CURSO
“Enfermedad de Chagas en el Banco de Sangre: pasado, presente y futuro”

Trypanosoma cruzi y Enfermedad de Chagas: aspectos generales y avances en investigación básica.

Dra. Marikena Risso
Investigadora Asistente de CONICET. Laboratorio de Estructura-Función e Ingeniería de Proteínas, Fundación Instituto Leloir.

Dra. Paula Sartor
Jefa de Laboratorio. Hospital Dante Tardelli, Pampa del Indio, Chaco. Becaria Ramón Carrillo, FCEN-UBA.

Un poco de historia…

En 1909 el médico brasileño Carlos Chagas describió la presencia de *T. cruzi* en heces de insectos hematófagos durante una campaña de lucha contra la malaria en el estado de Minas Gerais, Brasil

Describió el ciclo biológico, los hospederos vertebrados y vectores del parásito así como las manifestaciones clínicas agudas de la "enfermedad de Chagas-Mazza" y su posible impacto social

Dos veces nominado para el Premio Nobel de Medicina

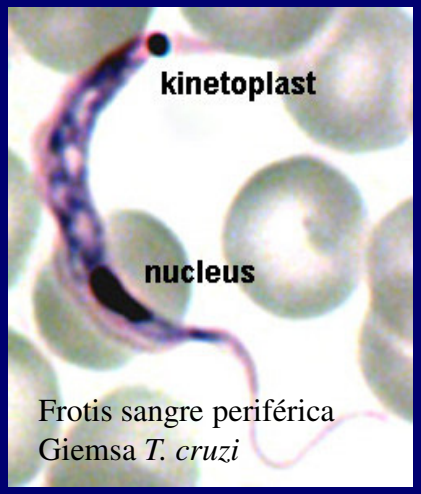
UBICACIÓN TAXONÓMICA

SUBREINO	PROTOZOA
PHYLUM	SARCOMASTIGOPHORA
CLASE	ZOOMASTIGOPHORA
ORDEN	KINETOPLASTIDA

Algunos son causantes de parasitosis humanas:

Trypanosoma cruzi, Leishmania spp. y Tripanosomas africanos todas ellas **zoonosis vectoriales**

Kinetoplasto: estructura subcelular que contiene DNA mitocondrial empaquetado



Frotis sangre periférica
Giemsa *T. cruzi*

Enfermedad de Chagas:
Agente causal *Trypanosoma cruzi*

Zoonosis vectorial endémica de la Argentina y Latinoamérica

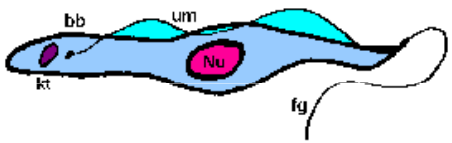
"Tripanosomiasis americana"

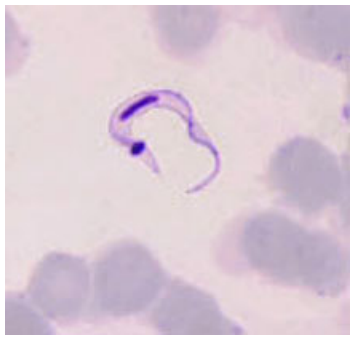
Hospedero intermediario: triatomíneo (Vinchuca)

Hospederos definitivos: Hombre
Mamíferos domésticos y silvestres

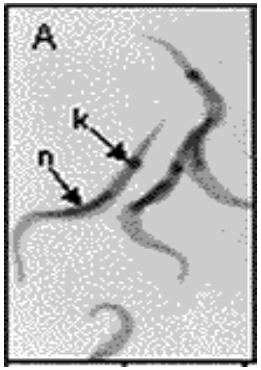
- Diferentes estadios morfológicos asociados a distintas etapas del ciclo de vida
- Flagelo único presente en algunos estadíos
- Citoesqueleto compuesto de microtúbulos que van a lo largo del soma

Tripomastigote



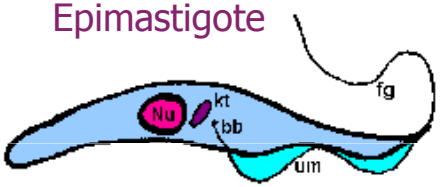


tripomastigote sanguíneo (infectivo-transmisión vertical y transfusional)



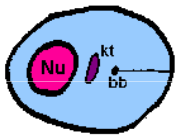
tripomastigote metacíclico (infectivo-transmisión vectorial y por alimentos)

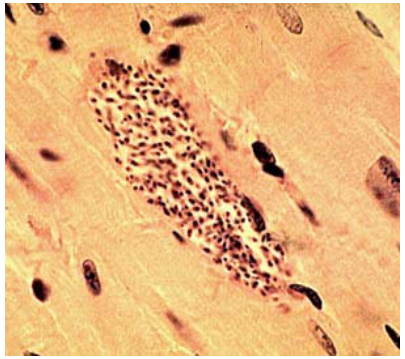
Epimastigote



epimastigote (multiplicativo)

