo indica Vega y Cols (155), y de este modo intervenga en la resistencia de la cepa del parásito frente al medicamento, enmascarándolo al constituir del complejo fármaco-metal; es así como Sánchez y Cols (156) realizan un estudio, logrando así acción tripanocida al emplear clotrimazol con rutenio al inhibir el desarrollo de epimastigotes; otro estudio fue descrito por Silva y Cols (157) quienes combinan Rutenio y Benzonidazol y obtienen una mejora en la efectividad del fármaco con una dosis mil veces menor a la del fármaco orgánico, contribuyendo a la reducción de efectos adversos y a la eliminación de amastigotes en el miocardio.

Otra de las posibles perspectivas terapéuticas, la constituyen los Inhibidores de la Biosíntesis de Esteroles (IBE) comerciales como el ketoconazol o el itraconazol, de los más reportados en la literatura. los esteroides actúan como blancos claves de *Trypanosoma cruzi* ya que constituyen moléculas imprescindibles para la viabilidad

y proliferación de sus estadios celulares (6) siendo la ruta de producción de los esteroides como ergosterol y otros 24 metil-esteroides de las más importantes, teniendo en cuenta que es una ruta única en el parásito y que no se encuentra en los mamíferos, por lo cual va a actuar inhibiendo síntesis de proteínas como esterol aminotransferasa, y escuelaleno epoxidasa que detienen la producción de ergosterol, así se constituyen los ergosteroides como un blanco de importante análisis. Por otro lado es sabido que el itraconazol es un fármaco prometedor pero de resultados controversiales, algunos autores resaltan que no poseen la capacidad total de detener la progresión de la enfermedad así como la infección en pacientes crónicos porque actúa como tripanostático y no tripanocida como lo dice Urbina y Docampo (158), sin embargo existe otra perspectiva, que visualizan estos medicamentos como potenciales en el control de la enfermedad teniendo en cuenta la disminución de los Xenodiagnóstico positivos para enfermedad crónica y la detención de la progresión del daño cardíaco como lo expuesto por Apt y Co/s (120) en un estudio en Chile. Probablemente esta discrepancia de resultados se deba a la susceptibilidad de la cepa chilena al itraconazol; de otro modo se tiene evidencia de otros triazoles tripanocidas como el posaconazol, ravuconazol, D0870, que inhiben la metilasa de *T. cruzi* como lo afirma Lucía Otero (159) y que son capaces de generar una respuesta de cura completa en modelos murinos agudos y crónicos, ubicándose como medicamentos clave.

Otra alternativa importante son los inhibidores de cruzipaina, conocidos también como los Inhibidores de la Cistein-Proteasa (ICP), entre este grupo se encuentran las thio-alquil-semicarbazonas cíclicas, capaces de actuar frente a una proteína proteolítica exclusiva del parásito la Cruzipaina, una enzima de *T. cruzi* que es responsable de la mayor actividad proteolítica generada por el parásito en todos los estadios(160) teniendo en cuenta su rol fundamental en la supervivencia del parásito además, los ICP también actúan bloqueando la proliferación de amastigotes intracelulares y epimastigotes extracelulares, y así mismo como inhibidor de la metaciclogenesis lo que hace imperativo su uso para detener la progresión del ciclo

del parásito y erradicarlo del hospedero, como lo exponen Caffrey y cols (160). Sin embargo una limitación se encuentra en su biodisponibilidad y la vida media del fármaco, como lo indica Urbina esta solo se ha probado en modelos murinos, (107). Se habla de una alternativa con la generación de nuevos compuestos basados en inhibidores no peptídicos mucho más simples y con un costo disminuido de síntesis como lo indica Du y cols (161).

En lo que respecta a la infección crónica, los inhibidores del ergosterol y los inhibidores de cruzipaina resultan completamente viables, añadido se propuso otra alternativa terapéutica para esta fase, los inhibidores de la enzima tripanotona, la Dafnolina y Cefarantin, que según la literatura han demostrado una reducción de hasta el 70% de la infección en modelos murinos crónicos, aludiendo a una cura parasitológica según Fournet y cols (162), aunque se habla de que existen muy pocos estudios de acción *in vivo*, y que la mayoría de conocimiento en torno a su funcionalidad gira en torno a estudios *in vitro*, por lo que se sugiere ampliar los estudios *in vivo* que confirmen su funcionalidad.

La etapa de expresión clínica cardiológica de la enfermedad de Chagas se manifiesta de manera variada, (128). Existen peculiaridades de la cardiopatía Chagásica que son importantes de recordar a la hora de plantear el manejo terapéutico de los pacientes (150). Es así como es imprescindible la utilización de los diversos fármacos cuya utilidad será la eliminación del parásito, además de terapias con el fin de mejorar el estado de la insuficiencia cardiaca para el momento del diagnóstico. Una de las terapias prometedoras es la terapia de re sincronización cardiaca, sin embargo el amplio espectro de alteraciones cardiacas presentadas en la fase crónica de la enfermedad de Chagas conlleva a que autores como Raul Garrilo y cols en el artículo “Terapia de Resincronización cardiaca en la enfermedad de Chagas” (128), afirmen que esta metodología es útil solamente en pacientes con insuficiencia cardiaca con QRS prolongado de aproximadamente 150 ms, y bloqueo de la rama izquierda del corazón (BIR). Contrastando con el hecho de que dentro

de las principales alteraciones interventriculares encontradas en la tripanosomiasis americana esta bloqueo de la rama derecha del corazón.

