

Efecto de la infección congénita por *Trypanosoma cruzi* sobre el desarrollo intrauterino y la respuesta inmune fetal-neonatal.

Mary Carmen Pérez-Aguilar¹, Maritza Alarcón², Sonia Araujo² y Loredana Goncalves¹.

¹Laboratorio de Inmunología de Parasitosis (LABINPAR),

²Laboratorio de Parasitología Experimental (LAPEX),

Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela.

Palabras clave: infección congénita, *Trypanosoma cruzi*, desarrollo intrauterino, respuesta inmune, feto, neonato.

Resumen. En la infección congénita por *Trypanosoma cruzi* la morbilidad y mortalidad varían desde casos asintomáticos hasta severos cuadros clínicos de la enfermedad. En recién nacidos infectados por *T. cruzi* se ha encontrado que no existe un perfil clínico determinado, puesto que durante el desarrollo intrauterino se producen diversas alteraciones, presentándose cambios en el perfil serológico y parasitológico. Algunos factores intrínsecos del hospedador, tales como: la barrera placentaria y la capacidad tanto de la madre como del feto de desarrollar una respuesta inmune específica capaz de controlar la multiplicación parasitaria podrían estar involucrados en tales diferencias. Otra posibilidad incluye el polimorfismo genético de *T. cruzi*, pues se considera que las cepas de mayor virulencia pueden atravesar con mayor facilidad la placenta y son más patógenas para el feto y/o neonato.

Effect of congenital infection by *Trypanosoma cruzi* on intrauterine development and the fetal-neonatal immune response.*Invest Clin* 2012; 53(2): 190 - 204

Key words: congenital infection, *Trypanosoma cruzi*, intrauterine development, immune response, fetus, neonate.

Abstract. In congenital infection by *Trypanosoma cruzi*, morbidity and mortality vary from asymptomatic cases to severe clinical forms of the disease. It has been found that there is no specific clinical profile in newborns infected by *T. cruzi*, since during intrauterine development diverse pathological changes take place, causing alterations in the serological and parasitological profiles. Some intrinsic factors of the host, such as: the placental barrier and the ability of both, mother and fetus, to develop a specific immune response to control parasite multiplication, could be involved in such differences. Another possibility includes the genetic polymorphism of *T. cruzi*, since it is considered that strains of greater virulence can cross the placenta more easily and are more pathogenic to the fetus and/or the neonate.

Recibido: 26-09-2011. Aceptado: 29-03-2012

INTRODUCCIÓN

Las estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que a nivel mundial existen 10 millones de personas infectadas con *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) y más de 25 millones se encuentran en riesgo de contraer la infección, principalmente en América Latina (1). Los parásitos son transmitidos por vía vectorial; siendo este el principal modo de transmisión, transfusión de sangre infectada, vía transplacentaria desde la madre al feto, trasplante de órganos, vía oral o infecciones accidentales en laboratorios. Aunque en las áreas endémicas se han desarrollado programas nacionales de control vectorial y selección de los donadores de sangre, la infección congénita por *T. cruzi* y la vía de transmisión vectorial continúan siendo un problema de salud pública. Existe consenso acerca de que aun cuando se interrumpiera totalmente la transmisión vectorial, la in-

fección congénita continuaría siendo un problema de salud pública hasta que las mujeres infectadas en período de gestación disminuyan proporcionalmente, por lo que seguirán apareciendo casos de Chagas congénito por más de treinta años (2).

La transmisión congénita depende de la tasa de prevalencia de infección chagásica en mujeres gestantes y de la tasa de incidencia de la transmisión. Se ha reportado que de acuerdo a la zona endémica, la infección afecta de un 3 a un 51% de las mujeres embarazadas (1). La tasa de transmisión congénita (número de casos congénitos/número de madres chagásicas) en los países del Cono Sur es muy variable, siendo del 1% en Brasil y del 4 al 12% en Argentina, Bolivia, Chile y Paraguay (2).

Estudios realizados en dos centros especializados de Barcelona (España) permitieron detectar infección por *T. cruzi* en el 41% de personas adultas latinoamericanas testadas (3). La prevalencia de infección

entre mujeres latinoamericanas embarazadas alcanzó el 3,4% con una tasa de transmisión vertical del 7,3%. En este mismo estudio, se refiere que el porcentaje de mujeres embarazadas de origen boliviano e infectadas por *T. cruzi* es del 27% (4). En otras investigaciones llevadas a cabo en tres maternidades de la comunidad Valenciana, se detectó un 4,64% de mujeres infectadas (5).

Las causas de la variación en la eficiencia de transmisión madre-hijo son diversas, entre ellas el grado de endemicidad en la región estudiada, características de las madres (estado genético, nutricional, inmunológico), la eficacia de las barreras placentarias para evitar el paso del parásito de la madre al feto, la capacidad materno-fetal de desarrollar una respuesta inmune específica eficaz en el control de la multiplicación parasitaria y el polimorfismo del parásito, dado que *T. cruzi* evoluciona en unidades discretas de tipificación (UDTs) independientes caracterizadas por presentar diferente comportamiento biológico (6-9). Por otro lado, las pruebas utilizadas para el diagnóstico; podrían subestimar o sobreestimar la incidencia de transmisión, no obstante; dado que actualmente existen ensayos con un elevado grado de sensibilidad y especificidad este factor no es tan determinante como los anteriormente mencionados. Actualmente, las constantes migraciones poblacionales desde las áreas endémicas han permitido determinar un mayor número de casos diagnosticados debido a una mayor asistencia a los centros hospitalarios y aumento del número de tamizajes en embarazadas y sus recién nacidos.

Muchos casos de infección congénita han sido reportados en Venezuela y otros países del continente Americano, con descripción de los aspectos clínicos y patológicos de fetos, neonatos y de lesiones placentarias (10-13). Feliciangeli y col. (13) estudiando los factores de riesgo de la infección

humana por *T. cruzi* en el estado Barinas (Venezuela), encontraron 4 niños seropositivos en una población de 3.296 examinados, lo que representa un 0,12%. La madre de uno de esos niños también resultó seropositiva, lo que confirma que la infección congénita es un factor de riesgo de la enfermedad de Chagas particularmente en áreas endémicas.

La infección congénita por *T. cruzi* también ha sido demostrada en animales de laboratorio. Moreno y col. (14, 15) y Alarcón y col. (16) reportaron nidos de amastigotes en el útero grávido de una rata Wistar en fase aguda de la infección, así como en el líquido amniótico y en el músculo esquelético de uno de sus fetos, mientras que en ratas Wistar en fase crónica detectaron parásitos a nivel del músculo cardíaco, esquelético, útero y en células del estroma placentario, asociados a una discreta miocarditis y miositis. La persistencia de parásitos observada a nivel del miometrio y de la placenta indica la posibilidad de que la infección se transmita al feto durante su desarrollo intrauterino.

