

Repensando la patogenia de la cardiopatía crónica chagásica en el fin del milenio

La patogenia de la cardiopatía crónica chagásica (CCCh) se encuentra bajo intenso debate^{1,2}. Aun cuando los infiltrados miocárdicos por linfocitos T han sido implicados como los responsables últimos del daño tisular, el hallazgo de antígenos y ADN de *T. Cruzi* en la intimidad del miocardio mediante técnicas inmunohistoquímicas y reacción en cadena de polimerasa (PCR) ha replanteado el rol directo del parasitismo^{3,4}.

Sin embargo, es posible también encontrar cierto grado de parasitismo en otros órganos, como el riñón^{5,6}, en ausencia de daño tisular significativo. Por otra parte, el parasitismo sistémico no parece ser mayor en los pacientes portadores de CCCh; en efecto, la frecuencia de resultados positivos para el Xenodiagnóstico y la PCR para ADN de *T. Cruzi* es semejante en pacientes chagásicos portadores de cardiopatía y en aquellos con la forma clínica "Indeterminada" (FI) o asintomáticos. El mayor hallazgo histopatológico en la forma dilatada de la CCCh es la presencia de una miocarditis difusa, con intenso daño tisular y muy escasa presencia de formas de *T. Cruzi*⁷; esto se observa en todos los casos de autopsia y en el 93% de las muestras de biopsia endomiocárdica⁷. Sin embargo, puede observarse miocarditis focal en un número significativo de casos de autopsia, y en el 15% de las muestras de biopsia endomiocárdica correspondientes a la forma indeterminada⁷ frecuentemente en asociación con antígenos de *T. Cruzi*⁸. Por otra parte, también se ha detectado ADN de *T. Cruzi* en el miocardio tanto de corazones portadores de CCCh como de la forma indeterminada^{8,9}. Esto parecería indicar que si bien la presencia directa del *T. Cruzi* sería capaz de inducir cierto grado de inflamación, ésta no sería un estímulo suficiente para producir una miocardiopatía dilatada. La escasez de parásitos en las lesiones cardíacas llevó rápidamente a los investigadores a sugerir que los linfocitos podían reconocer un componente específico del tejido miocárdico y montar contra él una reacción de tipo inmunidad retardada como resultado de la infección crónica por *T. Cruzi*, la así llamada hipótesis de la patogenia autoinmune. En los pacientes portadores de CCCh (pero nunca en los asintomáticos) los infiltrados cardíacos inflamatorios parecen sufrir una transformación potencialmente capaz de llevarlos a la destrucción del tejido cardíaco y la miocardiopatía dilatada, tal como se describe en modelos animales de enfermedad autoinmune^{10,11}. ¿Cuáles son los elementos que facilitan esta transformación en un 30% de los infectados? No podemos aún responder a este interrogante; más aún, no podemos explicar cómo esta transición se produce. Pero sin duda están involucrados factores inmunológicos, genéticos, ambientales y relacionados con el propio parásito.

Diseción de los factores involucrados

Un camino posible para analizar la progresión de la CCCh es desarrollar una búsqueda sistemática de los factores predisponentes. La intensidad de los infiltrados inflamatorios en el miocardio es regulada por citoquinas y quimoquinas, reconocimiento autoinmune y reconocimiento del parásito, en su mayor parte relacionados con los efectos locales y sistémicos de la infección por *T. Cruzi*. Los factores que controlan la fibrosis miocárdica, la apoptosis y los genes de la miocardiopatía congénita parecen influen-

ciar la respuesta miocárdica al daño inflamatorio y su progresión a la CCCh en los pacientes infectados. Ya han sido identificados algunos locus genéticos que presentan variantes conocidas como causantes de la miocardiopatía dilatada hereditaria, mostrando que diferentes fenotipos moleculares pueden generar un síndrome clínico semejante¹². Es posible que estos "locus de cardiopatía dilatada" sean también portadores de alelos predisponentes, tal vez con un fenotipo más débil o de menor penetrancia en los cuales una alteración molecular parcial pueda generar un "estado susceptible". De este modo, los portadores de estos alelos podrían tener una mayor sensibilidad al daño miocárdico inflamatorio/autoinmune produciendo una mayor cantidad de muertes y/o fibrosis de los cardiomiocitos, aun después de un insulto inflamatorio de otro modo trivial, arrasando de este modo la reserva miocárdica y produciendo insuficiencia cardíaca congestiva.

