

Macrofago y Óxido Nítrico en la Tripanosomiasis Americana

María Eugenia Cárdenas Angelone*
Diego Torres Dueñas**
Manuel José Pardo Cobos***

*Bcs, MSc Microbiología. Docente Área Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Bucaramanga - UNAB.

**MD. Docente Área Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Bucaramanga - UNAB.

***Estudiante de Medicina, VIII nivel, Universidad Autónoma de Bucaramanga - UNAB.

Correspondencia: Dra. Cárdenas, Universidad Autónoma de Bucaramanga, Facultad de Medicina, AA 1642, Bucaramanga, Colombia.

Resumen

La enfermedad de Chagas es la más grave enfermedad parasitaria de América Latina y su impacto social y económico es mayor que el impacto combinado de otras enfermedades parasitarias incluida la malaria. Muchos individuos no se detectan en la fase aguda de la enfermedad y progresan a una fase crónica, en la que el paciente se encuentra discapacitado, siendo un problema para la sociedad productiva. Los antecedentes sobre la enfermedad y el papel protagónico del macrófago durante su fase aguda, mediado por óxido nítrico (NO), así como el conocimiento de diversas cepas del parásito, han postulado a esta célula y al NO como claves en la relación hospedero-parásito, al menos experimentalmente. Dada la complejidad de esta interacción, cualquier alteración en la cantidad o calidad de la producción de citoquinas que dirigen la acción del fagocito puede ser indicador del desarrollo de evasión por parte del parásito y de la evolución de la infección a la fase crónica de la enfermedad.

Palabras clave

Trypanosoma cruzi, Tripanosomiasis Americana, Óxido Nítrico, Macrófago Humano.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana es una infección parasitaria de carácter crónico, causada por el protozoo

hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, que se multiplica activamente en los tejidos del hospedero vertebrado y completa su ciclo de transmisión en el vector triatomíneo. Fue descubierta por Carlos Chagas en 1909, en el estado de Minas Gerais en Brasil ^{1,2}.

Es bien conocido el papel que tiene el macrófago como célula de primera línea de defensa en la protección natural frente a diferentes agentes infecciosos, dentro del que se considera al *T. cruzi*. El macrófago cuenta con diversos mecanismos para llevar a cabo dicho papel, pero el parásito también posee recursos para invadir al macrófago y para evadir sus acciones una vez fagocitado ^{3,4}. En algunos casos, al parecer, es insuficiente esta célula inmune y por lo tanto, el microorganismo logra escapar a la acción microbicida, generando una infección crónica. Se sabe por algunos estudios realizados en animales de experimentación ⁵, que durante la infección con el *T. cruzi* el macrófago produce grandes y sostenidas cantidades de NO, a expensas de la enzima Óxido Nítrico Sintasa inducible (iNOS), el cual parece ser en sí mismo citotóxico, aún cuando también se cree, reacciona con radicales superóxido (O₂⁻) para producir un radical más citotóxico todavía, el peroxinitrito (ONOO⁻) ⁴. Por otra parte, una gran cantidad de estudios realizados *in vitro*, con macrófagos murinos reportan la activación enzimática de la iNOS, a través de mediadores inflamatorios, como el IFN- γ y el TNF- α , entre otros ⁶⁻¹⁰. Esta acción se ha descrito no sólo para *T. cruzi*, sino también para muchos otros agentes infecciosos, y ha sido evidente el efecto estimulante de estas moléculas, cuando se trabaja *in vivo* con animales en los que se bloquean sus receptores, bien sea a través de anticuerpos monoclonales ó a través de la manipulación genética. Sin embargo, no han sido estudiados tales efectos en macrófagos humanos, y por ende, es posible que existan mecanismos similares ó diferentes en ellos, no descritos a la fecha.

En lo que se refiere al parásito, *T. cruzi*, cuenta con glicoproteínas de membrana para invadir al fagocito dentro de una vacuola parasitófora, y en el interior, rompe esta vacuola para multiplicarse libremente como amastigote en el citoplasma ³.

No se han estudiado a fondo las razones por las cuales la infección con *T. rangeli* en el hospedero vertebrado es controlada satisfactoriamente en la fase aguda, como tampoco si los mecanismos mediados por óxido nítrico estarían involucrados en la eliminación de este parásito.

INTERACCIÓN DEL *T. CRUZI* CON FAGOCITOS PROFESIONALES DEL HOSPEDERO

Se han documentado ampliamente los efectos benéficos de la respuesta inmune específica contra el *T. cruzi*. Este protozoo es susceptible a la destrucción por reacciones inmunológicas, que involucran factores humorales

exclusivamente, o la acción combinada de anticuerpos específicos y leucocitos, pero igualmente ha sido postulada la teoría inmune que media el daño celular del hospedero.