DESARROLLO INTRAUTERINO Y CRECIMIENTO FETAL DURANTE LA INFECCIÓN CONGÉNITA POR *T. cruzi*

La infertilidad y mortalidad fetal/neonatal asociada a las infecciones congénitas han sido demostradas en infecciones humanas y experimentales por virus, bacterias y protozoarios (17). Tanto los efectos directos de la infección de la placenta y los fetos como los resultados de un embarazo con complicaciones pueden derivarse de alteraciones en los complejos procesos biológicos que están estrechamente regulados por hormonas que participan en la reproducción de los mamíferos (18).

La transmisión congénita de la enfermedad de Chagas puede ocurrir durante cualquier fase clínica de la infección; no

obstante, se ha observado mayor riesgo de transmisión durante la fase aguda (19). Se ha descrito que la fase aguda de la infección por *T. cruzi* afecta la reproducción en ratones ya que induce altas tasas de infertilidad y masivas pérdidas fetales y neonatales, donde la infertilidad está asociada a las altas parasitemias en las mujeres, mientras que las pérdidas fetales y neonatales al final del embarazo se asocian con la invasión parasitaria y la necrosis isquémica de la placenta (19). Otro efecto observado es el retardo en el crecimiento fetal en peso y talla, el cual puede estar asociado a la infección congénita, aun con evidente parasitemia en las madres gestantes (20).

Id Boufker y col. (21) estudiando la embriogénesis de ratones BALB/c infectados por *T. cruzi*, determinaron que en la fase aguda de la infección la ovulación, la fertilización y la primera división del cigoto no se ve afectada ni retrasada; sin embargo desde el estado embrionario de dos células a la fase de blastocisto se produce una desaceleración celular sin alcanzar la fase de ocho células, por lo que en el desarrollo embrionario se produce un número insuficiente de blastómeros mientras que otros degeneran. Estas y otras alteraciones pueden producir irregularidades en los procesos de diferenciación celular, desarrollo intrauterino y crecimiento fetal; tal y como nuestro grupo de investigación observó en 15% de los fetos de ratones NMRI con infección chagásica aguda experimental, en los cuales se encontraron diferencias en la fecundidad, relacionada con la disminución en el número de fetos, al igual que manifestaciones clínicas con retraso en el desarrollo intrauterino y anomalías congénitas morfológicas y estructurales graves (22, Fig. 1).

Diversos estudios en animales experimentales han sugerido que la reducción en el peso corporal y en el tamaño fetal atribuidas a la infección materna por *T. cruzi*,

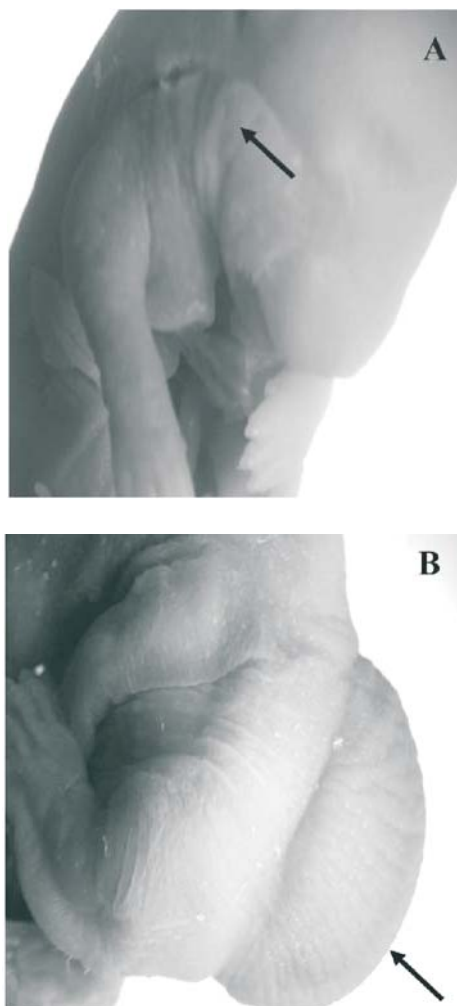


Fig. 1. Anomalías morfológicas y estructurales en fetos de ratones NMRI en fase aguda de la infección por *T. cruzi*. A) Feto con pata superior derecha desarrollada sobre el lado derecho del rostro, B) Feto con protuberancia en la porción dorsal a nivel de la columna vertebral.

es provocada por la disminución en la absorción de alimentos debido a lesiones placentarias que afectan la transferencia de nutrientes de la madre al feto (19, 21). Sala y col. (23), evaluando el efecto de la infección aguda por diferentes cepas de *T. cruzi* en fetos de ratones suizos, observaron que la infección provoca una disminución del peso y longitud del feto, de la longitud del

cordón umbilical, de las relaciones peso fetal/peso placentario y peso fetal/longitud del cordón umbilical. Adicionalmente, estos investigadores encontraron que las cepas de *T. cruzi* muestran un comportamiento diferente, siendo la cepa RC la que afecta en menor medida el crecimiento fetal en comparación con la cepas Y y Bolivia.

Así mismo, Lugo de Yarbuh y col. (24) demostraron que las cepas Y y PLANALTO de *T. cruzi* afectan el desarrollo intrauterino de fetos de ratas Wistar, hecho revelado por la pérdida del peso fetal, las relaciones peso fetal/longitud fetal, peso fetal/peso de la placenta, peso fetal/longitud del cordón umbilical, longitud fetal/longitud del cordón umbilical y longitud fetal/diámetro de la placenta. Restos fetales y placentarios, así como mortalidad fetal, inflamación uterina y anomalías estructurales en los fetos de ratas con altas parasitemias también fueron observados.

Por otra parte, Solana y col. (25) determinaron diferencias en la fecundidad, en la producción de abortos y en la presencia de parásitos en fetos de ratones C3H/HeN infectados con las cepas RA y K98. Dichas evidencias permiten inferir que la transmisión congénita depende de la capacidad fagocítica de los macrófagos placentarios y a su vez confirman que la cepa de *T. cruzi* es un factor determinante en los distintos aspectos de la infección congénita.