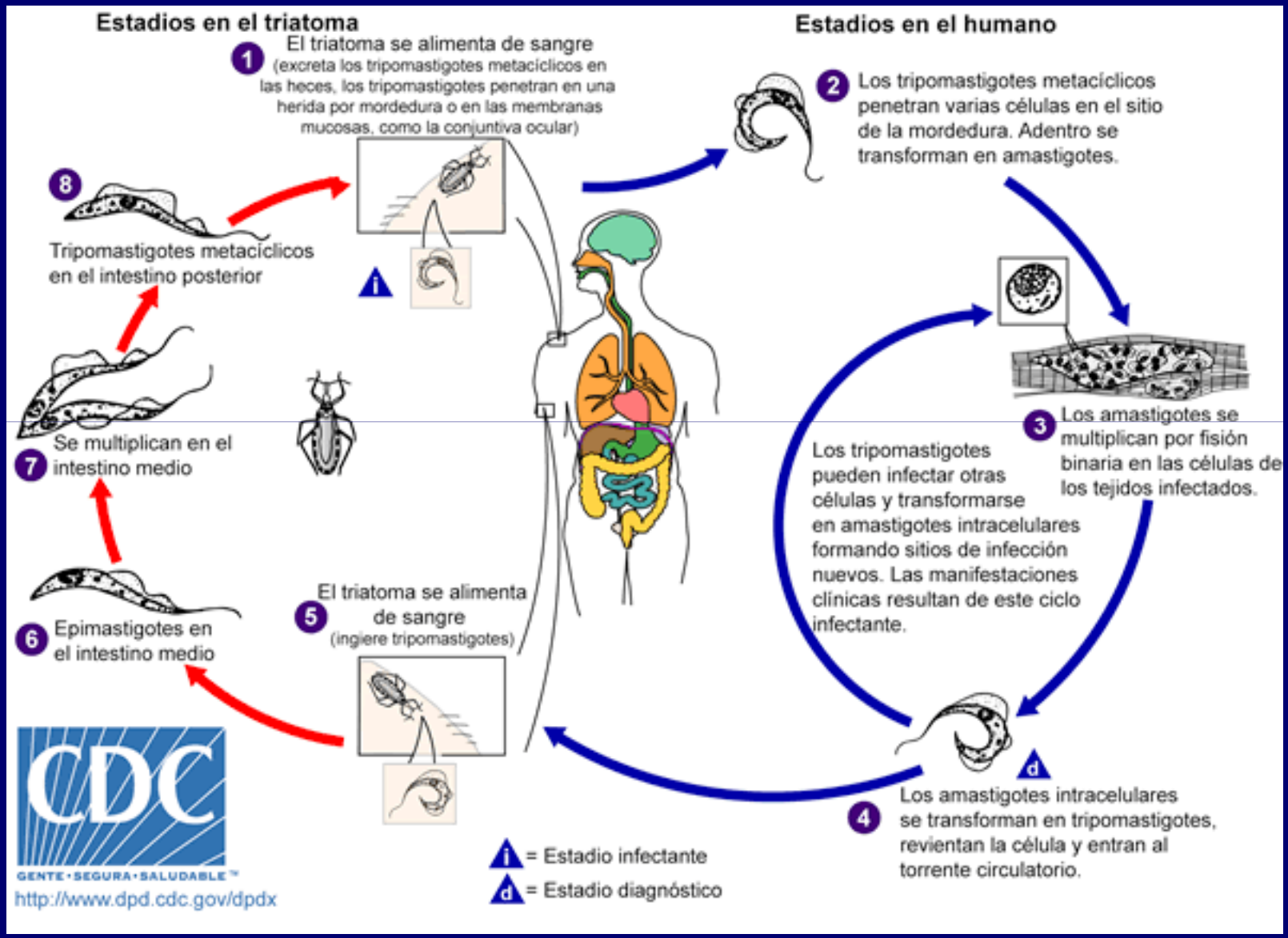
Amastigote





amastigotes (multiplicativo-patogenia infectivo en transplantes)

Trypanosoma cruzi: CICLO DE VIDA

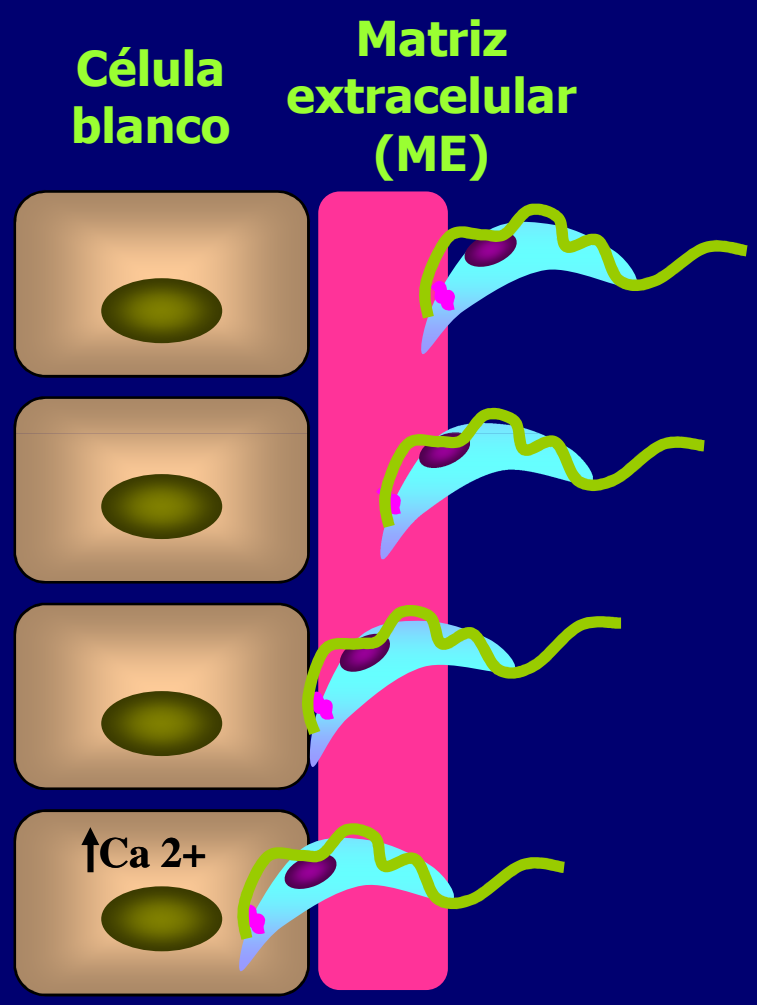


Vías de transmisión de *T. cruzi*

- Vectorial
- Transplacentaria (infección congénita)
- Transfusional
- Transplante de órganos
- Uso de drogas endovenosas
- Oral (por ingesta de alimentos contaminados con parásitos)
- Accidentes de laboratorio