El *T. cruzi*, induce una repuesta inmune innata y adaptativa en el hospedero durante la fase aguda de la infección. Es así, como ha sido reportado que los linfocitos asesinos naturales (NK), despliegan su mecanismo lítico sobre las formas virulentas del parásito, y que los linfocitos T citotóxicos pueden matar las células infectadas con *T. cruzi*. Además, diferentes tipos de células inflamatorias, *in vitro*, sujetas ó no a la activación por citoquinas, pueden internalizar y destruir las formas intracelulares del parásito por diferentes mecanismos ¹¹⁻¹⁴.

Por otro lado, es bien sabido que el *T. cruzi* causa una respuesta policlonal de los linfocitos B, lo que podría facilitar la respuesta humoral contra antígenos del hospedero ¹.

El *T. cruzi* interactúa con los fagocitos profesionales como leucocitos polimorfonucleares (PMN) y fagocitos mononucleares (MN). La interacción del *T. cruzi* con el macrófago se ha estudiado y brevemente ha arrojado las siguientes conclusiones:

- Las formas epimastigote y tripomastigote son interiorizadas por los macrófagos, pero sólo los tripomastigotes infectan activamente al macrófago.
- Ambas formas se encuentran inicialmente en las vacuolas parasitóforas.
- La forma epimastigote es destruida mientras el tripomastigote escapa de las vacuolas y se diferencia en el citoplasma hasta formar el amastigote.
- Después de muchas generaciones, los amastigotes se vuelven a diferenciar en tripomastigotes y éstos son liberados al espacio extracelular luego de la lisis de la célula hospedero.

Particularmente, el primer evento que ocurre cuando el parásito entra en el hospedero, está mediado por interacciones superficie-superficie entre *T. cruzi* y las células mamíferas, que son importantes para iniciar la infección. Entre éstas, las más mencionadas han sido: una proteína de 160 kda, una trans-sialidasa y una mucina. La proteína de 160 kda se encuentra presente en las formas de tripomastigote y amastigote, pero no en las de epimastigote, cuyos anticuerpos al parecer reaccionan cruzadamente con una proteína de 48 kda de tejido nervioso mamífero ¹⁵⁻¹⁷. La actividad de trans-sialidasa está asociada con una glicoproteína de aproximadamente 85 kda encodada en la membrana citoplásmica, que tiene efecto antifagocítico. Se ha demostrado que la glucoproteína tiene actividad de neuraminidasa también,

removiendo los residuos de ácido siálico requeridos para la interiorización del parásito por los macrófagos¹⁴. Además esta glicoproteína se encuentra adosada a una estructura glicolípídica de bajo peso molecular conocida como glicoinositol-fosfolípido (GIPL) que es altamente efectivo en la modulación de síntesis de citoquinas por los macrófagos y linfocitos T CD4,^{11, 12, 18, 19} posiblemente induciendo el estado temporal de inmunosupresión. Y por último, la estructura de mucina, hace parte de una familia de carbohidratos altamente glicosilados, algunas adosadas también a la estructura GIPL, y que están relacionadas con mucinas humanas. Algunas de estas glicoproteínas tipo mucina, parecen tener papel en la dirección de la síntesis de NO en macrófagos inducidos con IFN-g²⁰.

Al parecer algunos estudios han sugerido que el receptor del factor transformante de crecimiento beta (TGF- β) podría dirigir las señales al interior de la célula, pues macrófagos mutantes deficientes en tales receptores son resistentes a la infección. Uno de tales transductorés de señal sería el trifosfato de inositol (IP3), que permite el influjo de lisosomas periféricos, y logra la entrada del tripomastigote por un mecanismo que no es propiamente una endocitosis. De esta manera el parásito queda completamente dentro de una vacuola parasitófora, que es destruída por sustancias líticas propias, estructuralmente similares al complejo C9 del sistema de complemento, permitiéndole quedar libre en el citoplasma, para diferenciarse en amastigotes y dividirse²¹.

Con lo descrito anteriormente, es entendible que el *Trypanosoma cruzi* es capaz de evadir esta primera línea de defensa y llegar a invadir las células reticuloendoteliales. Se ha propuesto que esta evasión es multifactorial,^{1,22,23} e incluye entre otras, algunas de las mismas moléculas de superficie descritas. Encontramos entonces como mecanismos de evasión:

***Actividad Reguladora del Complemento:** Se han aislado por lo menos tres glicoproteínas que poseen una actividad reguladora del complemento, basados en su capacidad de inhibir el ensamble y/o acelerar la desnaturalización de la C3 convertasa; entre estas glicoproteínas tenemos la propia gp160 y el *Trypomastigote Decay-Accelerating Factor* (T-DAF).