TRANSMISIÓN PARASITARIA EN LA INTERFASE MATERNO-FETAL

Las células del trofoblasto están implicadas en la fijación e implantación del embrión y en la posterior formación del corión y de la placenta. Durante el proceso de implantación el trofoblasto invade el estroma endometrial y origina dos capas: el citotrofoblasto y el sincitiotrofoblasto. El citotrofoblasto es la capa más interna del trofoblasto que funciona como anclaje del co-

rión embrionario al endometrio materno, mientras que el sincitiotrofoblasto es la capa más externa del trofoblasto embrionario adosada al citotrofoblasto, cuya función es erosionar los capilares del endometrio materno en el desarrollo de la circulación placentaria (26). Esta proliferación del sincitiotrofoblasto ocasiona la formación de vellosidades coriónicas y los espacios intervellosos con los que incrementan masivamente la superficie disponible para el intercambio de nutrientes entre la madre y el feto. Ambas capas están separadas por la lámina basal; una fina capa compuesta por colágeno IV, laminina, fibronectina y otras proteínas de la matriz extracelular (27).

Durante la transmisión congénita por *T. cruzi* las formas sanguíneas del parásito alcanzan el feto a través de la circulación sanguínea materna pasando a través de la placenta, donde los tripomastigotes se transforman dentro de las células de Hofbauer en amastigotes, en estas células los parásitos se multiplican activamente y luego de la ruptura celular se transforman nuevamente en tripomastigotes, los cuales atraviesan el trofoblasto produciéndose así la infección fetal. El paso de parásitos a través de la placenta, probablemente se deba a una placentitis provocada por la intensa multiplicación parasitaria o por la penetración activa de *T. cruzi* hacia la circulación fetal (28).

La infección parasitaria del trofoblasto ha sido considerada como necesaria para que ocurra la infección transplacentaria, debido a que las células trofoblásticas de la placenta funcionan como la principal barrera en la transferencia materno-fetal de cualquier microorganismo o agente infeccioso (29), por lo que la ausencia de infección congénita en la mayoría de los fetos, a pesar de la presencia de numerosos parásitos en sangre materna muestran la eficacia de la capa trofoblástica de la placenta en el bloqueo del paso de parásitos de la madre

al feto (30). Sin embargo, los mecanismos por los cuales la capa trofoblástica previene la infección fetal es muy poco comprendida, aunque ha sido sugerido que enzimas lisosómicas pueden limitar el paso de *T. cruzi* (31).

Los estudios histopatológicos realizados en placentas de mujeres chagásicas han mostrado una amplia diversidad patológica, con infiltrado inflamatorio en las vellosidades coriónicas, presencia de nidos de amastigotes y áreas de necrosis (24). Igualmente, se han observado parásitos en los fibroblastos coriónicos y en el mesénquima sub-amniótico del sinus marginal donde las membranas se unen al corión (2). En estos casos las placentas infectadas adquieren un notable incremento en peso, observándose pálidas y edematosas, con un aspecto similar al de las placentas de mujeres con sífilis, toxoplasmosis y en la eritroblastosis fetal (27).

Durante la gestación, las células del sincitiotrofoblasto sufren procesos de apoptosis como parte del mecanismo normal de recambio o remodelación del tejido placentario; por otra parte, es conocido que *T. cruzi* induce, retrasa o inhibe la apoptosis en otros tejidos de mamíferos. Con el fin de explorar algunos aspectos morfológicos de la infección por *T. cruzi* en la placenta y el efecto de la invasión de parásitos en la apoptosis, Duaso y col. (32,33) incubaron explantes de vellosidades coriónicas de placenta humana normal con tripomastigotes durante 24 horas. Los autores encontraron que *T. cruzi* induce la destrucción del sincitiotrofoblasto, la desorganización selectiva de la lámina basal y el colágeno en el tejido conectivo del estroma vellosa, así como la apoptosis en las vellosidades coriónicas. Estos resultados sugieren una participación de la actividad proteolítica del parásito e indican que la apoptosis es uno de los mecanismos involucrados en la invasión parasitaria de la placenta y en la transmisión de la infección al feto.

Adicionalmente, se ha demostrado que los tripomastigotes metacíclicos se adhieren a receptores específicos expresados en la superficie de la célula hospedadora provocando movilización de calcio, reorganización de los filamentos de actina, reclutamiento de lisosomas y la internalización del parásito (34). Mediante técnicas de inmunohistoquímica se ha observado la presencia de actina en el sincitiotrofoblasto de la placenta de mujeres no chagásicas evidenciada por un intenso marcaje (35), no obstante luego del cultivo con tripomastigotes el marcaje desaparece; lo que indica que el parásito induce el reordenamiento de la actina cortical cuando la placenta es infectada.

DIVERSIDAD GENÉTICA Y ESTRUCTURA DE POBLACIONES DE *T. cruzi*

Estudios biológicos, bioquímicos y moleculares han demostrado que *T. cruzi* es un taxón muy heterogéneo, con numerosos polimorfismos genéticos y proteicos (36-38). Anteriormente se clasificó al parásito en dos divisiones denominadas Unidades Discretas de Tipificación o UDT (I y II, estando la UDTII constituida por cinco subdivisiones: UDTs IIa-e) (39). Una UDT es una colección de aislados de *T. cruzi* que están más estrechamente relacionados entre sí que con otros aislados cuando son caracterizados con marcadores genéticos, moleculares o inmunológicos (40).

Aunque inicialmente se pensó que la variabilidad genética de *T. cruzi* era el resultado de una evolución predominantemente clonal (41), evidencias crecientes indican que el intercambio genético entre parásitos ha contribuido a la actual estructura poblacional (42). Algunos autores señalan que las UDTs I y IIb son linajes antiguos, que las UDTs IIc y IIe son el producto de al menos dos eventos de hibridización (39,43,44) y que la evolución de las UDTs IIa y IIc podría tener un origen híbrido

(45). Los análisis de microsatélites y ADN mitocondrial indicaron que la UDT IIc podría representar un tercer linaje ancestral el cual fue denominado *T. cruzi* III (46).

En el 2009, se llegó a un consenso en la nomenclatura y status de las subdivisiones de *T. cruzi*, clasificándolo en seis UDTs (*T. cruzi* I-VI). A pesar de las controversias existentes acerca de las relaciones filogenéticas entre las diferentes subdivisiones de *T. cruzi*, se han establecido algunos acuerdos generales basados en las evidencias disponibles en la actualidad: la evolución de las UDTs ha sido básicamente clonal, con algunos intercambios genéticos antiguos y eventos de recombinación e hibridación que han tenido un impacto importante en la generación de la diversidad genética dentro de este taxón (47).