6. CONCLUSIONES

- Según la revisión bibliográfica, el *T.cruzi* cuenta con diversos mecanismos de evasión de respuesta inmune siendo el más relevante la inactivación del complemento, la cual se logra por medio de la vía, clásica, alterna y de lectinas con acción final de la inhibición de la conversión de C3.

- Las perspectivas farmacológicas reportadas por la literatura para la enfermedad de Chagas están enfocadas a la inhibición del metabolismo del parásito siendo las dianas principales la cruzipaina, transialidasa e inhibidores del ergosterol.
- Se expone en un algoritmo como posibles estrategias terapéuticas de mayor impacto, a los inhibidores del ergosterol en conjunto con los inhibidores de la cruzipaina por que resultan viables tanto en la fase aguda como en la fase crónica de la enfermedad, reduciendo efectos adversos como lo reporta la literatura.
- La revisión permitió presentar un posible algoritmo diagnóstico y terapéutico basado en los mecanismos de evasión inmune, estadio de la enfermedad y forma de afección ya que se desea aportar nuevas alternativas antichagasicas.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ruiz Guzmán J. Historia De La Enfermedad De Chagas [Internet]. Vol. 30, Gaceta Médica Boliviana. 2007. p. 70–3. Available from: <http://www.scielo.org.bo/pdf/gmb/v30n2/a15.pdf>
2. Instituto Nacional de Salud, Ministerio de la Protección salud, Organización Panamericana de la salud. Protocolo para la vigilancia en salud pública de chagas. Plan Nacional De Salud Pública. 2014.

3. Villasante Fuentes M, Hernandez Pastor P. El diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Actual en Med Fam.* 2015;11(3):141–5.
4. A. Alcina, M. Fresno. Interacción del *Trypanosoma cruzi* con el sistema inmunitario. [cited 2018 Feb 11]; Available from: <http://www.inmunologia.org/Upload/Articles/1/7/172.pdf>
5. Hernandez AL. *Microbiología y Parasitología Médicas. Tomo III* [Internet]. 3rd ed. La Habana; 2001. Available from: <https://libreriadespertar.files.wordpress.com/2014/07/microbiologc3ada-y-parasitologc3ada-mc3a9dicas-tomo-iii1.pdf>
6. Rodríguez-Morales AJ. Nuevas perspectivas en el manejo terapéutico de la enfermedad de chagas. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2005;22(2):123–33.
7. Velasco-Castrejón Ó, Rivas-Sánchez B. Apuntes para la historia de la enfermedad de Chagas en México. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2008;65(1):57–79.
8. Brumpt, Emile. *Précis de parasitologie* [Internet]. 1936. Available from: <https://archive.org/details/prcisdeparasit02brum>
9. Vianna G. Contribuição para o estudo da anatomia patolójica da “Molestia de Carlos Chagas.” p. 276–300.
10. Dias JC. Cecñlio Romaña, o sinal de Romaña e a doenña de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1997;30(5):407–13.
11. Centro de Análisis de Imágenes Biomédicas Computarizadas CAIBCO. *La Enfermedad de Chagas en Venezuela* [Internet]. Available from: <http://chagas.ucv.ve/?module=textos&ap=1>
12. Vectores YDESUS, El EN. Distribiciok geografica de la enfermedad y de sus vectores en el peri?*. 1958;572–81.
13. Janeiro R De. Historia de la enfermedad de Chagas en Argentina. 2009;57–74.
14. Schenone Hugo. Estado de los estudios epidemiologicos sobre la enfermedad de Chagas en Chile. 1971; Available from:

<http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/15249/v70n3p250.pdf?sequence=1>
<http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/15249/v70n3p250.pdf?sequence=1>

15. Titto D, Horacio E. Regulación de la respuesta inmune en la enfermedad de Chagas. 1983.
16. Rosales Borjas D, Ortiz Ortiz L. Infecciones parasitarias: Mecanismos de evasión de la respuesta inmune. Rev Médica la Extensión Port - ULA. 2008;2:89–98.
17. Situación Actual de la enfermedad Chagas Ciudad Sandino y Mateare. Available from: <http://cedoc.cies.edu.ni/digitaliza/t345/6.pdf>
18. Walter Mosca, Yelitza Campos, Luis Briceño. Inmunología e inmunopatología de la enfermedad de chagas [Internet]. Available from: <https://es.slideshare.net/CAS0609/inmunologia-e-inmunopatologa-de-la-enfermedad-de-chagas>
19. Chiari E, Galvão LM da C. Diagnóstico parasitológico da doença de chagas. 1997;
20. Herrera C. Respuesta inmune de las células del hospedero a la infección por Trypanosoma cruzi. Rev Médica del Hosp Nac Niños Dr Carlos Sáenz Herrera. 2002;37.
21. Manzur Rafael, Barbieri Gustavo. Mesa Debate;Eficacia en Tratamiento Etiológico de la Infección de T. cruzi: cura de la infección y prevención secundaria" [Internet]. Available from: <http://moodle.fac.org.ar/fec/chagas2/llave/md6/md602/manzur.htm>
22. Lugones Humberto. Déficit diagnóstico de chagas agudo en la República. H. Lugones [Internet]. Available from: <http://www.fac.org.ar/fec/chagas2/llave/c002/lugon.htm>
23. Apt W. Tratamiento de la enfermedad de Chagas. Parasitol al día [Internet]. 1999 Jul [cited 2018 Feb 11];23(3–4):100–12. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-07201999000300007&lng=en&nrm=iso&tlng=en