***Actividad de trans-sialidasa:** que permite la captación del ácido siálico, el cual no es sintetizado por el tripomastigote, pero es obtenido en su membrana por el transportador asociado que lo recibe del medio externo del donante (suero y membranas celulares del hospedero). Este ácido es un importante regulador de la activación de la vía alterna del complemento pues une el factor H e incrementa su afinidad por el C3b, inhibiendo de esta manera la formación de la C3 convertasa.

***Glicoproteínas de Superficie Variables²³.** La propiedad que tienen los tripomastigotes de presentar múltiples variaciones en los antígenos de superficie, que permiten que el individuo infectado presente ciclos de parasitemia variables, de tal modo que los anticuerpos inducidos por cada uno de ellos no es protector contra el otro, dada la alta variabilidad antigénica.

***Secreta una proteína soluble que inhibe la expresión de interleucina 2 ó de sus receptores, evitando por tanto la proliferación celular al comienzo de la infección^{1,5}.**

***El *T. cruzi*, reprime tempranamente la expresión de una proteína denominada Tc52 que al parecer induce la expresión de la iNOS, y que además parece tener importantes efectos inmunomodulatorios durante la fase aguda de la infección²⁴.**

En resumen, la respuesta inmune de individuos y animales de experimentación infectados con *T. cruzi* parece ser inespecíficamente celular en un comienzo, e involucra la fagocitosis por parte del macrófago gracias a la presencia de al menos una glicoproteína antigénica expresada sobre la superficie del tripomastigote, que favorece la internalización del parásito, lo que se ve favorecido también por un corto período de inmunosupresión posiblemente inducido por el mismo parásito, que le permite la diseminación dentro del hospedero.

El *T. cruzi* también interactúa con fagocitos no profesionales tales como células epiteliales, fibroblastos y neuronas, las cuales tienen la capacidad de ingerir partículas, lo que favorece la culminación del ciclo biológico del parásito²⁵. También se describe que el tripomastigote es capaz de penetrar activamente estas células.

EL ÓXIDO NÍTRICO

El óxido nítrico químicamente es un pequeño gas radical soluble en agua y lípidos debido a su naturaleza lipofílica, reacciona en agua con el oxígeno y sus intermediarios reactivos^{26, 27} para producir otros radicales y aniones de diferente estabilidad²⁷. Ya que presenta un bajo peso molecular (30 daltons), y dadas sus otras características, fácilmente difunde las membranas celulares tanto eucariotas como procariotas, una vez es producido por cualquier tipo celular del cuerpo humano y de acuerdo con algunas condiciones, para cumplir sus acciones bien sean fisiológicas ó patológicas, según el origen del mismo. Según su naturaleza de NO inducido ó constitutivamente sintetizado, el óxido nítrico, sostendrá un nivel y período diferentes de síntesis, pero siempre con una vida media biológica corta, de pocos segundos (6-10 seg)²⁸.

La base bioquímica de la citotoxicidad inducida por el óxido nítrico por sí solo sobre organismos fagocitados, al

parecer depende de la combinación del mismo con moléculas que contienen hierro en su estructura, como por ejemplo enzimas clave en el ciclo de respiración y replicación celular²⁶. Como se mencionó, no sólo el antes denominado sistema retículo-endotelial, es capaz de producir grandes y sostenidas cantidades de NO, bajo un estímulo especial, mediante la inducción de la iNOS, sino todas las demás células en donde ésta ha sido detectada: hepatocitos, músculo liso vascular, endotelio, entre otras. De esta manera el NO está involucrado en la inflamación tanto de carácter agudo como crónico, y en la inmunidad no sólo innata, sino también la adquirida²⁶.

SINTASAS DEL ÓXIDO NÍTRICO

Estudios realizados hacia el año de 1988 colocaron de manifiesto que el aminoácido L-arginina era el precursor de la biosíntesis de óxido nítrico en el endotelio²⁹. En la síntesis del NO participa una serie de enzimas perfectamente estudiadas, clasificadas y caracterizadas, llamadas sintasas del óxido nítrico (NOS), de las cuales existen tres isoformas responsables. Una, es la forma neuronal (nNOS), otra inducible (iNOS), y la otra endotelial (eNOS), ó tipos I, II y III,^{27, 30} codificadas por genes diferentes.³¹ Valga la pena mencionar que las enzimas I y III son constitutivas. Las sintasas del NO tienen relevantes diferencias con relación a los mecanismos inductores y las cantidades de NO producido, así, la eNOS y nNOS son dependientes de calcio/calmodulina para su activación y la posterior síntesis de NO en cantidades picomolares, por cortos períodos (segundos a minutos), mientras que la iNOS es independiente de calcio, es activada por otra serie de mediadores para producir cantidades nanomolares y sostenidas de NO²⁷.