Estas UDTs se distribuyen diferencialmente entre las diversas especies de triatominos, hospedadores mamíferos y hábitats en distintas áreas geográficas (48). A pesar que todas las cepas de *T. cruzi* pueden causar la enfermedad en humanos, algunos estudios sugieren que TcII, TcV y TcVI están más asociados con ambientes antrópicos y con pacientes con la enfermedad de Chagas crónica; TcIV y TcIII con ambientes silvestres, y TcI con ambos (49). Actualmente se están estudiando los aislados de los parásitos disponibles para determinar cómo se distribuyen las UDTs en los diferentes hospedadores y localidades, cómo es la dinámica de su transmisión y qué tipo de patologías causan al ser humano (50,51).

Estudios moleculares ejecutados por Virreira y col. (52) han demostrado que el genotipo de las UDTs TcII, TcV y TcVI es idéntico tanto en la madre como en el recién nacido, que es lo esperado cuando se transmite una cepa de *T. cruzi* de la madre infectada a su feto. No obstante, en algunos casos los autores observaron variantes en el ADNk de la UDT TcV, independientemente de la parasitemia o estado clínico, lo que

indica que no existe una asociación entre la ocurrencia de infección congénita o el desarrollo de una forma clínica severa con el polimorfismo del ADN de *T. cruzi*. Estas discrepancias entre los genotipos de *T. cruzi* en las madres y sus recién nacidos pudiesen estar asociadas a una mayor multiplicación del parásito en el feto infectado en comparación con su madre, la cual es susceptible a mutaciones que generan rápidamente nuevas cepas detectadas en el neonato. Otra posible interpretación pudiese ser la infección mixta en la madre, seguida por el pasaje transplacentario de las cepas, donde la rápida multiplicación de una de ellas hace que sea la dominante en el feto (52).

RESPUESTA INMUNE FRENTE A LA INFECCIÓN POR *T. cruzi*

Durante el embarazo se produce una supresión transitoria de la inmunidad mediada por células, con disminución de las funciones efectoras de las células T CD8+ y bajos niveles de células T CD4+ y NK (*Natural Killer*), para prevenir el rechazo del feto por el sistema inmune de la madre (53). Este ambiente de inmunosupresión fisiológica puede llevar a que tanto en la madre como en el feto se produzca un incremento en la susceptibilidad para adquirir infecciones por microorganismos patógenos (54).

El feto es generalmente considerado como inmaduro a nivel inmune desde el punto de vista del reconocimiento de antígenos extraños puesto que la placenta le otorga un ambiente inmunoprivilegiado; no obstante, se ha demostrado que los fetos infectados por *T. cruzi*, son perfectamente capaces de desarrollar una respuesta inmune celular antígeno-específica ya que ellos poseen el repertorio de linfocitos capaces de ser activados al reconocer antígenos extraños, aun cuando se ubiquen a nivel periférico (5).

Aunque la supresión transitoria del embarazo puede influir en la respuesta inmune del feto, aún se desconocen los factores que favorecen la transmisión vertical de *T. cruzi*, así como los que protegen a la gran mayoría de los hijos de madres infectadas, los cuales permanecen libres de la infección (17, 55). Sin embargo, la transferencia materno-fetal de antígenos de *T. cruzi* podría influir en la capacidad de la progeñie de responder a la infección al modular positivamente su sistema inmune (56).

A diferencia de las células T y células B pero de manera similar a otras células del sistema inmune innato, las células NK pueden ser activadas a través de diferentes receptores que pueden actuar individualmente o en combinación, dependiendo de los ligandos presentes en la célula diana. No existe un único receptor activador dominante en las células NK, sino que participan múltiples receptores y co-receptores que reconocen diferentes ligandos, de los cuales algunos se expresan basalmente en células normales, como las moléculas del MHC de clase I y otros se inducen en células sometidas a estrés (57).

Por otra parte, se encuentran receptores inhibidores implicados en el reconocimiento de las moléculas del MHC de clase I, algunos también presentes en subpoblaciones de células T citotóxicas (58). Los receptores inhibidores poseen secuencias ITIM (del inglés, *Immunoreceptor Tyrosine-Based Inhibitory Motif*) que contribuyen al reclutamiento de tirosinofosfatasas y regulan tanto la función citotóxica como la producción de citocinas (59). Las células NK pueden expresar distintas combinaciones de estos receptores inhibidores, pero al menos uno de ellos reconoce moléculas del MHC propias. La señal de un receptor inhibidor prevalece sobre las transmitidas a través de receptores activadores, contribuyendo a preservar la tolerancia frente a células autólogas. Se han encontrado numerosas moléculas de

membrana implicadas en la señal de activación de las células NK, de las que en su gran mayoría se desconoce el ligando que reconocen, entre ellas podemos destacar: NKG2D, NKp44, NKp46, NKR-P1, NKp30, NKG2C, entre otros (60-62). Los receptores inhibidores, son clasificados dentro de receptores de la superfamilia de las inmunoglobulinas o de las lectinas tipo C (63).

Hermann y col (64, 65) evaluaron el fenotipo y actividad de células NK de cordón umbilical de recién nacidos con infección congénita por *T. cruzi*, encontrando que la proporción de células NK CD56^{brigh} disminuye significativamente y presentan una capacidad deficiente de secretar IFN- γ luego de la activación *in vitro* con IL-2, IL-12, o IL-15, en comparación con las células NK de los recién nacidos sanos. Las células NK estimuladas con citocinas mostraron una menor secreción de granzima B (GrB) cuando son incubadas con las células blanco K562. Los defectos en las funciones citotóxicas efectoras estuvieron asociadas a una disminución en la expresión de NKp30, NKp46 y NKG2D en las células NK CD56^{dim}. Estas alteraciones pueden ser el resultado de una modulación de la respuesta inmune inducida por parte del parásito, lo cual representaría una forma para mejorar su supervivencia en el hospedador.