24. Manual para la atención de los pacientes infectados por Chagas. 1998. 0. 1998;
25. Croft SL. Pharmacological approaches to antitrypanosomal chemotherapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1999;94(2):215–20.
26. Avance contra el Chagas: prueban con éxito una vacuna en etapa experimental [Internet]. Available from: https://www.clarin.com/sociedad/avance-chagas-prueban-exito-vacuna-etapa-experimental_0_SJod5P5pe.html
27. CONICET. La quimera de una vacuna contra la enfermedad de Chagas | CONICET [Internet]. 2017. Available from: <http://www.conicet.gov.ar/la-quimera-de-una-vacuna-contra-el-mal-de-chagas/>
28. Oliveira M de F, Nagao-Dias AT, Pontes VMO de, Júnior AS de S, Coelho HLL, Coelho ICB. Tratamiento Etiológico Da Doença De Chagas No Brasil. *Revpatotrop* [Internet]. 2008;37(3):209–28. Available from: http://www.ufg.br/this2/uploads/files/62/2008_37_3_209_228.pdf
29. Germani IG. Acceso a tratamiento para la enfermedad de Chagas en América Latina: escenario cambiante y necesidad de producción local . 2009;0–16.
30. Cevallos AM, Hernández R. *Trypanosoma cruzi* y la enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana) [Internet]. Microbios UNAM. 2007. Available from: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap15/>
31. Vianna Martins A, Patrícia Gomes A, de Mendonça EG, Rangel Fietto JL, Alberto Santana L, de Almeida Oliveira MG, et al. Biology of *Trypanosoma cruzi*: An update. *Infectio* [Internet]. 2012;16(1):45–58. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0123939212700577>
32. Teixeira, DE; Benchimol, M; Crepaldi, PH; de Souza W. Interactive Multimedia to Teach the Life Cycle of *Trypanosoma cruzi*, the Causative Agent of Chagas Disease. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;
33. Guhl F, Aguilera G, Pinto N, Vergara D. Actualización de la distribución geográfica y ecoepidemiología de la fauna de triatominos (Reduviidae: Triatominae) en Colombia. *Biomédica*. 2007;27:143–62.
34. *Rhodnius prolixus* [Internet]. [cited 2017 Feb 17]. Available from:

<http://rhodnius.iq.ufrj.br/>

35. Beltran M, Guhl F, Herrera C, Duque S. Manual de procedimientos para el diagnosticos de la ENFERMEDAD DE CHAGAS. Guhl F, Nicholls S, editors. Bogotá; 2001.
36. Ruiz, Vicente Moreno S. Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Buenos Aires-Argentina: Editorial Médica Panamericana;
37. Elizabeth K, Martínez A. TIPIFICACIÓN DE LINAJES DE Trypanosoma cruzi EN INDIVIDUOS CON ENFERMEDAD DE CHAGAS CARDIÓPATAS Y NO CARDIÓPATAS. 2014;
38. Noireau F. LA ENFERMEDAD DE CHAGAS Y SUS PARTICULARIDADES EPIDEMIOLOGICAS EN BOLIVIA. :17–47. Available from: http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/divers11-09/010017959.pdf
39. Teixeira ARL, Nitz N, Guimaro MC, Gomes C. Chagas disease. Postgrad Med J. 2006;82(974):788–98.
40. Gauna DF. Evaluación de la implementación del programa de cribado y diagnóstico de la enfermedad de Chagas en mujeres embarazadas latinoamericanas en una muestra de unidades de atención a la salud sexual y reproductiva. Universidad Autonoma de Barcelona; 2014.
41. Torrós LMDP. Análisis global de la familia multigénica MASP (Mucin Associated Surface Proteins) de Trypanosoma cruzi. 2010.
42. Enfermedad de Chagas con parasitemia evidente. Revista Argentina de Cardiología [Internet]. 2002; Available from: <http://www.sac.org.ar/wp-content/uploads/2014/04/consenso-enfermedad-chagas-3.pdf>
43. INS. Boletín epidemiológico semanal- SIVIGILA [Internet]. Bogotá; 2017. Available from: <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/BoletnEpidemiologico/2017BoletnEpidemiologicoSemana08.pdf>
44. Guhl, F. Jaramillo G. Curso taller Control de Tripanosomosis Americana y Leishmaniosis Aspectos Biológicos, Genéticos y Moleculares. In: Estado