Los datos comunes de todas las isoformas de NOS, son aquellos relacionados con la reacción catalítica del oxígeno molecular con el aminoácido L-arginina, para formar sus dos productos finales óxido nítrico y L-citrulina (Fig 1)^{27, 30}. Por otra parte, estructuralmente, estas enzimas son hemoproteínas semejantes en un 40% a la citocromo P-450, que existen como dímeros para ser funcionales, poseen un extremo reductor y otro oxidante en cada monómero, y por último en su forma activa ligan moléculas de NADPH, FAD y FMN, calmodulina, Heme y tetrahidrobiopterina²⁷.

La iNOS, está ubicada en el cromosoma 17 humano³² y fue inicialmente descrita en el macrófago, aunque actualmente se ha encontrado en diferentes tejidos, incluido el tejido muscular cardíaco. En los macrófagos no estimulados la actividad de la enzima no está normalmente expresada; luego de unas pocas horas de activación de los mismos, ya sea con productos bacterianos (LPS), o por citoquinas proinflamatorias (IL-1, IFN-g, FNT-a), existe expresión por síntesis de novo, de la actividad de la iNOS, independientemente de calcio.

Una vez la iNOS es expresada, la liberación del NO continúa por un largo período (48-72 horas), y en grandes cantidades, lo cual relaciona entonces a la inducción de la enzima con la respuesta inespecífica frente a un estímulo inmunológico, jugando un papel importante como mecanismo de defensa contra algunas infecciones. Sin embargo, en ocasiones puede dar como resultado manifestaciones tóxicas para los tejidos adyacentes y aún para el mismo macrófago.

Así como la iNOS puede ser estimulada, como se ha mencionado, ella también puede ser inhibida por diferentes sustancias, tales como inhibidores competitivos de L-arginina, tales como L-NMMA (L-N-monometilarginina), L-NAME y Aminoguanidina^{30, 33, 34}. Incluso existe una forma de contraregulación entre la expresión de ellas, como por ejemplo: el NO producido en grandes cantidades por el estímulo del TNF-a sobre la iNOS, se contraresta ya que este mismo inhibe en cierta medida a la enzima constitutiva.

Por otra parte, se han descritos los glucocorticoides como inhibidores de la inducción de la iNOS, pero no de la actividad de la enzima tanto constitutiva como inducida, por lo que una vez activada la enzima ya no tienen efecto alguno^{26, 27, 30}.

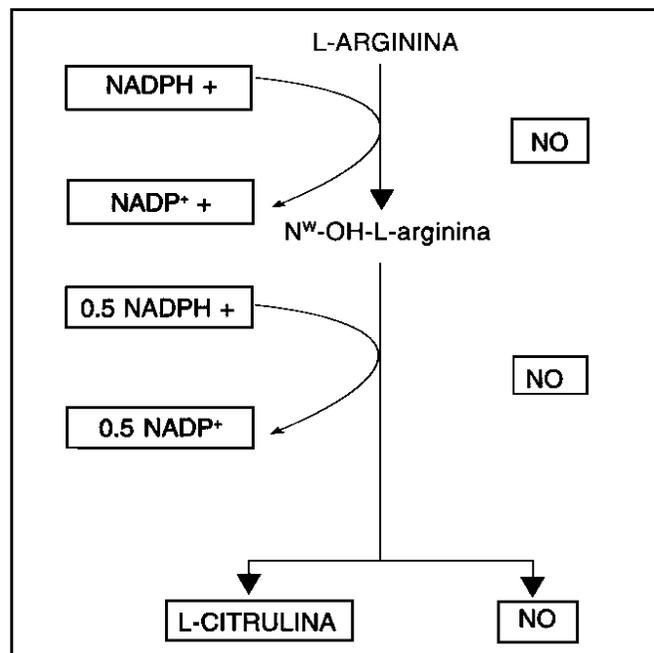


Figura 1. Síntesis de Óxido Nítrico

EL MACRÓFAGO Y EL ÓXIDO NÍTRICO

La invasión celular del *T. cruzi*, y su replicación intracelular es indispensable para la continuación del ciclo de vida del parásito, y por tanto para el desarrollo de la enfermedad de Chagas. El parásito es capaz de replicarse