Una minuciosa disección de esta compleja enfermedad puede iniciarse también en los modelos de ratón infectados con *T. Cruzi* para estudiar los cambios inmunológicos y el reconocimiento autoinmune mediado por células de los antígenos cardíacos. A pesar que el ratón no es un buen modelo experimental para estudiar la CCCh dilatada, algunos hallazgos pueden ser convalidados por estudios realizados en pacientes. Revisaremos algunos ejemplos ilustrativos de nuestro grupo de trabajo. El papel de la autoinmunidad en la génesis de la CCCh puede sustentarse en la identificación de la miosina cardíaca como el primer antígeno cardio-específico reconocido tanto por los linfocitos TCD4 como por los autoanticuerpos provenientes de ratones infectados con *T. Cruzi* (revisado en 1). Para confirmar estos resultados en los pacientes, nuestro grupo estudió la presencia de anticuerpos antimiosina en suero de chagásicos portadores de CCCh y asintomáticos (forma indeterminada). Anticuerpos anti-cadena pesada de miosina seleccionados por afinidad en pacientes chagásicos reconocen específicamente un antígeno definido de *T. Cruzi*, la proteína recombinante B13¹³. Anticuerpos con reactividad cruzada se encuentran en 100% de los pacientes portadores de CCCh y sólo en el 14% de los portadores de la forma indeterminada¹⁴. Dado que las células T que infiltran el miocardio parecen ser el último efector del daño tisular, estudiamos clones de células T provenientes de biopsias miocárdicas libres de *T. Cruzi*, obtenidas de individuos portadores de CCCh. Estos clones reconocen en forma cruzada tanto la miosina cardíaca como el antígeno B13 de *T. Cruzi*¹⁵. Además, las células T que infiltran el corazón chagásico poseen un perfil de citoquinas inflamatorias de tipo T1, como el Interferón gamma (IFN) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF)¹⁶.

En conjunto, estos resultados sugieren que el daño cardíaco es secundario a citokinas inflamatorias y a una reacción de hipersensibilidad retardada iniciada o mantenida por células T con reactividad cruzada antimiocárdica.

Una vez definidos los marcadores de reactividad inmunológica en tejidos de las células T que infiltran el miocardio, podría intentarse la búsqueda de estos marcadores en sangre periférica de chagásicos portadores de CCCh y asintomáticos, lo que resultaría mucho más fácil que efectuar biopsias endomiocárdicas. A pesar que los linfocitos periféricos no reaccionan con la miosina cardíaca, la sensibilización de linfocitos de pacientes no-chagásicos con proteína B13 induce clones de células T con reactividad cruzada antimiosina¹⁷ lo que sugiere que a lo largo de la infección chagásica, sería la sensibilización con la proteína B13 la que seleccionaría clones con reactividad antimiosina. La respuesta a la proteína B13 de *T. Cruzi* por parte de linfocitos provenientes de chagásicos con CCCh o asintomáticos es indistinguible. Los linfocitos T reconocen la proteína B13 presentada por moléculas HLA de clase II, y las respuestas por citoquina se caracterizan por altos niveles de interferón gamma (IFN-G) y muy bajos de interleukina 4 (IL4)¹⁸. Sin embargo, linfocitos periféricos de individuos normales respondieron al Ag. B13 de *T. Cruzi* (probablemente sensibilizado por un antígeno cruzado ambiental) de una manera dicotómica: un 40% produjeron IL4 mientras otro 40% produjeron bajos niveles de IFN-G (datos no

publicados), indicando una significativa heterogeneidad en los individuos antes de la infección por *T. Cruzi*, que podría afectar la eficiencia de la respuesta anti *T. Cruzi* en una infección eventual¹⁹. El cambio sistémico a un perfil de citokina de tipo T1 en chagásicos tanto portadores de cardiopatía como de la forma indeterminada, se relaciona probablemente con interleukina 12 inducida probablemente por glicoconjugados de mucina de tripomastigotes a lo largo de la infección por *T. Cruzi*²⁰. Una infección de bajo grado por *T. Cruzi* parece jugar un rol en el mantenimiento del panel de citocinas y de la memoria inmunológica, manteniendo el estímulo para la progresión de la inmunopatología y la autoinmunidad. Sin embargo, esta respuesta polarizada tipo T1 de citoquina no es suficiente para el daño tisular cardíaco, dado que individuos asintomáticos comparten este fenómeno pero no desarrollan miocarditis difusa con daño tisular.