- actual del control de la enfermedad de Chagas en Colombia. Santa Fé de Bogotá d.C; 1998. p. 45–81.
45. Guhl F, Pinto N AG. Sylvatic triatominae: a new challenge in vector control transmission. PubMed. 2009;
 46. S.D. Atlas de hematología [Internet]. Cocohemato.blogspot. 2014. Available from:
<http://cocohemato.blogspot.com.co/2014/11/>,http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342006000400010
 47. Chirinos SVCNV. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la trypanosomiosis americana (enfermedad de Chagas). Vol. 1, Instituto Nacional de Salud, Perú. 2005. 104 p.
 48. Gil Ortiz R. Diagnóstico de Laboratorio de la enfermedad de Chagas. [Internet]. Slidplayer. Available from: <http://slideplayer.es/slide/1034738/>
 49. Bowman R. Exoedientes X. F. Esmaculata. [Internet]. 1995. Available from: <http://www.expedientesx.es/2008/11/expediente-xs02e022f-emaculata/>
 50. Peralta N. Procedimientos del laboratorio para la enfermedad de Chagas. [Internet]. Universidad Nacional de San Luis. Available from: <http://slideplayer.es/slide/1115573/>
 51. Sempertegui R, Mendigaña F. Guía de Atención Clínica de la enfermedad de Chagas 2010 (Documento Actualizado de Version Convenio. Vol. 9, OPS. 2010. 1-84 p.
 52. Martínez I, Cervantes A EB. Diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas. Gac Med Mex. 2013;149.
 53. Morocoima A, Ferrer E, Nuñez M. Enfermedad de Chagas en el estado Anzoátegui, Venezuela: Registro de un caso agudo y caracterización parasitológica y molecular del aislado. Boletín Malariol y Salud Ambient. 2008;
 54. Ministerio de Salud. Guía de Diagnóstico, Tratamiento y Prevención de la Enfermedad de Chagas. 2011.
 55. Romero MH, Sanchez JA. Seroprevalencia de Trypanosoma cruzi, por la técnica de Western blot en población canina del Departamento de Tolima,

- Colombia. *Rev Vet y Zootec la Univ Caldas*. 7:3–7.
56. Alarcon S, Andrade C, Calderon J, Et al. CHAGAS USACH [Internet]. Métodos de diagnóstico de la enfermedad de Chagas. 2011. Available from: <https://chagasusach.wordpress.com/2011/05/09/metodos-de-diagnostico-de-la-enfermedad-de-chagas/>
 57. Neto VA, Marchi CR De, Ferreira CS, Ferreira W. Observações sobre o TESA blot no diagnóstico sorológico da doença de Chagas Observations on the use of TESA blot for the serological diagnosis of Chagas ' disease. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38(6):534–5.
 58. Cortés X, Garcia Z, Torres L, Taylor L. Patrones Indeterminados de Western Blot en sueros reactivos por anticuerpos contra los virus linfotrópicos de células T tipo I/II (HTLV I/II) en donantes de sangre en Costa Rica. *Rev Costa Rica Cienc Médica*. 2007;8.
 59. Buscaglia C. Trypanosoma cruzi surface mucins:host-dependent coat diversity. *Nat Rev Microbiol*. 2006;
 60. VALENZUELA L. SEPÚLVEDA S.y CABRERA. Moléculas de adhesión involucradas en el proceso de invasión de Trypanosoma cruzi a células hospederas. *Ibero-Latinoamericana Parasitol*. 2013;
 61. Dias A. Subproteómica de Trypanosoma cruzi: Proteínas básicas fosfoproteoma. Universidad de Brasilia; 2010.
 62. Duarte Y bueno. ESTUDIO COMPARATIVO DE PROTEÍNAS ANTIGÉNICAS DE CEPAS DE TRYPANOSOMA CRUZI DE LA REGIÓN NORORIENTAL DE COLOMBIA. Universidad Industrial de Santander; 2007.
 63. Silber AM. Identificación de dos moléculas de Trypanosoma cruzi involucradas en la invasión de las células del huésped. Universidad de Buenos Aires; 2000.
 64. Mattos EC, Tonelli RR, Colli W, Alves MJM. The Gp85 Surface Glycoproteins from Trypanosoma cruzi. 2014.
 65. Gamarro F, Osuna A, Castanys S, Pérez-López MI, Ruiz-Pérez LM. Isolation and purification of amastigotes of Trypanosoma cruzi from cultured Vero cells.

- Zeitschrift für Parasitenkd Parasitol Res. 1985;71(1):15–7.
66. Cordero EM, Gentil LG, Crisante G, Ramírez JL, Yoshida N, Añez N, et al. Expression of GP82 and GP90 surface glycoprotein genes of *Trypanosoma cruzi* during in vivo metacyclogenesis in the insect vector *Rhodnius prolixus*. *Acta Trop*. 2008;105(1):87–91.
 67. Palacios X, Belli A, Espino AM. Detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en Somoto, Nicaragua, mediante ELISA indirecto e IFI en muestras de sangre en papel de filtro. *Pan Am J Public Heal*. 2000;8(6):411–7.
 68. Souza W de. Interaction of *Trypanosoma cruzi* with host cells. *Frontiers IN IMMUNOLOGY*; 2014.
 69. Malaquias GB. Desenvolvimento de linhagens TcI e TcII de *Trypanosoma cruzi* expressando proteínas fluorescentes para estudo da interação parasito-hospedeiro. Universidad Federal de Santa Catarina; 2016.
 70. Planelles L, Alonso C, Lo MC. HSP70 from *Trypanosoma cruzi* is endowed with specific cell proliferation potential leading to apoptosis in Maran. *Int Immunol*. 2000;12(12):1685–93.
 71. Gea S, Pellegrini a. Cruzipain, a major *Trypanosoma cruzi* cysteine protease in the host-parasite interplay. *Inmunología [Internet]*. 2006;25(4):225–38. Available from: <http://revista.inmunologia.org/Upload/Articles/6/9/698.pdf>
 72. Lannes-Vieira J. *Trypanosoma cruzi*-elicited CD8+ T Cell-mediated Myocarditis: Chemokine Receptors and Adhesion Molecules as Potential Therapeutic Targets to Control Chronic Inflammation? *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003;98(3):299–304.
 73. Antonio J, Trevijano EG-, Barrio AG. Enfermedad de Chagas: El desenlace de un conflicto entre el Parásito y el Sistema Inmunitario. *Real Acad Nac Farm*. 2012;78(3):298–322.
 74. Yoshida N, Cortez M. *Trypanosoma cruzi*: parasite and host cell signaling during the invasion process. *Subcell Biochem*. 2008;47:82–91.
 75. Osorio L, Ríos I, Gutiérrez B, González J. Virulence factors of *Trypanosoma cruzi*: Who is who? *Microbes Infect*. 2012;14(15):1390–402.