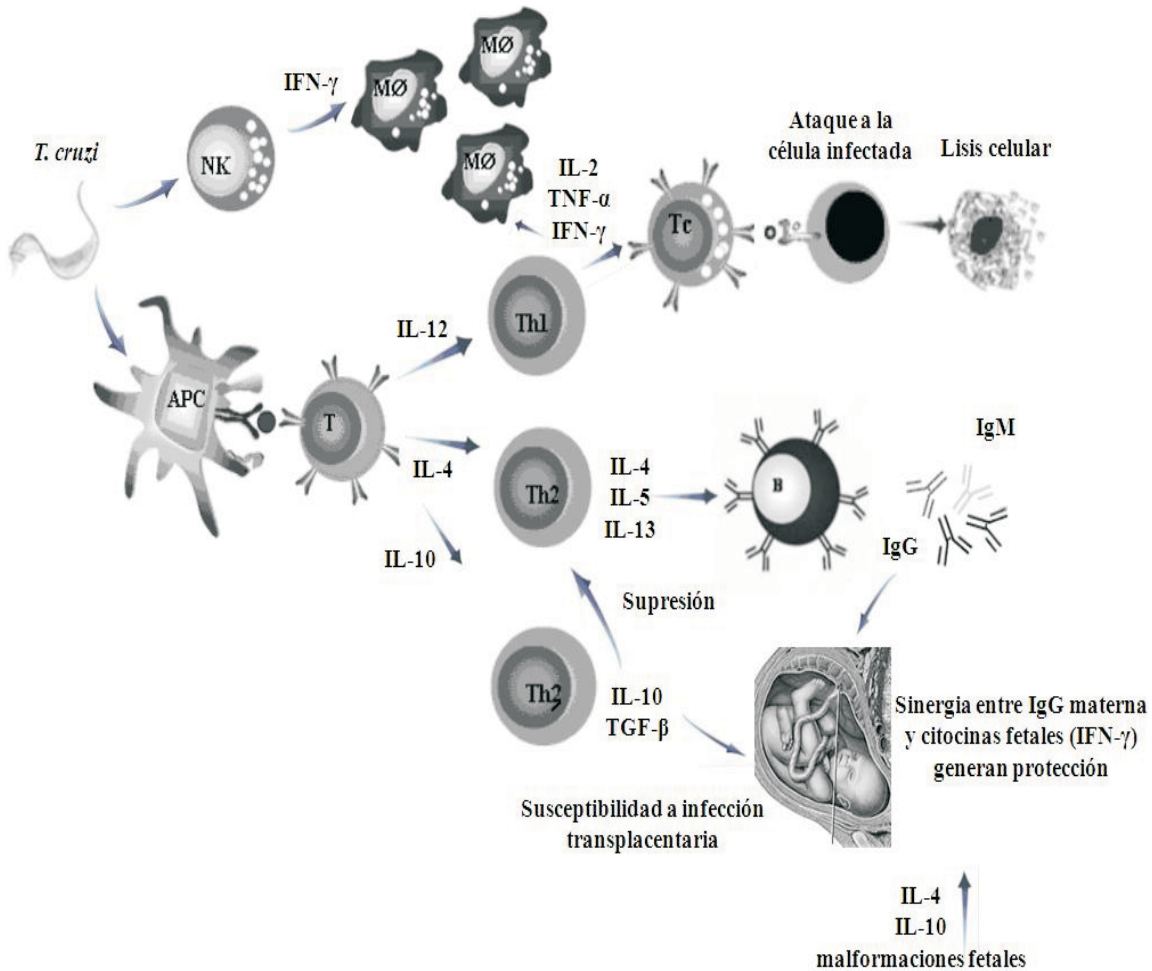
Se ha sugerido que el parásito libera mucinas, las cuales son consideradas potentes agentes inflamatorios que estimulan la síntesis de TNF- α , de tal forma que la intensa multiplicación parasitaria en diferentes órganos y en la placenta al final del embarazo puede contribuir en la producción y secreción de altos niveles de TNF- α comprometiendo así la viabilidad fetal (22), adicionalmente; dichas moléculas activan monocitos y macrófagos (66, 67). En base al papel central que ejercen los macrófagos en el control de la multiplicación de *T. cruzi* se puede pensar que los monocitos activados en los neonatos sanos nacidos de ma-

dres infectadas, en sinergia o no con los anticuerpos transmitidos por la madre o producidos propiamente en el recién nacido podrían también contribuir a protegerlo contra tal infección (Fig. 2).

Truyens y col. (30), encontraron que los neonatos no infectados, nacidos de madres infectadas por *T. cruzi* desarrollan *in útero* una ligera activación de células T sin polarización hacia el tipo Th1 o Th2 y una

clara respuesta de células B evidenciada por la producción de anticuerpos IgM e IgA específicos para *T. cruzi*. En referencia a la IgG, esta tiene bajo valor predictivo positivo debido a la transferencia pasiva de IgG materna.

En sangre de cordón umbilical de recién nacidos con infección congénita por *T. cruzi* se ha reportado un predominio de células T CD8+ activadas que expresan los



NK (Célula Natural Killer), ‡ APC (Célula Presentadora de Antígenos), § MØ (Macrófago), * Tc (Célula T citotóxica), ** B (Célula B), *** T (Célula T).

Fig. 2. Respuesta inmune frente a la infección por *T. cruzi*. El control parasitario depende de la inmunidad mediada por células T CD4+ del fenotipo Th1; siendo el IFN- γ , la IL-2 y el TNF- α las citocinas implicadas en la resistencia a la infección chagásica en la madre gestante, mientras que la IL-4 producida por las células Th2 y la IL-10 producida por las células Th3 favorecen la infección. El efecto sinérgico entre los anticuerpos y citocinas maternas al igual que el IFN- γ producido por el feto le confieren resistencia a la infección. Los altos niveles de IL-4 e IL-10 fetales inducen la generación de malformaciones.

marcadores de activación CD45RO+, HLADR+, CD25+ y CD69+. También se han detectado células T CD8+ parásito-específicas secretoras de IFN- γ luego de ser incubadas con *T. cruzi*; respuesta que se ve reforzada con la presencia de IL-15 recombinante, lo que limita la apoptosis espontánea de las células (8). Estos resultados señalan que el sistema inmune del feto infectado es parcialmente competente, ya que al ser expuesto a patógenos es capaz de desarrollar una respuesta inmune de células T CD8 similar a la del adulto.

Algunos investigadores han reportado que las células T CD8+ es la subpoblación predominante en la fase aguda de la infección por *T. cruzi* (68), mientras que otros sugieren que la subpoblación dominante son las células T CD4+ (69). Recientemente, nuestro grupo de investigación detectó células T CD4+ productoras de IFN- γ , depósitos de IFN- γ e IL-10 en placenta, corazón y músculo esquelético de fetos de ratones NMRI en fase aguda de la infección por *T. cruzi*, así como depósitos de IL-4 y células CD4+/IL-10+ en fetos con malformaciones congénitas (70, Fig. 2). Altemani y col. (26), a través de estudios inmunohistoquímicos de caracterización de infiltrados inflamatorios han descrito predominio de células T CD8+ sobre otros tipos celulares como: células T CD4+, macrófagos CD68+, células CD15+ y células NK. La escasa cantidad de células T CD4+ detectada por estos investigadores probablemente no refleje su verdadera importancia en el proceso infeccioso, ya que las células T CD4+ del fenotipo Th1, son las principales responsables de la inducción de la respuesta inmune protectora desarrollada tanto en la fase aguda como en la fase crónica de la infección por *T. cruzi* tal y como ocurre en otros modelos de infecciones por parásitos intracelulares como *Leishmania major* y *Toxoplasma gondii* (71, 72).