Trypanosoma cruzi: interacción con la célula huésped

Como se abre camino el tripomastigote sanguíneo hacia la célula blanco?



Según Yoshida, 2006

Adhesión a ME: moléculas parasitarias (p.ej. gp85/Transialidasa o penetrina) con afinidad por laminina, fibronectina o heparina.

Hidrólisis de colágeno/fibronectina de ME por enzimas como Tc80.

Adhesión a célula blanco (por ej. gp85, mucinas y/o transialidasa).

El parásito activa oligopeptidasa B y secreta de cruzipaina: aumento del nivel de Ca2+ en la célula blanco facilitando el ingreso.

Trypanosoma cruzi: invasión, establecimiento y diferenciación

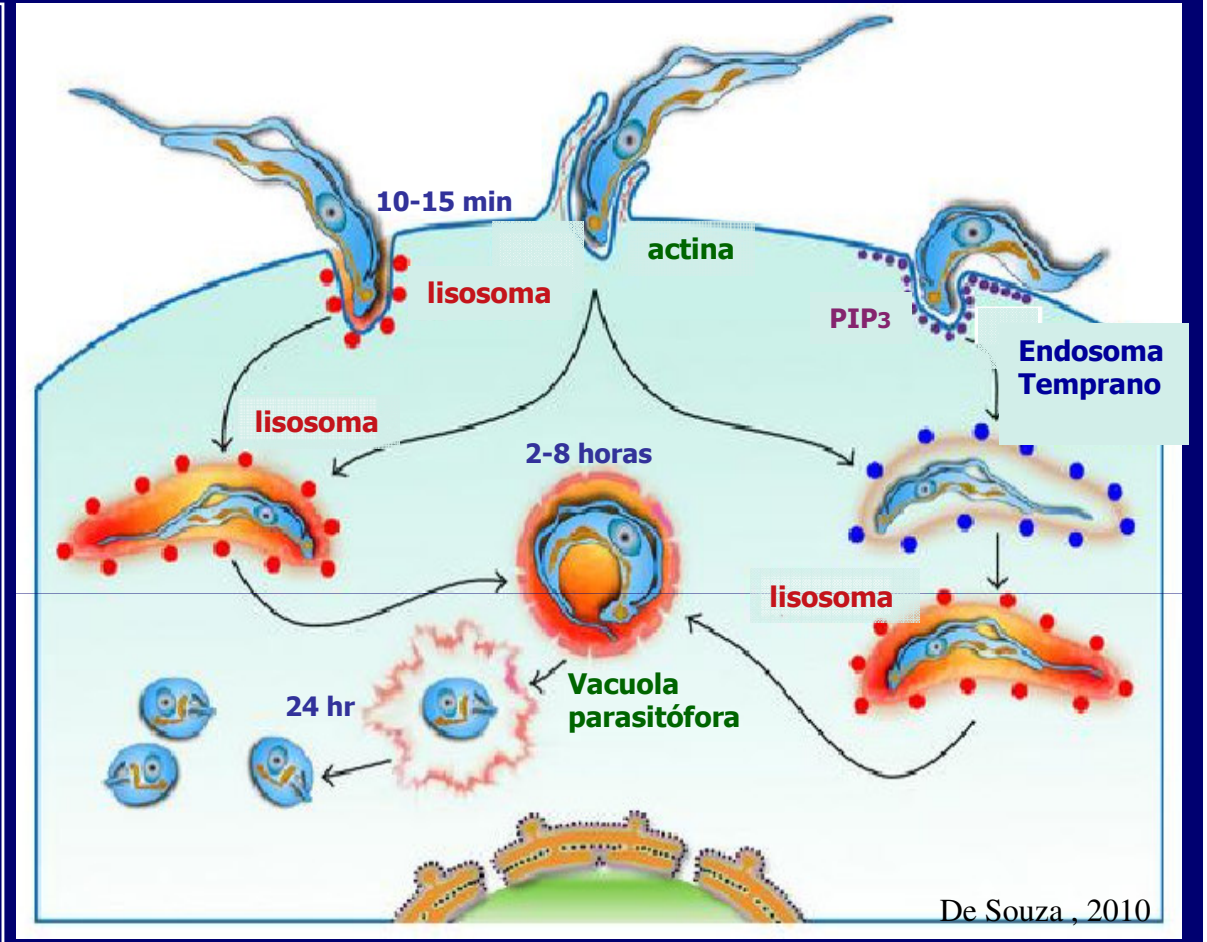
Invasión de células fagocíticas y no-fagocíticas.

1.Mec. no fagocíticos:

-Reclutamiento de lisosomas e internalización dependientes de Ca2+

-Invaginación de membranas con PIP3 y posterior reclutamiento de endosomas tempranos

2.Fagocitosis o macropinocitosis movilización de actina de la célula huésped.