76. José R. Mecanismos de regulación negativa de la respuesta inmune en pacientes con enfermedad de Chagas. 2012.
77. Argüello RJ. Mecanismos de regulación negativa de la respuesta inmune en pacientes con enfermedad de Chagas [Internet]. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES; 2012. Available from: http://digital.bl.fcen.uba.ar/gsd-282/cgi-bin/library.cgi?a=d&c=tesis&d=Tesis_5233_Arguello
78. Rodrigues MM, Oliveira AC, Bellio M. The Immune Response to *Trypanosoma cruzi*: Role of Toll-Like Receptors and Perspectives for Vaccine Development. *Parasitol Res.* 2012;2012.
79. Tarleton RL. Immune system recognition of *Trypanosoma cruzi*. Vol. 19, *Current Opinion in Immunology*. 2007. p. 430–4.
80. Carlos L. Inmunología de la infección por *T. Cruzi* y de la enfermedad de Chagas. *Enfermedades Emergentes*. 2006;
81. Manuscript A. MOLECULAR MECHANISMS OF HOST CELL INVASION BY *TRYPANOZOMA CRUZI*. *NIH PUBLIC ACCES*. 2010;126(3):283–91.
82. Tardieux BI, Nathanson MH, Andrews NW. Role in Host Cell Invasion of *Trypanosoma cruzi*-induced Cytosolic-free Ca^{2+} Transients. 1994;179(March).
83. Cardoso MS, Reis-cunha JL, Bartholomeu DC, Fernandez MM, Bartholomeu DC. Evasion of the Immune Response by *Trypanosoma cruzi* during Acute Infection. 2016;6(January):1–15.
84. Woolsey AM, Sunwoo L, Petersen C a, Brachmann SM, Cantley LC, Burleigh B a. Novel PI 3-kinase-dependent mechanisms of trypanosome invasion and vacuole maturation. *J Cell Sci*. 2003;116(Pt 17):3611–22.
85. Caradonna KL, Burleigh BA. Mechanisms of Host Cell Invasion by *Trypanosoma cruzi*. 1st ed. Vol. 76, *Chagas Disease*. Elsevier Ltd.; 2011. 33-61 p.
86. Peluffo G, Radi R. Fighting the oxidative assault: the *Trypanosoma cruzi* journey to infection ´ a Noel Alvarez , Gonzalo Peluffo and Rafael Radi. *Curr Opin Microbiol*. 2009;415–21.

87. Valenzuela, L.; Barría, C.; Sepúlveda, S.; Galanti, N.; Cabrera G. ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA: ESTRÉS OXIDATIVO Y MIOCARDITIS CHAGÁSICA ASOCIADA A LA PERSISTENCIA PARASITARIA. p. 53–73.
88. Peluffo G, Alvarez N, Marti A, Radi R. Trypanosoma cruzi Antioxidant Enzymes As Virulence Factors in Chagas Disease. Antioxid Redox Signal. 2013;19(7).
89. Microbiología UBA, li C. INFECCIONES POR BACTERIAS ANAEROBIAS. UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES.
90. Paiva CN, Feijó DF, Dutra FF, Carneiro VC, Freitas GB, Alves LS, et al. Oxidative stress fuels Trypanosoma cruzi infection in mice. J Clin Invest. 2012;122(7).
91. Rubin-de-celis SSC, Uemura H, Yoshida N, Schenkman S. Expression of trypomastigote trans -sialidase in metacyclic forms of Trypanosoma cruzi increases parasite escape from its parasitophorous vacuole. Cell Microbiol. 2006;8:1888–98.
92. Howe CL, Granger BL, Hull M, Green SA, Gabelt CA, Helenius ARI, et al. Derived protein sequence, oligosaccharides, and membrane insertion of the 120-kDa lysosomal membrane glycoprotein (lgpl20): Identification of a highly conserved family of lysosomal membrane glycoproteins. CELL Biol. 1988;85(October):7577–81.
93. Souza W De, Maria T, Carvalho U De, Barrias ES. Review on Trypanosoma cruzi: Host Cell Interaction. Int J Cell Biol. 2010;2010:18.
94. Hall BBF, Webster P, Ma AK, Joiner KA. Desialylation of Lysosomal Membrane Glycoproteins by Trypanosoma cruzi: A Role for the Surface Neuraminidase in Facilitating Parasite Entry into the Host Cell Cytoplasm. J Exp Med. 1992;176(August).
95. Albertti LAG, Macedo AM, Chiari E, Andrews NW, Andrade LO. Role of host lysosomal associated membrane protein (LAMP) in Trypanosoma cruzi invasion and intracellular development. Vol. 12, Microbes and Infection. 2010.

p. 784–9.