Los datos de la literatura avalan el punto de vista que la infección por *T. Cruzi* puede gatillar células T potencialmente patogénicas, como se ha postulado para otros agentes infecciosos en enfermedades autoinmunes órgano-específicas. La provisión del estímulo antigénico inicial (por ejemplo la proteína B13 de *T. Cruzi*) en presencia de señales co-estimuladoras y producción de IL 12, genera en la mayoría de los individuos infectados linfocitos T CD4 "experimentados", B13 específicos y productores de interferón gamma. Estas células T "experimentadas" son capaces de migrar al tejido cardíaco, donde epítopes de proteínas miocárdicas (por ejemplo miosina) son presentadas por moléculas de clase II MHC en los macrófagos del intersticio cardíaco, y potencialmente pueden iniciar el daño cardíaco. Sin embargo, la presencia de células T B13 específicas potencialmente patogénicas en sangre periférica de chagásicos asintomáticos sin daño cardíaco indica que su presencia puede ser necesaria pero no suficiente para el establecimiento de una miocarditis difusa.

La generación de infiltrados de células T patogénicas para el tejido cardíaco sólo podría ocurrir en un subgrupo de individuos infectados cuyo repertorio de células T permite un reconocimiento cruzado de antígenos cardíacos (por ejemplo miosina) por células *T. Cruzi* específicas (por ejemplo B13). De este modo, la "imitación" molecular puede ser el vínculo entre la persistencia de una infección en el paciente crónicamente infectado y el daño cardíaco en áreas del miocardio desprovistas de antígenos parasitarios (114, 138). La presencia en este repertorio de células T con reactividad cruzada podría ser el mecanismo que explique la diferente susceptibilidad de los pacientes Chagásicos para la progresión hacia la cardiopatía crónica. De este modo, se podría hipotetizar que la presencia de un infiltrado patogénico en la cardiopatía chagásica es un proceso con múltiples pasos donde las características inmunológicas del huésped previas a la infección, tales como el balance de citoquinas¹⁹ o el repertorio de células T con reactividad cruzada²¹ son determinantes mayores. La infección sistémica por *T. Cruzi*—más que la local—puede funcionar como gatillo y amplificador, generando células T patogénicas "experimentadas" en individuos susceptibles, que podrían migrar subsecuentemente al corazón y producir daño cardíaco. Sin embargo, la progresión hasta su total potencial de daño (el daño cardíaco) puede ser dependiente del perfil genético del individuo, especialmente los genes relacionados con el sistema inmune y la función cardíaca (por ejemplo, citoquinas, HLA, TCR, junto con los locus génicos cuyas mutaciones causan miocardiopatía dilatada). La caracterización precisa de estas etapas puede conducir a una mayor exactitud diagnóstica, pronóstica y terapéutica en estas enfermedades.

Nuevos tratamientos: drogas 'inteligentes' e inmunomodulación

Es sabido que el *T. Cruzi* produce infecciones crónicas, que duran toda la vida, independientemente de la progresión clínica de la enfermedad, como lo indica la reactivación de la parasitemia en pacientes crónicamente infectados, cuando son sometidos a tratamientos inmunosupresores o padecen

inmunodeficiencias. Parece no haber esterilidad sin presencia de antígeno contra la infección por *T. Cruzi*, y el tratamiento con las drogas antiparasitarias de que disponemos no produce una eliminación completa de los parásitos en los adultos crónicamente infectados. Ante este hecho, asociado a la evidencia histopatológica que ciertas células del huésped altamente parasitadas no presentan infiltrados inflamatorios^{2, 22} parece lógico pensar que las formas intracelulares del parásito han desarrollado ciertos mecanismos de escape basados en el bloqueo de los antígenos de presentación, o en la refractariedad de mecanismos citotóxicos, como se encuentra en algunas formas de virus^{23, 24}, "Apuntar" con drogas a estos mecanismos de escape de las formas intracelulares puede ser el camino para curar la infección crónica por *T. Cruzi*.