dentro de diversos tipos de células nucleadas del hombre, y una de ellas es el macrófago, que es justamente la célula más capacitada para destruir el parásito intracelularmente cuando se encuentra activado. El macrófago, célula fagocítica por excelencia, y uno de los principales reservorios del parásito, cuenta con respuestas dependientes ó independientes de oxígeno para ejercer su efecto microbicida. La respuesta oxígeno independiente, está fundamentalmente basada en ocho mecanismos conocidos²² que no son interdependientes: el sistema del óxido nítrico, la proteína bactericida incrementadora de la permeabilidad, cambio de pH intrafagosómico, liberación de lisozimas, actividad de lactoferrina, de defensinas, catepsina G, y actividad de azurocidina. Estas células al igual que otras del sistema retículo-endotelial, se activan rápidamente una vez aparece un foco primario infeccioso y liberan un gran número de sustancias biológicamente activas entre las que se cuentan formas reactivas del oxígeno y otros radicales libres, los cuales se involucran cada vez más en diversas patologías de gran interés médico^{22, 35}. Entre estos radicales se menciona de manera importante el óxido nítrico (NO), que ha sido durante mucho tiempo reconocido como modulador de la respuesta inmune, participando en el equilibrio de linfocitos Th1/Th2,^{30, 36} y además se le atribuye un papel citotóxico y/o citostático²⁶ sobre diferentes enfermedades de origen infeccioso no sólo parasitario, sino también bacteriano y micótico, y cuyo papel patogénico en el caso de la tripanosomiasis americana amerita ser estudiado a fondo, pues los niveles del mismo en pacientes chagásicos suele estar por encima de los niveles normales³⁷.

Además de estos mediadores oxidantes de estructuras orgánicas, como proteínas y lípidos, las células activadas secretan un grupo heterogéneo de moléculas proteicas denominadas citocinas, que influyen de manera directa en la regulación de la expresión de enzimas que controlan la producción del NO. Entre las citocinas más estudiadas y relacionadas con la expresión de dichas enzimas se deben mencionar el TNF-a y TNF-b ó caquectina, las IL-1b, IL-2, IL-6, IL-12 y los interferones, principalmente el IFN-g. Es tan importante la interacción de todas estas moléculas en el control de la infección, por lo menos en un inicio, que se postula que la evolución a una fase crónica de la enfermedad de Chagas de sólo un porcentaje de individuos infectados podría ser producto de una alteración en la calidad ó cantidad de la producción de citocinas durante la fase aguda,³⁸ lo que propendería entonces a apoyar el estudio más a fondo, inicialmente *in vitro*, de lo que ocurre con estas moléculas y el NO en el macrófago humano durante la fase aguda de la infección, y también a la búsqueda de futuras oportunidades de manipulación terapéutica selectiva²⁶.

Lo mencionado anteriormente está relacionado con el hecho de que así como existen moléculas inmunes que

regulan positivamente la síntesis de NO por parte del macrófago y otras células participantes en las reacciones inflamatorias de las lesiones chagásicas, existen otras moléculas que a través de la disminución de la actividad del subgrupo de linfocitos TH1 (principales productores de IFN-g), median la inhibición de la liberación de NO. Estas moléculas incluyen IL-4, IL-10 y TGF-b³⁸. Adicionalmente, ha sido reportada en un estudio una especie de "retroalimentación negativa" con base en altos niveles de TNF-a e incluso de altos niveles de prostaglandinas en la fase aguda de la infección experimental, sobre la liberación de NO^{39, 40}.

Como se ha mencionado más adelante, la síntesis de óxido nítrico por parte de las células del hospedero, se lleva a cabo de dos maneras importantes: constitutiva e inducida. Es así como en el caso de la enfermedad de Chagas, en sus diferentes fases, las citocinas producidas por las células del sistema inmune juegan un papel clave en la resistencia, ó al parecer, al mismo tiempo en la patología de la enfermedad, a través de efectos mediados por el NO. Por ejemplo, el IFN-g, ha sido extensamente involucrado como una linfoquina protectora contra *T. cruzi*, ya que los macrófagos activados por él, terminan liberando una serie de reactivos intermediarios de oxígeno (RIOs) y NO. Este IFN-g, es inicialmente producido por células Natural Killer (NK) y más tardíamente por linfocitos CD4+ y CD8+⁴¹. Muchos son los estudios que mencionan el efecto tripanosomicida del NO producido por macrófagos murinos *in vitro*, durante la infección de macrófagos activados por IFN-g⁶⁻¹⁰ e incluso algunos investigadores han comprobado en ratones de experimentación la extrema susceptibilidad de los mismos cuando éstos son deficientes del receptor para IFN-g ó deficientes del gen que codifica para la iNOS⁵. Sin embargo no se conoce con exactitud cómo es que el NO ejerce tal efecto, ó si lo hace sólo o en conjunto con otros RIOs, ó aún más interesante, no se conoce qué sucede en macrófagos humanos desde el mismo inicio de la infección con el parásito, en ausencia de estas interleucinas.

Así como se conoce a la fecha la vía de síntesis enzimática de NO, a partir de la L-arginina^{30, 42} otros estudios han estado encaminados al bloqueo de la enzima iNOS, mediante análogos del substrato, tales como L-NMMA (L-Normo-Mono-Metil-Arginina) ó Aminoguanidina, que permiten demostrar *in vitro* ó *in vivo* (en ratones) la susceptibilidad extrema a la infección, por pérdida en la capacidad de síntesis del NO, lo cual permite relacionarlo aún más con el efecto parasiticida^{33, 43- 46}.