CONCLUSIONES

La transmisión de *T. cruzi* depende de factores inmunológicos y placentarios específicos e individuales de cada madre la cual puede modificar su capacidad de controlar tal transmisión. Otro factor determinante es la diversidad genética de las cepas de *T. cruzi* circulantes en reservorios selváticos y domésticos, dado que cada cepa posee características propias; entre ellas la virulencia y capacidad patogénica.

La actina cumple importantes funciones en muchos procesos celulares, entre ellos la invasión de parásitos en las células de mamíferos. Es por ello que el reordenamiento de actina cortical podría ser un primer paso involucrado en el mecanismo de invasión de *T. cruzi* en las células de la placenta, con el fin de permitir el acceso a los lisosomas y la formación de la vacuola parasitófora. Por otro lado es bien conocido que el parásito altera la actividad de la fosfatasa alcalina placentaria, sugiriendo que dicha enzima puede participar en el proceso de invasión de *T. cruzi* en las células del sincitiotrofoblasto.

El hecho de que nazcan recién nacidos sanos provenientes de madres infectadas sugiere que los antígenos parasitarios son transmitidos de la madre infectada hasta su feto, induciendo una respuesta inmune en los mismos. Estos antígenos podrían ser moléculas liberadas por los tripomastigotes circulantes en sangre materna o por los amastigotes presentes en la placenta. Adicionalmente, el estado de activación celular inducido en estos recién nacidos y probablemente en fetos, pudiese estimular la producción de citocinas pro y anti-inflamatorias en presencia de antígenos del parásito; tal influencia materna en la inmunidad innata y adquirida del neonato puede tener un efecto protector, limitando de esta forma la susceptibilidad a la infección congénita.

En base a la función principal que cumplen las citocinas como mensajeros de comunicación entre las células del sistema inmune, el total esclarecimiento de las complejas interacciones y el modo de acción de dichas proteínas; así como los mecanismos involucrados en la activación de una respuesta inmune celular en el feto podría tener prometedoras implicaciones terapéuticas.

REFERENCIAS

1. OMS. La Enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Nota descriptiva N° 340, Mayo de 2010.
2. Carlier Y, Torrico F. Congenital infection with *Trypanosoma cruzi*: from mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control. Rev Soc Bras Med Trop 2003; 36:767-771.
3. Muñoz J, Coll O, Juneosa T, Vergés M, Del Pino M, Fumado V, Bosch J, Posada EJ, Hernandez S, Fisa R, Bogaña JM, Gállego M, Sanz S, Portús M, Gascón J. Prevalence and vertical transmission of *Trypanosoma cruzi* infection among pregnant Latin American women attending 2 maternity clinics in Barcelona, Spain. Clin Infect Dis. 2009; 15:1736-1740.
4. Muñoz J, Portús M, Corachán M, Fumadó V, Gascon J. Congenital *Trypanosoma cruzi* infection in a non-endemic area. Trans R Soc Trop Med Hyg 2007; 101:1161-1162.
5. Paricio JM, Benlloch MJ, Collar JI, Rubio A, Serrat C, Magraner J, Landa L, Sánchez M, Beseler B, Santos L, Ferriol M, Mut J, Tomás M, Alonso MC, Domínguez V, Igual R. Vigilancia epidemiológica de la transmisión vertical de la enfermedad de Chagas en tres maternidades de la Comunidad Valenciana. Enf Infecc Microbiol Clin 2008; 26:609-613.
6. Toledo MJ, de Lana M, Carneiro CM, Bahia MT, Machado-Coelho GL, Veloso VM, Barnabé C, Tibayrene M, Tafuri WL. Impact of *Trypanosoma cruzi* clonal evolution on its biological properties in mice. Exp Parasitol 2002; 100:161-172.
7. Hermann E, Truyens C, Alonso-Vega C, Even J, Rodríguez P, Berthe A, Gonzalez-Merino E, Torrico F, Carlier Y. Human fetuses are able to mount an adultlike CD8 T-cell response. Blood 2002; 100:2153-2158.
8. Hermann E, Truyens C, Alonso-Vega C, Rodríguez P, Berthe A, Torrico F, Carlier Y. Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi* is associated with maternal enhanced parasitemia and decreased production of interferon-gamma in response to parasite antigens. J Infect Dis 2004; 189:1274-1281.
9. Jasso-Gutiérrez L. Infecciones congénitas de baja frecuencia en los neonatos: Algunos aspectos relevantes. Bol Med Hosp Infant Mex 2011; 68:7-20.
10. Pavia PX, Montilla M, Flórez C, Herrera G, Ospina JM, Manrique F, Nicholls RS, Puerta C. The first case of congenital Chagas' disease analyzed by AP-PCR in Colombia. Biomédica 2009; 29:513-522.
11. Ramos JM, Milla A, Sánchez V, Vergés M, Toro C, Gutierrez F. Cribado prenatal de la infección por *Trypanosoma cruzi* y virus linfotrópico humano de células T en gestantes latinoamericanas. Enferm Infecc Microbiol Clin 2009; 27:165-167.
12. Sosa-Estani S, Dri L, Touris C, Abalde S, Dell'Arciprete A, Braunstein J. Transmisión vertical y congénita de *Trypanosoma cruzi* en las Lomitas, Formosa. Medicina (Buenos Aires) 2009; 69:424-430.
13. Feliciangeli MD, Sánchez-Martín MJ, Suarez B, Marrero R, Torrellas A, Bravo A, Medina M, Martínez C, Hernández M, Duque J, Rangel R. Risk factor for *Trypanosoma cruzi* human infection in Barinas state, Venezuela. Am J Trop Med Hyg 2007; 76:915-921.
14. Moreno EA, Méndez MJ, Alarcón ME, Araujo S, Luño de Yarbuh A, Moreno SC. Reactivación de la infección chagásica en ratas Wistar gestantes. Kasmera 2005; 33:51-63.
15. Moreno EA, Quintero AC, Alarcón ME, Luño de Yarbuh A, Moreno SC, Araujo S, Borges R. Investigaciones sobre la transmisión vertical de *Trypanosoma cruzi* en ratas Wistar crónicamente infectadas. Bol Mal Salud Amb 2006; 46:149-160.