La identificación de "blancos" autoantigénicos relevantes en la cardiopatía crónica chagásica podría justificar el uso de la inducción de tolerancia antígeno-específica para bloquear el proceso de lesiones cardíacas sin interferir con la respuesta inmune protectora frente al agente infectante. El perfil de citoquinas T1 observado en las lesiones de la CCCh se corresponde con mecanismos de daño tisular del tipo inmunidad retardada. Esto podría abrir la posibilidad de utilizar terapéuticas de desviación inmune (en las que las citoquinas producidas en el órgano blanco cambian de inflamatorias tipo T1 a antiinflamatorias tipo T2) para el control del daño cardíaco. Se han comunicado resultados positivos en el bloqueo inmunológico de la respuesta patogénica por células T en enfermedades humanas autoinmunes como la artritis reumatoidea y la uveítis autoinmune, utilizando tolerancia oral con antígenos órgano-específicos para inducir desviación inmune²⁵⁻²⁷.

¿Quo vadis 1999?

La aplicación de métodos de estudio moleculares comienza a establecer un nuevo paradigma en el conocimiento de la patogénesis de la enfermedad de Chagas. Al respecto puede resultar esencial el estudio de los fenotipos que diferencian los chagásicos con Cardiopatía Crónica de los asintomáticos, para precisar los "checkpoints".

Los factores genéticos del huésped que controlan las quimoquinas y citoquinas, la inflamación, la fibrosis, los "genes de la cardiomiopatía", y los factores que determinan la mayor gravedad de la enfermedad crónica chagásica entre los varones, seguramente aportarán también información muy valiosa. Por fin, nuevos estudios sobre las causas y el efecto patogénico de la infección persistente, el rol de la presencia del *T. Cruzi in situ*, junto con el rol de posibles diferencias genéticas entre las cepas de *T. Cruzi* aisladas de pacientes, ayudarán a resolver el enigma. Para que esto sea real, es urgente que se combinen ensayos clínicos de diseño óptimo con las técnicas más actualizadas de la biología e inmunología molecular; esto es, que clínicos y científicos experimentales trabajen juntos.

Edecio Cunha-Neto

Instituto do Coração, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo,
São Paulo, Brasil

1. Kalil J, Cunha-Neto E. Autoimmunity in Chagas' disease cardiomyopathy: fulfilling the criteria at last? *Parasitol Today* 1996; 12: 396-9.
2. Higuchi MD, Reis MM, Aiello VD, et al. Association of an increase in CD8+ T cells with the presence of *Trypanosoma cruzi* antigens in chronic, human, chagasic myocarditis. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56: 485-9.
3. Higuchi ML, De Brito T, Reis MM, et al. Correlation between *T. cruzi* parasitism and myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagasic myocarditis: light microscopy and immunohistochemical findings. *Cardiovasc Pathol* 1993; 2: 101.
4. Jones EM, Coley DG, Tostes S, Lopes ER, Vnecank-Jones CL, McCurley TL. Amplification of a *Trypanosoma cruzi* DNA sequence from inflammatory lesions in human chagasic cardiomyopathy. *Am J Trop Med Hyg* 1993; 48: 348-57.
5. Chocair PR, Amato-Neto V, Sabbaga E, Torrecillas PH. Aspectos clínico-diagnósticos relativos à fase aguda da doença de Chagas, em pacientes submetidos a