Por otra parte, ha sido observado que el TNF-alfa y el lipopolisacárido bacteriano muestran un efecto sinérgico con el IFN-g, en la activación del macrófago, por lo que se ha concluido que los macrófagos activados por IFN-g producen altas cantidades de TNF-alfa, luego de la infección con *T. cruzi*, y éste a su vez juega un papel en la

amplificación de la producción de NO por parte de la iNOS, mecanismo, independiente de oxígeno, y finalmente en la muerte del parásito ²⁸.

Sin embargo, los efectos del TNF-alfa, que es producido de manera importante durante el curso agudo de la infección, regularían la expresión del NO, aunque, sobre esto, se presentan resultados contradictorios en diversos estudios. En algunas ocasiones ha mostrado reducir la susceptibilidad a la infección, pero también ha mostrado mediar el daño inflamatorio durante la infección con *T. cruzi*, y en otras ocasiones no se ha asociado con actividad tripanosomicida de los macrófagos *in vitro*, y menos aún con la liberación de NO ⁴⁷.

Como se ha mencionado, el NO producido por el macrófago, así como el que se induce en neutrófilos y otros tipos celulares que posean la iNOS, cumple con funciones no solo parasiticidas, sino también funciones inmunosupresoras ⁴⁸.

RESISTENCIA ESPECÍFICA-INMUNIDAD HUMORAL

Aunque es sabido que la respuesta inmune celular del hospedero es la responsable de controlar al parásito en la fase aguda de la infección, los restos celulares de parásitos muertos, son potentes antígenos que estimulan la respuesta humoral del sistema inmune, por lo que se han reconocido anticuerpos de la clase IgM inicialmente, reemplazados posteriormente por anticuerpos de la clase IgG específicos contra una variedad de antígenos parasitarios en los pacientes chagásicos, en títulos que siguiendo una cinética particular, son mantenidos durante toda la vida, facilitando el diagnóstico serológico de la infección. En pacientes ó animales padeciendo la enfermedad de Chagas, así como en algunos individuos que han estado expuestos al *T. cruzi*, pero que no han manifestado clínicamente la enfermedad, luego de la fase de respuesta inespecífica, se ha observado la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi*, además de la respuesta inmune específica de mediación celular, lisis por complemento y por otros factores humorales observados tanto *in vivo* como *in vitro*. Al ser identificados estos anticuerpos, se ha notado variabilidad en las subclases de IgG involucradas en la respuesta inmune humoral, lo que podría asociarse con las diferencias entre individuos que evolucionan ó no a la fase crónica de la enfermedad. Recientemente ha sido demostrada la presencia de anticuerpos en el suero de pacientes chagásicos con la capacidad de interactuar con receptores de neurotransmisores dirigiendo varias vías intracelulares de transducción de señales, entre las que se cuenta la inducción de la actividad de la iNOS, a través de activación de receptores M2 de acetilcolina en tejido miocárdico ⁴⁹⁻⁵¹.

SUMMARY

Chagas's disease is the worst parasitic disease in South America, according with the World Bank, and its social and economic impact es gtafer than it of the combination of other parasitic diseases including malaria. Many individual con not be detected of that they move into the chronic phase, and because of the patient is diseabled becoming a problem for the productive society. The disease's background and the major character played by machophage durng the acute phase, mediated by nitic oxide (NO) as well as the knowing of a variety of breed of the parasite, have put this cell and NO as a key in the host-parasite interaction. Any alteration in the quantity or quality in the production of kitokines that rule macrophage action can be the indicator of the evasion developed by the parasite and the evolution to chronic phase of the disease.

Key words: *Trypanosoma cruzi*, Sudamerican tripanosomiasis, Nitric oxide, Macrophage.