16. Alarcón M, Luño de Yarbuh A, Moreno EA, Payares G, Araujo S, Colmenares M. Presencia de *Trypanosoma cruzi* en tejidos de ratas Wistar infectadas experimentalmente y sus fetos. *Bol Mal Salud Amb* 2006; 46:137-148.
17. McDonald HM, Chambers HM. Intrauterine infection and spontaneous mid-gestation abortion: is the spectrum of microorganism similar to that in preterm labor? *Infect Dis Obstet Gynecol* 2000; 8:220-227.
18. de Souza EM, Rivera MT, Araujo TC, de Castro SL. Modulation induced by estradiol in the acute phase of *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *Parasitol Res* 2001; 87:513-520.
19. Mjihdi A, Lambot MA, Steward IJ, Detournay O, Noel JC, Carlier Y, Truyens C. Acute *Trypanosoma cruzi* infection in mouse induces infertility or placental parasite invasion and ischemic necrosis associated with massive fetal loss. *Am J Pathol* 2002; 161:673-680.
20. Carlier Y. Factors and mechanisms involved in the transmission and development of congenital infection with *Trypanosoma cruzi*. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38:105-107.
21. Id Boufker H, Alexandre H, Carlier Y, Truyens C. Infertility in murine acute *Trypanosoma cruzi* infection is associated with inhibition of preimplantation embryo development. *Am J Pathol* 2006; 169:1730-1738.
22. Pérez MC, Alarcón M, Goncalves L, Luño de Yarbuh A, Moreno E, Araujo S, Villarréal J. Anomalías morfológicas y estructurales en fetos de ratones con infección aguda experimental por *Trypanosoma cruzi*. *Bol Mal Salud Amb* 2008; 48:127-134.
23. Sala M, Lopes RA, Carraro A, Menenguette C. Efecto de La infección aguda por diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi* sobre el crecimiento intrauterino de fetos de ratón. *Parasitol Latinoam* 2006; 61:69-73.
24. Luño de Yarbuh A, Araujo S, Alarcón M, Moreno E, De Ascensao A, Carrasco HJ. Efecto de la infección aguda por diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi* en fetos de ratas. *Rev Cient* 2010; 20:353-361.
25. Solana ME, Celentano AM, Tekiel V, Jones M, Gonzalez Cappa SM. *Trypanosoma cruzi*: Effect of parasite subpopulation on murine pregnancy outcome. *J Parasitol* 2000; 88:102-106.
26. Altemani A, Bittencourt A, Lana A. Immunohistochemical characterization of the inflammatory infiltrate in placental Chagas disease: a qualitative and quantitative analysis. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 62:319-326.
27. Purizaca-Benites M. La placenta y la barrera placentaria. *Rev Per Ginecol Obstet* 2008; 54:270-278.
28. Kemmerlinga U, Boscoa C, Galantib N. Infection and invasion mechanisms of *Trypanosoma cruzi* in the congenital transmission of Chagas' disease: A proposal. *Biol Res* 2010; 43:307-316.
29. Stuart H, Christopher M, Cisar M, Wu T, Andrew J. Use of the placental perfusion model to evaluate transplacental passage of *Trypanosoma cruzi*. *Am J Obst Gynecol* 2005; 192:586-591.
30. Truyens C, Hermann E, Vega C, Rodríguez P, Vekemans J, Torrico F, Carlier Y. Respuesta inmune en neonatos no infectados nacidos de madres infectadas con *Trypanosoma cruzi*. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38:96-100.
31. Sartori MJ, Mezzano L, Lin S, Repossi G, Fabro SP. Cellular components and placental alkaline phosphatase in *Trypanosoma cruzi* infection. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38:87-91.
32. Duaso J, Rojo G, Cabrera G, Galanti N, Bosco C, Maya JD, Morello A, Kemmerling U. *Trypanosoma cruzi* induces tissue disorganization and destruction of chorionic villi in an ex vivo infection model of human placenta. *Placenta* 2010; 31:705-711.
33. Duaso J, RojoG, Jaña F, Galanti N, Cabrera G, Bosco C, López-Muñoz R, Maya JD, Ferreira J, Kemmerling U. *Trypanosoma cruzi* induces apoptosis in ex vivo infected human chorionic villi. *Placenta* 2011; 32:356-361.
34. Sartori MJ, Lin S, Frank FM, Malchiodi EL, de Fabro SP. Role of placental alkaline phosphatase in the interaction be-

- tween human placental trophoblast and *Trypanosoma cruzi*. *Exp Mol Pathol* 2002; 72:84-90.
35. Sartori MJ, Pons P, Mezzano L, Lin S, de Fabro SP. *Trypanosoma cruzi* infection induces microfilament depletion in human placenta syncytiotrophoblast. *Placenta* 2003; 24:767-771.
 36. Tibayrenc M, Ayala FJ. The clonal theory of parasitic protozoa: 12 years on. *Trends Parasitol* 2002; 18:405-410.
 37. Ruiz-Garcia M, Montilla M, Nicholls SO, Angarita L, Alvarez D. Genetic relationships and spatial genetic structure among clonal stocks of *Trypanosoma cruzi* in Colombia. *Heredity* 2000; 85:318-327.
 38. Telleria J, Biron DG, Brizard JP, Demettre E, Séveno M, Barnabé C, Ayala FJ, Tibayrenc M. Phylogenetic character mapping of proteomic diversity shows high correlation with subspecific phylogenetic diversity in *Trypanosoma cruzi*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107:2041-2046.
 39. Freitas JM, Augusto-Pinto L, Pimenta JR, Bastos-Rodrigues L, Gonçalves VF, Teixeira SM, Chiari E, Junqueira AC, Fernandes O, Macedo AM, Machado CR, Pena SD. Ancestral genomes, sex and the population structure of *Trypanosoma cruzi*. *PLoS Pathog* 2006; 2: e24.
 40. Zingales B, Andrade SG, Briones MR, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O, Guhl F, Lages-Silva E, Macedo AM, Machado CR, Miles MA, Romanha AJ, Sturm NR, Tibayrenc M, Schijman AG. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009; 104:1051-1054.
 41. Tibayrenc M, Ward P, Moya A, Ayala FJ. Natural populations of *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas disease, have a complex multiclonal structure. *Proc Nat Acad Sci USA* 1986; 83: 115-119.
 42. Sturm NR, Campbell DA. Alternative lifestyles: the population structure of *Trypanosoma cruzi*. *Acta Trop* 2009; 15: 35-43.
 43. Brisse S, Barnabé C, Tibayrenc M. Identification of six *Trypanosoma cruzi* phylogenetic lineages by random amplified polymorphic DNA and multilocus enzyme electrophoresis. *Int J Parasitol* 2000; 30: 35-44.
 44. Tomazi L, Kawashita SY, Pereira PM, Zingales B, Briones MRS. Haplotype distribution of five nuclear genes based on network genealogies and Bayesian inference indicates that *Trypanosoma cruzi* hybrid strains are polyphyletic. *Genet Mol Res* 2009; 8:458-476.
 45. Westenberger SJ, Barnabé C, Campbell D, Sturm NR. Two hybridization events define the population structure of *Trypanosoma cruzi*. *Genetics* 2005; 171:527-543.
 46. Sturm NR, Vargas NS, Westenberger SJ, Zingales B, Campbell DA. Evidence for multiple hybrid groups in *Trypanosoma cruzi*. *Int J Parasitol* 2003; 33:269-279.
 47. Noireau N, Diosque P, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. *Vet Res* 2009; 40:26.
 48. Yeo M, Acosta N, Llewellyn M, Sanchez H, Adamson S, Miles GA, Lopez E, Gonzalez N, Patterson JS, Gaunt MW, de Arias AR, Miles MA. Origins of Chagas disease: Didelphis species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. *Int J Parasitol* 2005; 35:225-233.
 49. Telleria J, Lafay B, Virreira M, Barnabé C, Tibayrenc M, Svoboda M. *Trypanosoma cruzi*: Sequence analysis of the variable region of kinetoplast minicircles. *Exp Parasitol* 2006; 114:279-288.
 50. Flores-López CA, Machado CA. Analyses of 32 loci clarify phylogenetic relationships among *Trypanosoma cruzi* lineages and support a single hybridization prior to human contact. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5:e1272.
 51. Yeo M, Mauricio IL, Messenger LA, Lewis MD, Llewellyn MS, Acosta N, Bhattacharyya T, Diosque P, Carrasco HJ, Miles MA. Multilocus sequence typing (MLST) for lineage assignment and high resolution diversity studies in *Trypanosoma cruzi*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011; 5:e1049.
 52. Virreira M, Truyens C, Alonso-Vega C, Brutus L, Jijena J, Torrico F, Carlier Y,