96. Tapia V, Mv L, Galdames P, Mv GRT. Mecanismos de evasión del sistema del complemento utilizados por Trypanosomacruzi. Av en Ciencias Vet. 2012;27(2):10–9.
97. Cestari I dos S, Krarup A, Sim RB, Inal JM, Ramirez MI. Role of early lectin pathway activation in the complement-mediated killing of Trypanosoma cruzi. Vol. 47, Molecular Immunology. 2009. p. 426–37.
98. Frutos SG de. Estrategias de resistencia de Trypanosoma cruzi a la activación del complemento. 2016.
99. Beucher M, Norris KA, Lubinski J, Wang L, Mastellos D, Sahu A, et al. Sequence Diversity of the Trypanosoma cruzi Complement Regulatory Protein Family □ †. Infect IMMUNITY. 2008;76(2):750–8.
100. Cestari IS, Evans-osses I, Freitas JC, Inal JM, Ramirez MI. Complement C2 Receptor Inhibitor Trispanning Confers an Increased Ability to Resist Complement- Mediated Lysis in Trypanosoma cruzi. INFECTIOUS Dis. 2008;198.
101. Joiner KA, Dias W, Rimoldis T, Hammer CH, Sherii A, Kipnisell TL. Biochemical Characterization of a Factor Produced by Trypomastigotes of Trypanosoma cruzi That Accelerates the Decay of Complement C 3 Convertases ". Biol Chem. 1988;263(23):11327–35.
102. Gazzinelli RT, Denkers EY. Protozoan encounters with Toll-like receptor signalling pathways : implications for host parasitism. Nat Rev Immunol. 2006;6(November):895–906.
103. Takeda K, Kaisho T, Akira S. TOLL - LIKE RECEPTORS. Annu Rev Immunol. 2003;(1).
104. Campos MA, Closel M, Valente EP, Cardoso E, Akira S, Alvarez-leite JI, et al. Impaired Production of Proinflammatory Cytokines and Host Resistance to Acute Infection with Trypanosoma cruzi in Mice Lacking Functional Myeloid Differentiation Factor 88. IMMUNOLOGY. 2018;
105. Nardy AF, Freire-de-lima CG, Morrot A. Immune Evasion Strategies of

- Trypanosoma cruzi. 2015;2015.
106. OMS | La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). WHO [Internet]. 2017; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/>
 107. Apt W, Zulantay I. Estado actual en el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Rev Medica Chile [Internet]. 2011;139:247–57. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872011000200016
 108. Antiprotozo A. Benznidazol. :2–4.
 109. Dir.Téc NIJ. Benznidazol 50 mg Benznidazol 100 mg. Lab Elea-Abarax ®. 2012;2.
 110. Vives EA, Ventriglia M V, Medvedovsky D, Rothlin R. Nitroimidazoles Y Nitrofuranos. 2004;7.
 111. Beatriz G, Aravena R. Universidad de Chile 1.
 112. Apt B W, Heitmann G I, Jercic L MI, Jofré M L, Muñoz C. del V. P, Noemí H I, et al. Parte VI. Tratamiento antiparasitario de la enfermedad de Chagas. Rev Chil Infectología. 2008;25(5):384–9.
 113. Apt W, Arribada A, Zulantay I, Rodriguez J, Saavedra M, Munoz A. Treatment of Chagas' disease with itraconazole: electrocardiographic and parasitological conditions after 20 years of follow-up. J Antimicrob Chemother [Internet]. 2013 Sep 1;68(9):2164–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23645584>
 114. Revista Argentina de Cardiología. Miocardiopatía chagásica dilatada. Rev Argent Cardiol. 2002;70(1):69–87.
 115. Fexinidazol es estudiado contra la enfermedad de Chagas [Internet]. 2014. Available from: <http://www.dndial.org/es/comunicacion-e-informacion/press-releases/2014/616-fexichagas.html>
 116. Patterson S, Wyllie S. Nitro drugs for the treatment of trypanosomatid diseases: Past, present, and future prospects. Trends Parasitol [Internet]. 2014;30(6):289–98. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2014.04.003>