El tripomastigote se rodea de lisosomas formandose la **vacuola parasitofora** e inicia su diferenciación a amastigote

→ Desintegración de la vacuola, localización citoplasmática, multiplicación intracelular del amastigote

→ Diferenciación a tripomastigote y salida de célula huésped.

Fases de la infección por *T. cruzi* – Formas clínicas

Etapas de la Enfermedad de Chagas

Etapa aguda

- Parasitemia detectable
- Chagoma de inoculación

Cómo se controla la parasitemia inicial?

Etapa indeterminada/crónica

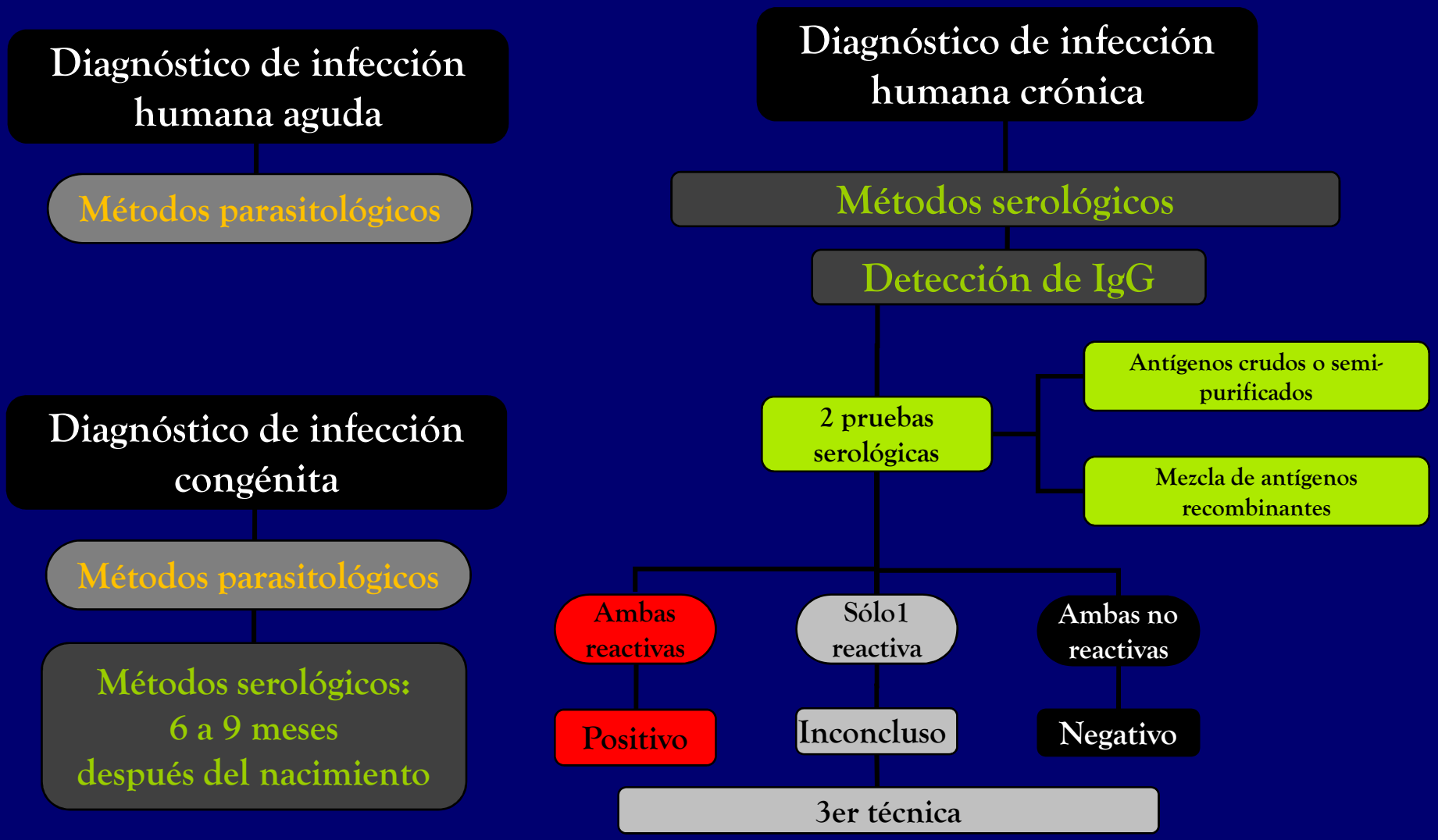
- Asintomática ≈ 70%
- Sintomática ≈ 30%

FORMAS
- Cardíaca
- Digestiva
- Neurológica

Por qué el parásito persiste crónicamente?