- Svoboda M. Comparison of *Trypanosoma cruzi* lineages and levels of parasitic DNA in infected mothers and their newborns. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 77:102-106.
53. Raghupathy R. Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm. *Semin Immunol* 2001; 13:219-227.
54. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today* 1993; 14:353-356.
55. Pérez MC, Goncalves L, Alarcón M. Transmisión congénita por *Trypanosoma cruzi*: Aspectos de la respuesta inmune fetal. *Bol Mal Salud Amb* 2009; 49:175-180.
56. Alonso-Vega C, Hermann E, Truyens C, Rodríguez P, Torrico MC, Torrico F, Carlier Y. Immunological status of mothers infected with *Trypanosoma cruzi*. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38:101-104.
57. Moretta L, Moretta A. Unraveling natural killer cell function: triggering and inhibitory human NK receptors. *EMBO J* 2004; 23:255-259.
58. Christopher W, McMahon C, Raulet DH. Expression and function of NK cell receptors in CD8+ T cells. *Curr Opin Immunol* 2001; 13:465-470.
59. Parham P. MHC class I molecules and KIRs in human history, health and survival. *Nat Rev Immunol* 2005; 5:201-214.
60. Shiroishi M, Tsumoto K, Amano K, Shirakihara Y, Colonna M, Braud VM, Allan DS, Makadzange A, Rowland-Jones S, Willecox B, Jones EY, van der Merwe PA, Kumagai I, Maenaka K. Human inhibitory receptors Ig-like transcript 2 (ILT2) and ILT4 compete with CD8 for MHC class I binding and bind preferentially to HLA-G. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:8856-8861.
61. Cerboni C, Ardolino M, Santoni A, Zingoni A. Detuning CD8+ T lymphocytes by down-regulation of the activating receptor NKG2D: role of NKG2D ligands released by activated T cells. *Blood* 2009; 113:2955-2964.
62. Navarro F, López-Botet M. Receptores de células NK específicos para moléculas HLA de clase I. *Inmunología* 2001; 20:38-48.
63. Raulet DH. Interplay of natural killer cells and their receptors with the adaptive immune response. *Nat Immunol* 2004; 5: 996-1002.
64. Hermann E, Alonso-Vega C, Berthe A, Truyens C, Flores A, Cordova M, Moretta L, Torrico F, Braud V, Carlier Y. Human congenital infection with *Trypanosoma cruzi* induces phenotypic and functional modifications of cord blood NK cells. *Pediatr Res* 2006; 60:38-43.
65. Hermann E, Berthe A, Truyens C, Alonso-Vega C, Parrado R, Torrico F, Carlier Y, Braud V. Killer cell immunoglobulin-like receptor expression induction on neonatal CD8+ T cell *in vitro* and following congenital infection with *Trypanosoma cruzi*. *Immunology* 2010; 129:418-426.
66. Torrico F, Vega A, Suarez E, Rodríguez P, Torrico-Cruz M, Dramaix M, Truyens C, Carlier Y. Maternal *Trypanosoma cruzi* infection, pregnancy outcome, morbidity and mortality of congenitally infected and non-infected newborns in Bolivia. *Am J Trop Med Hyg* 2004; 70:201-209.
67. Campos MA, Almeida IC, Tackeuchi O, Akira S, Valente EP, Procopio DO, Travassos IR, Smith JA, Golenbock DT, Gazzinelli RT. Activation of Toll-like receptor-2 by glycosylphosphatidylinositol anchors from a protozoan parasite. *J Immunol* 2001; 167:416-423.
68. Padilla A, Xu D, Martin D, Tarleton R. Limited role for CD4+ T-cell help in the initial priming of *Trypanosoma cruzi*-specific CD8+ T cells. *Infect Immun* 2007; 75:231-235.
69. Mariano FS, Gutierrez FR, Pavanelli WR, Milanezi CM, Cavassani KA, Moreira AP, Ferreira BR, Cunha FQ, Cardoso CR, Silva JS. The involvement of CD4+CD25+ T cells in the acute phase of *Trypanosoma cruzi* infection. *Microbes Infect* 2008; 10: 825-833.
70. Alarcón M, Goncalves L, Colasante C, Araujo S, Moreno E, Pérez-Aguilar MC. La infección por *Trypanosoma cruzi* en ratones gestantes induce una respuesta inmune celular con producción de citocinas en sus fetos. *Invest Clín* 2011; 52:150-161.

-
71. **Colpitts SL, Scott P.** The early generation of a heterogeneous CD4+ T cell response to *Leishmania major*. *J Immunol* 2010; 185:2416-2423.
72. **Jankovic D, Kullberg MC, Feng CG, Goldszmid RS, Collazo CM, Wilson M, Wynn TA, Kamanaka M, Flavell RA, Sher A.** Conventional T-bet+Foxp3- Th1 cells are the major source of host-protective regulatory IL-10 during intracellular protozoan infection. *J Exp Med* 2007; 204:273-283.