- transplante de rim e imunodeprimidos. *Rev Soc Bras Med Tropical* 1985; 18: 43-5.
6. Vazquez MC, Riarte A, Pattin M, Lauricella M. Chagas' disease can be transmitted through kidney transplantation. *Transplant Proc* 1993; 25: 3259-60.
 7. Higuchi ML, De Moraes CF, Pereira Barreto AC, et al. The role of active myocarditis in the development of heart failure in chronic Chagas' disease: a study based on endomyocardial biopsies. *Clin Cardiol* 1987; 10: 665-70.
 8. Carrasco HA, Añez N, Percoco G, et al. Persistence of myocardial *Trypanosoma cruzi* in chronic chagasic patients. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: (Suppl C): 210C.
 9. Olivares-Villagomez D, McCurley TL, Vnencak-Jones CL, Correa-Oliveira R, Colley DG, Carter CE. Polymerase chain reaction amplification of three different *Trypanosoma cruzi* DNA sequences from human chagasic tissue. *Parasite Immunol* 1998; 20: 447-54.
 10. Akkaraju SH, Ho WY, Leong D, Canaan K, Davis MM, Goodnow CC. A range of CD4 T cell tolerance: partial inactivation to organ-specific antigen allows nondestructive thyroiditis or insulinitis. *Immunity* 1997; 7: 255-71.
 11. Andre I, González A, Wang B, Katz J, Benoist C, Mathis D. Checkpoints in the progression of autoimmune disease lesions from diabetes models. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2260-3.
 12. Schowengerdt KO, Towbin JA. Genetic basis of inherited myocardiopathies. *Curr Opin Cardiol* 1995; 10: 312-21.
 13. Gruber A, Zingales B. *Trypanosoma cruzi*: Characterization of two recombinant antigens with potential application in the diagnosis of Chagas' disease. *Experimental Parasitology* 1993; 76: 1-12.
 14. Cunha-Neto E, Duranti M, Gruber A, et al. Autoimmunity in Chagas' disease cardiopathy: biological relevance of a cardiac myosin-specific epitope crossreactive to an immunodominant *Trypanosoma cruzi* antigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 3541-5.
 15. Cunha-Neto E, Coelho VPC, Guilherme L, Fiorelli A, Stolf N, Kalil J. Autoimmunity in Chagas' disease: identification of cardiac myosin-B13 *Trypanosoma cruzi* protein crossreactive T cell clones in heart lesions of a chronic Chagas' cardiomyopathy patient. *J Clin Invest* 1996; 98: 1709-12.
 16. Cunha-Neto E, Rizzo LV, Albuquerque F, et al. Cytokine production profile of heart-infiltrating T cells in Chagas disease cardiomyopathy. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31: 133-7.
 17. Abel LCJ, Kalil J, Cunha-Neto E. Molecular mimicry between cardiac-myosin and *Trypanosoma cruzi* -antigen B13: identification of a B13-driven human T cell clone that recognizes cardiac myosin. *Braz J Med Biol Res* 1997; 30: 1305-8.
 18. Cunha-Neto E, Abel LCJ, Rizzo LV, et al. Autoimmunity in human Chagas' disease cardiomyopathy: Cytokine production and antigen recognition by T cells. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1997; 92 (Suppl I): 40-41.
 19. Cardillo F, Voltarelli JC, Reed SG, Silva JS. Regulation of *Trypanosoma cruzi* infection in mice by gamma interferon and interleukin 10: role of NK cells. *Infect Immun* 1996; 64: 128-34.
 20. Camargo MM, Andrade AC, Almeida IC, Travassos LR, Gazzinelli RT. Glycoconjugates isolated from *Trypanosoma cruzi* but not from *Leishmania* species membranes trigger nitric oxide synthesis as well as microbicidal activity in IFN-gamma-primed macrophages. *J Immunol* 1997; 158: 5890.
 21. Moudgil KD, Deng H, Nanda NK, Grewald IS, Ametani A, Sercarz EE. Antigen processing and T cell repertoires as crucial aleatory features in induction of autoimmunity. *J Autoimmun* 1996; 9: 227-34.
 22. Vianna G. Contribuição para o estudo da anatomia patológica da "Molestia de Carlos Chagas" *Mem Instituto Oswaldo Cruz* 1911; 3: 276-94.
 23. Fruh K, Ahn K, Djaballah H, et al. A viral inhibitor of peptide transporters for antigen presentation. *Nature* 1995; 375: 415-8.
 24. Meinhl E, Fickenscher H, Thome M, Tschopp J, Fleckenstein B. Anti-apoptotic strategies of lymphotropic viruses. *Immunol Today* 1998; 19: 474.
 25. Nussenblatt RB, Gery I, Weiner HL, et al. Treatment of uveitis by oral administration of retinal antigens: results of a phase I/II randomized masked trial. *Am J Ophthalmol* 1997; 12: 583-92.
 26. Barnett ML, Kremer JM, Clegg DO, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with oral type II collagen. Results of a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 290-7.
 27. Weiner HL. Oral tolerance for the treatment of autoimmune diseases. *Annu Rev Med* 1997; 48: 341-51.

América latina es una y variada. Es múltiple y a veces extremadamente diferente. Es blanca y negra. Es india y mestiza. Es mulata y chola. Es campesina y proletaria. Es oligarca y burguesa. Es nacionalista hasta el "chauvinismo" e internacionalista hasta las abstracciones.

Luis Barreiro

Identidad, Integración y Creación cultural en América Latina. El desafío del Mercosur.

Gregorio Recondo. Buenos Aires: Editorial de Belgrano/Unesco, 1997, p 166