- Casos de reactivación

Diagnóstico



Diagnóstico – metodología

Métodos parasitológicos

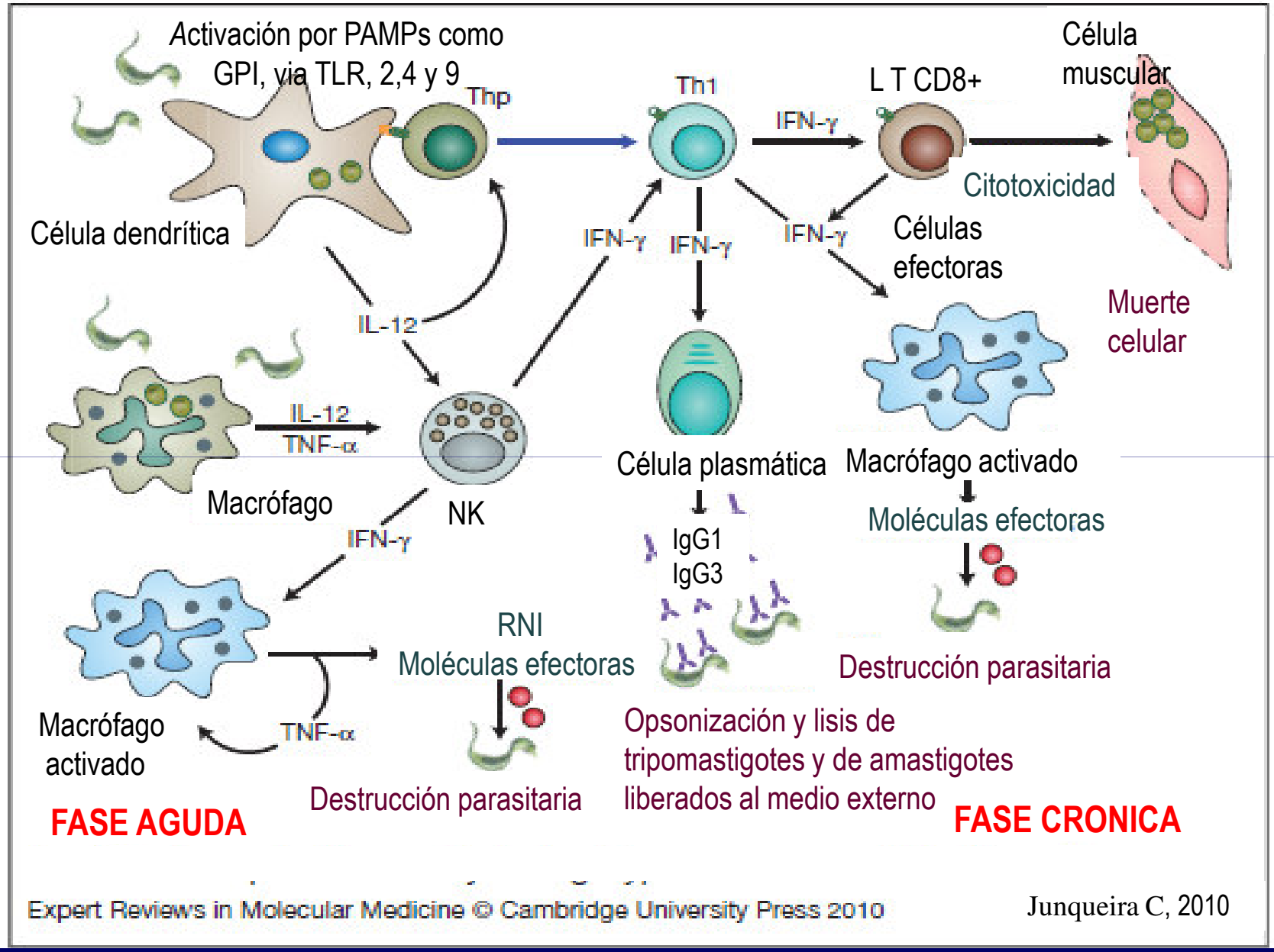
- Gota fresca
- Microhematocrito
- Strout
- Hemocultivo
- Xenodiagnóstico
- PCR

Métodos serológicos

Tipo de Antígeno	Principio del ensayo
Lisado de epimastigotes	Enzimo-inmunoensayo adsorbente
Mezcla de antígenos recombinantes	
Lisado de epimastigotes	Aglutinación de hematíes sensibilizados
	Aglutinación de Partículas de Gelatina
Epimastigotes enteros	Inmunofluorescencia indirecta

No existe método de referencia

La respuesta inmune innata y adquirida durante la infección por *T. cruz*

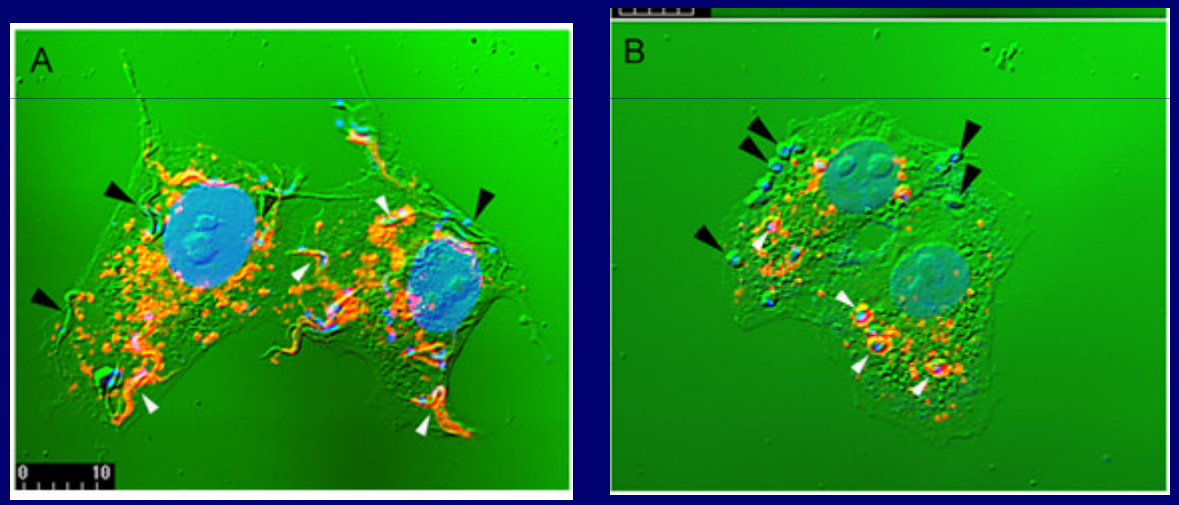


Junqueira C, 2010

Sin embargo, la respuesta inmune no logra erradicar el parásito. Por qué?