BIBLIOGRAFÍA

- Atias A. Enfermedad de Chagas. Cuarta edición. Santiago de Chile. Publicaciones técnicas Mediterráneo. 1997: 251-64.
- Carrada Bravo T. Tripanosomiasis Americana de Chagas. Bol Med Hosp Infant Méx 1983; 40: 408-16.
- Zeledón R. Hemoflagellates. <http://www.gsbs.utmb.edu/microbook/ch082.htm>:286
- Rodríguez JA. Mastigophora. In Pumarola A, Piedrola A. Microbiología y Parasitología Médica. Segunda Edición, Editorial Salvat, 1997:818-31.
- D'alexandro A. Biology Of *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli*. In Lumsdem WHR, Evans DA eds. Biology of the Kinetoplastida, Vol. I, London, New York & San Francisco, Academic Press, 1976.
- Hunter CA, Slieler T, Araujo, F. Interleukin-12-mediated resistance to *Trypanosoma cruzi* is dependent on tumor necrosis factor alpha and gamma interferon. Infect Immunol 1996; 64 : 2381-6.
- Borges MM, Kloetzel JK et al. Prostaglandine and nitric oxide regulate TNF-alpha production during *Trypanosoma cruzi* infection. Immunol Lett 1998; 63: 1-8.
- Abrahamsohn IA, Coffman RL. *Trypanosoma cruzi*, IL-10, IFN-gamma and IL-12 regulate innate and acquired immunity to infection. Exp Parasitol 1996; 84: 231-44.
- Holscher C, Kohler G, et al. Defective NO effector functions lead to extreme susceptibility of *T. cruzi* infected mice deficient in gamma interferon receptor of inducible NO synthase. Infect Immunol 1998; 66: 1208-15.
- Metz G, Carlier Y, Vray B. *T. cruzi* upregulates NO release by IFN-gamma - preactivated macrophages, limiting cell infection independently of the respiratory burst. Parasite Immunol 1993; 15: 693-9.
- Abrahamsohn IA, Coffman RL. IL-10, TNF-a, IFN-g and IL-12 regulate innate and acquired immunity to *Trypanosoma cruzi* infection. Available from: URL:<http://www.yahoo.com/Inmunologia/Chagas>.
- Dos reis GAI, Nunes MP, Freire de Lima CI et al. Does a common messenger pathway transduce host and parasite-derived signals subverting cell mediated immune responses in experimental Chagas disease. <http://www.yahoo.com/Inmunologia/Chagas>.
13. Tarleton RL, Kuhn RE. Restoration of *in vitro* immune responses of spleen cells from mice infected with *T. cruzi* by supernatants containing interleukin-2. J Immunol 1984, 133:1570-5.
- Snary D, Hudson L. The cell surface of *Trypanosoma cruzi*. Current Top Microbiol Immunol 117: 74-92.
- Joskowitz MH. Immunopathologie de la trypanosomiase americane. Bull Inst Pasteur 1993; 91: 75-88.
- De Anujo TC, Barbosa HS, Merelles MNL. *Trypanosoma cruzi* recognition by macrophages and muscle cells perspectives after a 15 year study. Mem Inst Oswaldo Cruz 1992; 87: 43-56.
- Hontebeyrie-Joskowitz MH. Immunoregulatory mechanisms and Chagas disease. Mem Inst Oswaldo Cruz 1992; 87 : 101-3.
- Camargo NM, Almeida IC, Pereira MES, et al. GIP anchored mucin-like glycoproteins are responsible for stage specific induction of pro-inflammatory cytokines by *Trypanosoma cruzi*. <http://www.yahoo.com/Inmunologia/Chagas>.
- De Barros-Mazón S, Guariento ME, Abrahamsohn IA. IL-12 enhances proliferation of peripheral blood mononuclear cells from chagasic patients to *Trypanosoma cruzi* antigen. URL:<http://www.yahoo.com/Inmunologia/Chagas>.