117. Toma M. Investigating the Efficacy and Anti-Resistance Activity of Fexinidazole in Conjunction with Eflornithine Against *Trypanosoma Brucei* for Treatment of Human African Trypanosomiasis. 2016;
118. Werner A, Heitmann G I, Jercic L MI, Jofré M L, Muñoz C. del V P, Noemí H I, et al. Guías clínicas de la enfermedad de Chagas: Parte II. Enfermedad de Chagas en el adulto, la infancia y adolescencia. *Rev Chil infectología* [Internet]. 2008;25(3):194–9. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182008000300009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
119. Maldonado JE, Villa SI. Enfermedad de Chagas. Memorias. Minist Salud y Protección Soc [Internet]. 2013;1–34. Available from: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/trypanosomosis.html>
120. Camandaroba ELP, Reis EAG, Gonçalves MS, Reis MG, Andrade SG. *Trypanosoma cruzi*: Susceptibility to chemotherapy with benznidazole of clones isolated from the highly resistant Colombian strain. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36(2):201–9.
121. Mejía-Jaramillo AM, Fernández GJ, Montilla M, Nicholls RS, Triana-Chávez O. Sensibilidad al benzonidazol de cepas de *Trypanosoma cruzi* sugiere la circulación de cepas naturalmente resistentes en Colombia. *Biomédica, Rev del Inst Nac Salud* [Internet]. 2012;32(2):196–205. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Sensibilidad+al+benzonidazol+de+cepas+de+Trypanosoma+cruzi+sugiere+la+circulaci+n+de+cepas+naturalmente+resistentes+en+Colombia>.
122. Sánchez E, Vélez MC, Restrepo M, Marín JS, Gallego D. Tripanosomiasis americana, una mirada desde el tratamiento. *An la Fac Med*. 2016;77(1):39–44.
123. Insights NEW, Pathophysiology I. Mal de chagas-mazza: fisiopatogenia y nuevas propuestas de tratamientos. 2011;68(4):154–63.
124. Urbina Julio. Mesa Debate "Tratamiento Complicaciones"

- [Internet]. Available from:
<http://www.fac.org.ar/fec/chagas2/lave/md5/md508/urbina.htm>
125. Bolívar-Mejía A, Rodríguez-Morales AJ. About the etiological treatment of Chagas Disease. *Arq Bras Cardiol* [Internet]. 2012;98:371; author reply 371-2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22735912>
 126. Mario J, Díaz P, Katherine L, Rey P, Esther K, Castillo R, et al. Enfermedad de chagas: realidad de una patología frecuente en Santander, Colombia Revisión de Tema Infectología Chagas disease: reality of a frequent pathology in Santander, Colombia. *Carrera Ed Monviso Portón del Tejar Bucaramanga Santander*. 1507;33(1):91–52.
 127. Acena M. ́n cardiaca . Indicaciones y contraindicaciones Terapia de resincronizacio. 2015;65(9):843–9.
 128. Garillo R, Garillo R, Ayala EN, Abrego HV, Rosado HP, Rodríguez I. Terapia de resincronización cardíaca en la enfermedad de Chagas. 2017;12(3):115–20.
 129. Enfermedad de Chagas, desarrollan una vacuna inmunoterapéutica | Argentina Investiga [Internet]. 2016. Available from: http://argentinainvestiga.edu.ar/noticia.php?titulo=enfermedad_de_chagas_desarrollan_una_vacuna_inmunoterapeutica&id=2644
 130. Medicina P De. CARLA CLASER I M U N O B I O L O G I A D A P R O T E Í N A 2 D A S U P E R F Í C I E D E Livros Grátis. 2008;
 131. Gupta S, Garg NJ. TcVac3 Induced Control of Trypanosoma cruzi Infection and Chronic Myocarditis in Mice. Rodrigues MM, editor. *PLoS One* [Internet]. 2013 Mar 26;8(3):e59434. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0059434>
 132. Matos MN, Cazorla SI, Bivona AE, Morales C, Guzmán CA, Malchiodi EL. Tc52 Amino-Terminal-Domain DNA Carried by Attenuated Salmonella enterica Serovar Typhimurium Induces Protection against a Trypanosoma cruzi Lethal Challenge. Appleton JA, editor. *Infect Immun* [Internet]. 2014 Oct;82(10):4265–75. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25069980>

133. JOSÉ ANTONIO ZEPEDA ESCOBAR TOLUCA. Inmunización Con Una Vacuna Heteróloga, Adn/Proteína Recombinante (Tcvac2), Como Alternativa En La Profilaxis De La Enfermedad De Chagas En Un Modelo Canino. 2013;
134. Cribb P, Perdomo V, Alonso VL, Manarin R, Barrios-Payán J, Marquina-Castillo B, et al. Trypanosoma cruzi High Mobility Group B (TcHMGB) can act as an inflammatory mediator on mammalian cells. PLoS Negl Trop Dis. 2017;11(2):1–22.
135. Ciaponni A. Carga de la insuficiencia cardiaca en América Latina. Soc Española Cardiol. 2016;
136. Ministerio de Salud de Argentina. Atención del paciente infectado con Trypanosoma cruzi . GUIA PARA EL EQUIPO DE SALUD. Atención del paciente infectado con Trypanos cruzi GUIA PARA EL EQUIPO SALUD [Internet]. 2013;1–90. Available from: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000622cnt-03-guia-para-la-atencion-al-paciente-con-chagas.pdf>
137. Chatelain E. Chagas disease research and development: Is there light at the end of the tunnel? Comput Struct Biotechnol J. 2017;15:98–103.
138. Quijano-hernandez I, Dumonteil E. Advances and challenges toward a vaccine against Chagas disease. Hum Vaccin. 2011;7(11):1184–91.
139. Chuenkova M V, Pereiraperrin M. Neurodegeneration and Neuroregeneration in Chagas Disease. 1st ed. Vol. 76, Chagas Disease. Elsevier Ltd.; 2011. 195-233 p.
140. Nardy AFFR, Freire-de-lima CG, Pérez AR, Morrot A. Role of Trypanosoma cruzi Trans -sialidase on the Escape from Host Immune Surveillance. 2016;7(March):1–9.
141. Rodríguez Diego I JG, Pedroso Reyes MI, Olivares II JL, Sánchez-Castilleja II YM, Arece García J. La interacción hospedero-parásito. Una visión evolutiva. Rev Salud Anim. 2014;36(1):1–6.
142. FDA. FDA: aprueban fármaco para el Chagas, benznidazol, en base a