Mecanismos de evasión de la respuesta inmune por *T. cruzi*

- CAPPING — Evita la exposición de anticuerpos en superficie
- RESISTENCIA AL COMPLEMENTO — Gp160 de estadío tripomastigote (se une a C3b inhibiendo C3 convertasa)
- RECLUSIÓN INTRACELULAR Y LOCALIZACION CITOPLASMATICA



Dentro de VP *T. cruzi* libera:
Tc Tox: simil C9 humana, forma canales en la pared de la VP
trans-sialidasa: aumenta la inestabilidad de la pared.

VP : naranja (Lamp1), flechas blancas.
ADN (azul).
A. Tripomastigotes
B. Amastigotes
Libres en citoplasma (sin marca, flechas negras).

Microscopía confocal.

Mecanismos de evasión de la respuesta inmune por *T. cruzi*

Mecanismo		**Molécula de *T. cruzi* involucrada**
•INMUNOSUPRESION ↓IL-2; IL-2Rc LT; LB inespecífica	→	Mucinas-GPI GIPLs *trans*-sialidasa
•APOPTOSIS DE CÉLULAS LINFOCITOS	→	*trans*-sialidasa
•ACTIVACION POLICLONAL de LT y LB	→	moléculas no definidas

ETIOLOGIA DE LA ENFERMEDAD CHAGAS

persistencia parasitaria

vs

teoría autoinmune

ETIOLOGIA DE LA ENFERMEDAD CHAGAS

A décadas de la primoinfección, existe una relación directa entre el parasito y el desarrollo de la miocardiopattía chagásica?

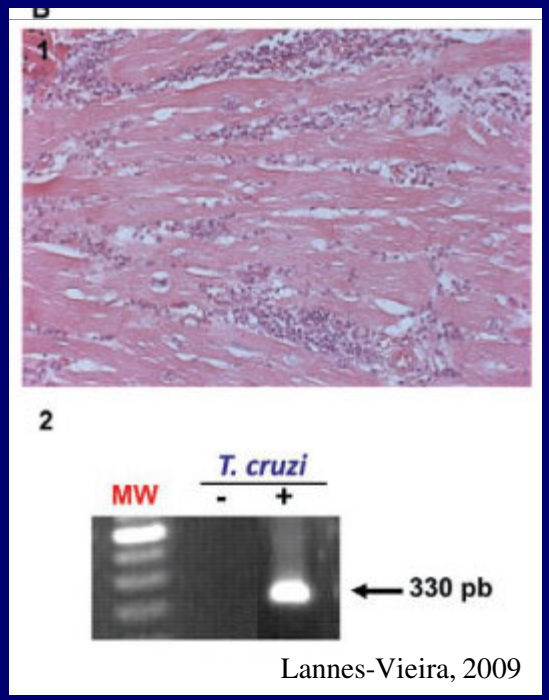
Si:

•Correlación entre persistencia parasitaria y daño en tejidos blanco en pacientes en etapa crónica.

•El tratamiento etiológico retrasa la aparición de síntomas clínicos

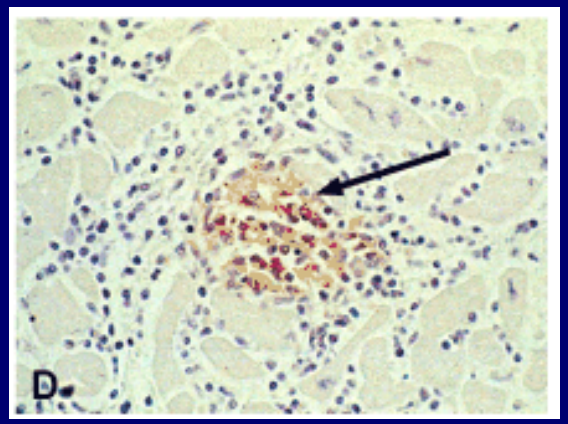
•Detección de parásitos en areas de tejido crónicamente inflamado mediante técnicas de alta sensibilidad. PCR, Hibridización in situ. etc.

Hematoxilina- Eosina



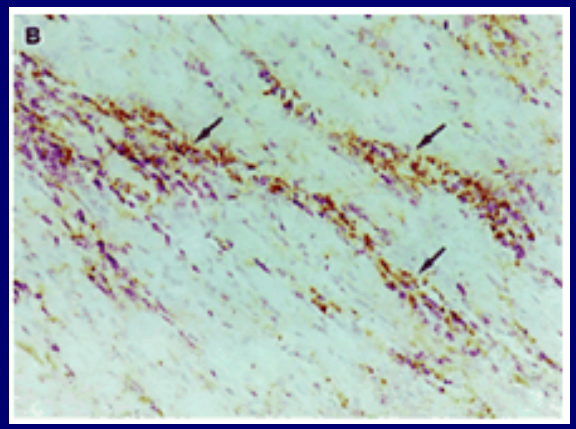
Lannes-Vieira, 2009

Inmunoperoxidasa contra Ag de *T. cruzi*



Corazón-granuloma con Ag de *T. cruzi*)

PCR in situ con cebadores para ADN para de *T. cruzi*



Corazón-infiltrados y ADN parasitario

Teoría autoinmune en Enfermedad de Chagas

Mecanismos autoinmunes descritos en Enf. de Chagas:

- Mimetismo molecular
- Activación policlonal de linfocitos

Algunos auto-antígenos con reacción cruzada con antígenos de *T.cruzi* descritos:

- Miosina → B13
- Cha → SAPA
- Receptor beta 1 adrenergico → Proteina P ribosomal

Son relevantes los mecanismos autoinmunes en la fisiopatogenia?