20. Holscher C, Kohler G, Muller U, et al. Defective nitric oxide effector functions lead to extreme susceptibility of *Trypanosoma cruzi* infected mice deficient in gamma - interferon receptor or inducible nitric oxide synthase; Infect Immunology. 1998; 66: 1208-15.
21. Campbell D. *Trypanosoma cruzi* attachment to and entry into the host cell. URL: <http://www.lifesci.ucla.edu/hhmi/C168/>
22. Rojas W. Inmunología. Decima edición. Medellín. Ediciones Rojo, 1995.
23. Abbas KA, Lichtman HA, Pober SJ. Inmunología Celular y Molecular. Segunda edición, Madrid: Interamericana McGraw-Hill, 1995.
24. Fernández-Gómez R, Esteban S, Gómez-Corvera R, et al. *Trypanosoma cruzi*: Tc52 released protein-induced increased expression of nitric oxide synthase and nitric oxide production by macrophages. J Immunol; 1998; 160:3471-9.
25. Metzke K, Lorand-Metze I. Relationship between histopathological findings and phylogenetic divergence in *T. cruzi*. Trop Med Int Health. 1998; 3 : 222-3.
26. Moncada S, Higgs A. The L-arginine - nitric oxide pathway. N Eng J Med 1993;30: 2002-11.
27. MacMicking J, Nathan C, Qiao-wen X. Nitric oxide and macrophage function. Annu Rev Immunol 1997; 15:323-50.
28. Ruano C, López-Jaramillo P. Respuesta inmune no específica y óxido nítrico. En López-Jaramillo P (ed). La vía L-arginina-óxido nítrico: De su descubrimiento a sus aplicaciones clínicas. Primera edición, Quito, Ediciones Científicas, 1995: 269-86.
29. Currie GA. Activated macrophages killed tumour cells by releasing Arginase. Nature 1978; 273:758-9.
30. Schulz R. La Familia de las enzimas sintetizadores de óxido nítrico. López-Jaramillo P (ed). La vía L-arginina-óxido nítrico: De su descubrimiento a sus aplicaciones clínicas. Primera edición, Quito, Ediciones Científicas, 1995: 23-50.
31. Michel T, Xie Q-W, Nathan C. Molecular biological analysis of nitric oxide synthases. En Feelisch M, Stamler JS (eds). Methods in nitric oxide research. Primera Edición. Editorial Chichester; Wiley & Sons, 1996: 161-75.
32. Soubrier F. Nitric oxide synthase genes - candidate genes among many others. <http://www.insm.chu-stlouis.fr>
33. Liew FY, Li Y, Millott S. TNF-alpha in leishmaniasis and TNF-alpha-induced macrophage leishmanicidal activity is mediated by nitric oxide from L-arginine. Immunol 1990; 71 : 556-9.
34. Abrahamsohn IA, Coffman RL. Cytokine and NO regulation of the immunosuppression in *T. cruzi* infection. J Immunol 1995; 155:3955-63.
35. Sies H. Strategies of antioxidant defense. Eur J Biochem 215 : 213-19.
36. Lamas S, Pérez-Sala D, Moncada S. Nitric oxide: from discovery to the clinic. Tips 1999; 19:436-38.
37. Pérez-Fuentes R, Gonzáles- Alvares C, et al. Humoral nitric oxide levels and antibody immune response of symptomatic and indeterminate Chagas disease patients to commercial and autochthonous *Trypanosoma cruzi* antigen. Am J Trop Med Hyg 1998; 58 : 715-20.
38. Laucella SA, Rottenberg ME, de Tito EH. Role of cytokines in resistance and pathology in *Trypanosoma cruzi* infection. Rev Argent Microbiol 1996;28: 99-109.
39. Chandrasekar B, Melby PC, Troyer DA, et al. Temporal expression of pro-inflammatory cytokines and inducible nitric oxide synthase in experimental acute chagasic cardiomyopathy. Am J Pathology 1998; 152 : 925-34.
40. Pinge-Filho P; Tadokoro CE, et al. Prostaglandins mediate suppression of lymphocyte proliferation and cytokine synthesis in acute *Trypanosoma cruzi* infection. Cell Immunol 1999; 193 : 90-8.
41. Tarleton RL. Depletion of CD8+ T cells increases susceptibility and reverses vaccine-induced immunity in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. J Immunol 1990; 144 : 717-24.
42. Lopez-Jaramillo P. Bioquímica del endotelio vascular. Cuarta edición. Valle del Cauca: Editorial Impresión Artes Gráficas Univalle, 1998:223.
43. Vincendeau P, Daulouede S. Macrophage cytostatic effect on *Trypanosoma masculi* involves an L-arginine-dependent mechanism. J Immunol 1991; 146 : 4338-43.
44. Skerrett SJ, Martin TR. Roles for tumor necrosis factor alpha and nitric oxide in resistance of rat alveolar macrophages to *Legionella pneumophila*. Infect Immun 1996; 64 : 3236-43.
45. Liew FY, Millott S, et al. Macrophage killing of Leishmania parasite *in vivo* is mediated by nitric oxide from L-arginine. J Immunol 1990; 144 : 4794-7.
46. Aliberti JC, Machado FS, et al. Platelet activation factor induces NO synthesis in *T. cruzi* infected macrophages and mediates resistance to parasite infection in mice. Infect Immunol 1999; 67 : 2810-4.
47. Castaño-Velez E, Maerlan S, et al. *Trypanosoma cruzi* infection in tumor necrosis factor receptor p55- deficient mice. Infect Immun 1998; 66 : 2960-8.
48. Martins GA, Cardoso MA, Aliberti JC, Silva JS. Nitric oxide-induced apoptotic cell death in the acute phase of *Trypanosoma cruzi* infection in mice. Immunol Lett 1998; 63 : 113-20.
49. Sterin Borda L, Cremaschi G, et al. Involvement of nitric oxide and protein kinase c activation on chagasic antibodies action upon cardiac contractility. Mol Cel Biochemistry 1996; 58 : 75-82.
50. Sterin Borda L, Leiros CP, et al. Participation of nitric oxide signaling system in the cardiac muscarinic cholinergic effect of human chagasic IgG. J Mol Cel Cardiol 1997; 27 : 1851-65.
51. Jacobs F, Dubois C, Carrier, et al. Administration of anti-Cd3 monoclonal antibody during experimental Chagas disease induces CD8+ cell-dependent lethal shock. Clin Exp Immunol 1996; 103 : 233-8.