- estudios realizados en Argentina y Brasil [Internet]. 2017. Available from: http://web2.redcimlac.org/index.php?option=com_content&view=article&id=1907:fda-aprueban-farmaco-para-el-chagas-benznidazol-en-base-a-estudios-realizados-en-argentina-y-brasil&catid=4:noticias-de-interes&Itemid=31
143. Enznidazol LB. Benzonidazol.
 144. ¿CÓMO PREVENIRLO? - COALICIÓN CHAGAS [Internet]. Available from: <http://www.infochagas.org/como-evitarlo>
 145. Gupta S, Va JC, Garg NJ. Vaccine Development Against Trypanosoma cruzi and Chagas Disease. 2011;75.
 146. Rueda K, Trujillo JE, Carranza JC, Vallejo GA. Transmisión oral de Trypanosoma cruzi: un nuevo escenario epidemiológico de la enfermedad de Chagas en Colombia y otros países suramericanos. Biomédica [Internet]. 2014;34(4):631–41. Available from: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/2204>
 147. Dias JCP. Notas sobre o Trypanosoma cruzi e suas características bioecológicas, como agente de enfermidades transmitidas por alimentos. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;39(4):370–5.
 148. Suárez DC, Rey ÁP, Orduz ML, Prada RL, Tarazona Z. Supervivencia de Trypanosoma cruzi en bebidas experimentalmente contaminadas. Biomédica, Rev del Inst Nac Salud [Internet]. 2012;32(1):134–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23235795>
 149. OPS/OMS Colombia - Misión de la OPS verifica interrupción de la transmisión vectorial domiciliar de la enfermedad de Chagas, en 10 municipios de Boyacá y Santander [Internet]. Available from: http://www.paho.org/col/index.php?option=com_content&view=article&id=1935:mision-de-la-ops-verifica-interrupcion-de-la-transmision-vectorial-domiciliar-de-la-enfermedad-de-chagas-en-10-municipios-de-boyaca-y-santander-&Itemid=487
 150. Ministerio de Salud de la Nación. Guía para la atención al paciente infectado con T. cruzi (Enfermedad de Chagas) [Internet]. Buenos Aires-Argentina;

2012. Available from:
http://www.msal.gob.ar/chagas/images/stories/Equipos/Guia_Nacional_Chagas_version_27092012.pdf
151. Díaz ML, González CI. Enfermedad de Chagas agudo: transmisión oral de Trypanosoma cruzi como una vía de transmisión re-emergente. Rev la Univ Ind Santander. 2014;46(2):177–88.
 152. Ademar P, Junior S, Molina I, Maria S, Murta F, Salvador F, et al. Review Article Experimental and Clinical Treatment of Chagas Disease: A Review. J Trop Med Hyg. 2017;97(5):1289–303.
 153. Giudici MC, Abu-el-haija B, Schrupf PE, Bhave PD, Khiami A, Barold SS. ScienceDirect Right ventricular septal pacing in patients with right bundle branch block ☆ . J Electrocardiol. 2015;48(4):626–9.
 154. Forsyth CJ, Hernandez S, Olmedo W, Abuhamidah A, Traina MI, Sanchez DR, et al. Safety Profile of Nifurtimox for Treatment of Chagas Disease in the United States. 2016;63:1056–62.
 155. Vega MC, Rolon M, Yaluff G. Modelos de evaluación biológica in vitro e in vivo utilizados en la búsqueda de fármacos antichagásicos.
 156. Sánchez-Delgado RA, Anzellotti A. Metal Complexes as Chemotherapeutic Agents Against Tropical Diseases: Trypanosomiasis, Malaria and Leishmaniasis. Mini-Reviews Med Chem. 2004;4:23–30.
 157. Silva JJ, Pavanelli WR, Pereira JC, Silva JS, Franco DW. Experimental chemotherapy against Trypanosoma cruzi infection using ruthenium nitric oxide donors. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 2009;53(10):4414–21. Available from:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&opt=Citation&list_uids=19581464
 158. Urbina JA, Docampo R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. Trends Parasitol [Internet]. 2003 Nov;19(11):495–501. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14580960>

159. Rojas de Arias A, Gonzalez M, Cerecetto H, Mahler C, Moreira Lima L, Gambino D, et al. Enfermedad de chagas: Estrategias en la búsqueda de nuevos medicamentos. 2012. 1-388 p.
160. Caffrey, C.R., Scory, S., Steverding D. Cysteine proteinases of trypanosoma parasites: novel targets for chemotherapy. *CurrDrug Targets*. 2000;
161. Du X, Guo C, Hansell E, Doyle PS, Caffrey CR, Holler TP, et al. Synthesis and structure-activity relationship study of potent trypanocidal thio semicarbazone inhibitors of the trypanosomal cysteine protease cruzain. *J Med Chem*. 2002;45(13):2695–707.
162. Fournet A, Rojas-Arias A, Ferreira M, Nakayama H, Torres de Ortiz S, Schinini A. Efficacy of the bisbenzylisoquinoline alkaloids therapy in experimental acute and chronic *Trypanosoma cruzi* murine model. *Int J Antimicrob Agents*. 2000;