Evidencias en contra:

1. La inmunosupresión induce reactivación de la enfermedad

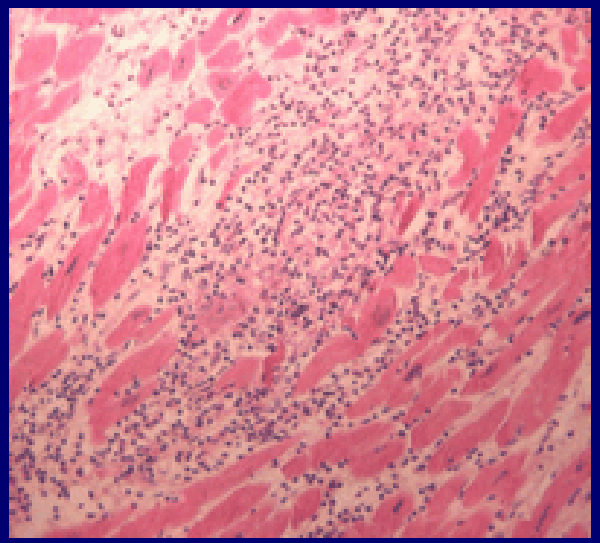
2. Los autoanticuerpos estan presentes en pacientes crónicos con y sin miocardiopatía.

ENFERMEDAD DE CHAGAS ETAPA AGUDA

Signo de Romaña-Mazza

Miocarditis aguda

- Baja frecuencia (0,5%)
- mas común en niños
- alta mortalidad

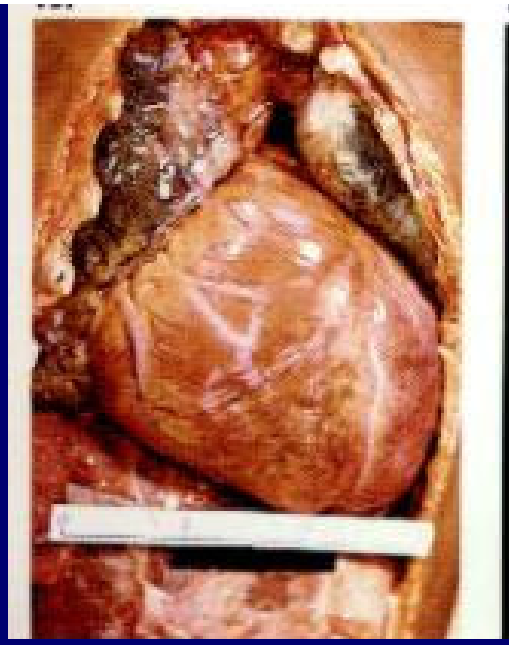


FORMAS CLINICAS:

CARDIOPATIA CHAGASICA

Principales síntomas

- Arritmias.
- Tromboembolismo
- Insuficiencia cardíaca.



Dilatación derecha de atrio y ventrículos

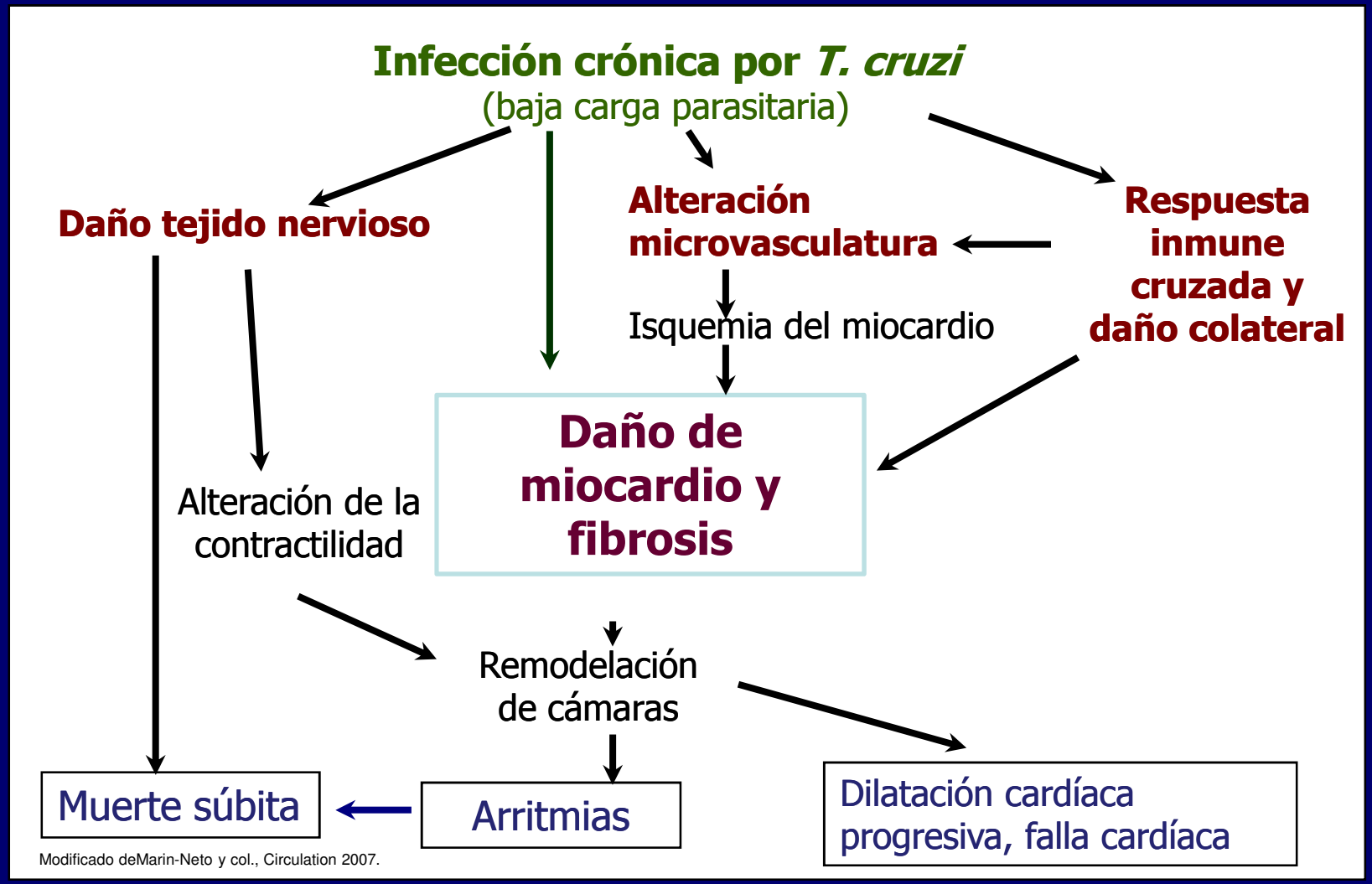
Aneurisma apical.

RX Torax normal

Cardiomegalia

Color Atlas ofTropical Medicne and Parasitology. Peters & Giles.

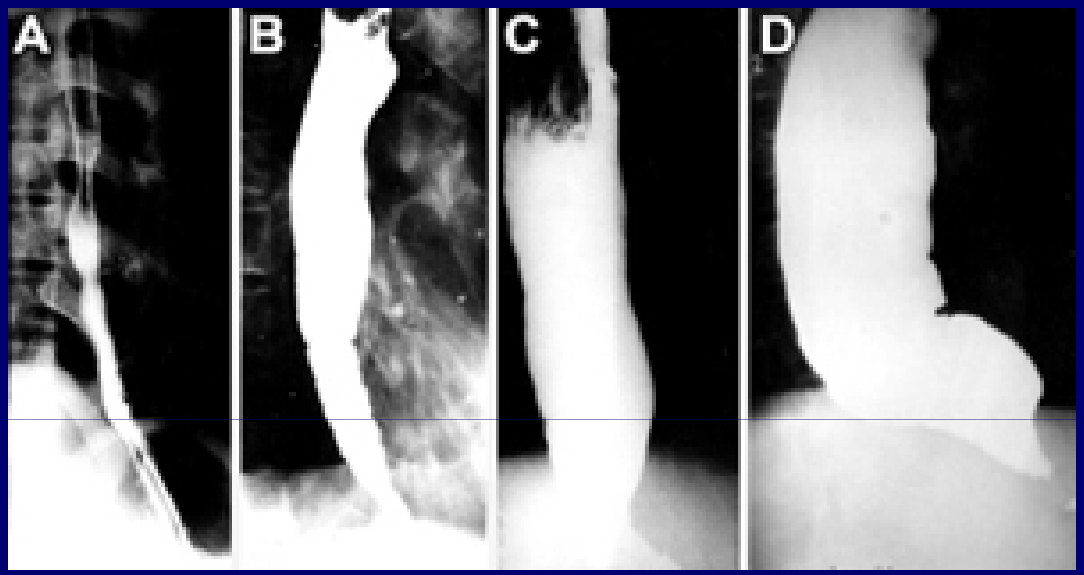
La fisiopatología de la miocardiopatia chagásica crónica es multifactorial



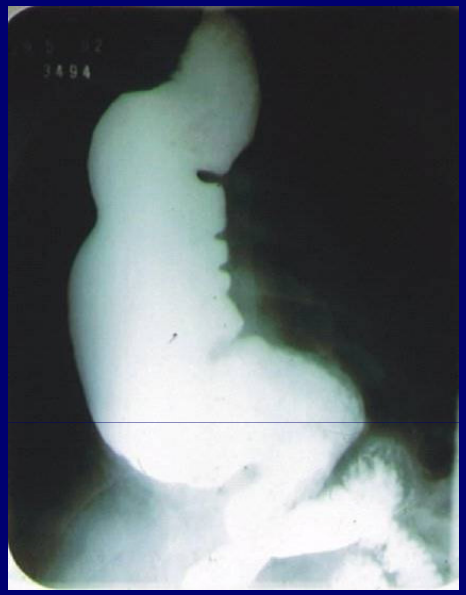
Modificado deMarin-Neto y col., Circulation 2007.

FORMAS CLINICAS: FORMA DIGESTIVA

MEGAVISCERAS



MEGAESOFAGO



MEGACOLON

- Denervación neurovegetativa periférica (principalmente plexos de Auerbach).
- Principales síntomas: disfagia y constipación.
- Esta presentación clínica se observa solo en determinadas regiones geograficas (Nordeste de Brasil, menos frecuente en Argentina y Chile, raro en Región andina y centroamérica.

Tratamiento etiológico de la infección causada por *T. cruzi*

Drogas: Benznidazol y Nifurtimox

Eficacia del tratamiento… depende del tiempo de evolución de la infección

¿HACEMOS UN DESCANSO?

Dra Risso:mkrisso@yahoo.com
Dra Sartor: pausartor@hotmail.com