

ARTÍCULO ESPECIAL

Inmunidad celular en la patogénesis de la cardiopatía chagásica crónica



Joel I. Klahr^a, Ana M. Uribe^b, Nubia Roa^c y John M. González^{a,*}

^a Grupo de Ciencias Básicas Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia

^b Departamento de Patología, Hospital Universitario San Ignacio y Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia

^c Unidad de Cardiología, Hospital Universitario San Ignacio, Bogotá, Colombia

Recibido el 25 de junio de 2015; aceptado el 18 de abril de 2016

Disponible en Internet el 24 de agosto de 2016

PALABRAS CLAVE

Enfermedad de Chagas;
Cardiopatía chagásica crónica;
Linfocitos T;
Respuesta inmune celular

Resumen La cardiopatía chagásica crónica se presenta en un 30% de las personas infectadas con *Trypanosoma cruzi*. Aunque el parásito puede ser controlado por la respuesta inmune después de la fase aguda, su detección se hace difícil en la fase crónica a pesar de la persistencia de éste en los tejidos de los individuos infectados. Dado que solo un porcentaje de estos individuos crónicamente infectados desarrolla el daño tisular, se sugiere la existencia de factores asociados que predicen la aparición de la sintomatología crónica: a) la genética del hospedero (moléculas del HLA), cuyo papel aún no se ha dilucidado, b) factores dependientes del parásito como la variabilidad de los genotipos (TcI a TcVI), su asociación con tropismo y daño tisular; y c) otros factores como la cantidad del inóculo, la reexposición constante a vectores infectados, las diferentes vías de infección y el estado inmunológico del hospedero. Varias teorías han sido implicadas en el compromiso cardiaco, como la persistencia del *T. cruzi* en los tejidos, la autoinmunidad inducida y el daño tisular producido por la respuesta inmune. En esta revisión se pretende emitir una hipótesis respecto a la disfunción celular inmune producida por la persistencia parasitaria en los tejidos y su papel en la patogénesis de la enfermedad. Se consideran aspectos como el pronóstico de los pacientes con cardiopatía chagásica llevados a trasplante de corazón por falla cardiaca avanzada comparado con otras causas de falla que conducen a trasplante y la posible organización de los infiltrados inflamatorios en el tejido cardiaco, el cual podría funcionar como un tejido linfóide terciario.

© 2016 Sociedad Colombiana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: johgonza@uniandes.edu.co (J.M. González).

KEYWORDS

Chagas disease;
Chronic Chagas
cardiomyopathy;
T lymphocytes;
Cell-mediated
immune response

Cell-mediated immunity in the pathogenesis of chronic Chagas cardiomyopathy

Abstract Chronic Chagas cardiomyopathy is present in 30% of people infected with *Trypanosoma cruzi*. Even though the parasite can be controlled by immune response after the acute phase, its detection is hard in the chronic phase despite its persistence in the tissues of infected individuals. Since only a fraction of these chronically infected individuals develop tissue damage, the existence of associated predictive factors for appearance of chronic symptoms is suggested: a) host's genetics (HLA molecules) whose role has not yet been clarified; b) parasite-dependent factors such as genotype variability (TcI to TcVI), their association with tropism and tissue damage; and c) other factors like the amount of inoculum, the constant reexposure to infected vectors, the different infection routes and the host's immune status. Several theories have been put forward with regard to cardiac compromise, such as *T. cruzi* persistence in tissues, induce autoimmunity and tissue damage caused by immune response. This review intends to propose a hypothesis on cellular immune dysfunction produced by parasite persistence in tissues and their role in the pathogenesis of the disease. Aspects such as prognosis of patients with Chagas cardiomyopathy who undergo heart transplant due to advanced heart failure are taken into consideration and compared to other failure causes that lead to transplants, and also the possibly organisation of inflammatory infiltrates in heart tissue, which could function as a tertiary lymphoid tissue.

© 2016 Sociedad Colombiana de Cardiología y Cirugía Cardiovascular. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La enfermedad de Chagas es una infección crónica cuyo agente etiológico es el protozooario *Trypanosoma cruzi*. Es la principal causa de miocardiopatía dilatada en países de Latinoamérica donde es endémica¹ y cada vez cobra más importancia en países no endémicos debido a la migración². Es una enfermedad olvidada (*Neglected Tropical Disease*) ya que los estudios de prevalencia son regionales; se considera que hay cifras importantes de subdiagnóstico, lo cual no permite conocer su verdadero impacto¹.

En la infección por *T. cruzi* se ha descrito una fase aguda, una crónica asintomática (indeterminada) y una crónica sintomática (determinada). La fase aguda usualmente se diagnostica en niños de áreas endémicas o por reactivación en personas inmuno-suprimidas secundario a trasplantes o al VIH/SIDA; en la mayoría de casos es asintomática o se presentan síntomas constitutivos prodrómicos como fiebre, malestar general y cefalea. En algunas ocasiones se observan los signos clásicos de la enfermedad como el signo de Romaña (edema palpebral unilateral) o el chagoma (lesión nodular subcutánea en piel), ambos indicativos de la entrada de la forma infectiva del parásito o tripomastigote metacíclico². En la trasmisión por vía oral, la presentación clínica suele ser diferente y tiende a complicarse más que la de transmisión vectorial, ya que aparecen con mayor frecuencia cuadros de cardiopatía aguda o meningoencefalitis³. Los síntomas desaparecen de 4 a 6 semanas posterior a la infección y el parásito es controlado por el sistema inmune, pero sin eliminarlo por completo; los individuos entran entonces en la fase indeterminada². En esta fase, la parasitemia es difícil de detectar y el diagnóstico se realiza con métodos serológicos indirectos que buscan la presencia de anticuerpos específicos. Los métodos de diagnóstico disponibles para la evaluación de anticuerpos no son siempre adecuados debido a la divergencia que hay entre los

múltiples antígenos presentes en los diferentes genotipos de parásito circulante y los antígenos disponibles en los estuches comerciales⁴. Algunos individuos desarrollan compromiso tisular, principalmente cardíaco y digestivo, siendo común la afección cardíaca (fase crónica sintomática)^{2,5}. Alrededor del 30% de las personas infectadas presentan algún grado de miocarditis que puede llevar a falla cardíaca con una alta mortalidad prematura². De acuerdo con la clasificación combinada del Colegio Americano de Cardiología (ACC) y la Asociación Americana del Corazón (AHA), en estadios avanzados de la enfermedad se encuentran alteraciones electrocardiográficas, disminución de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), aumento del tamaño de las cavidades del corazón y una clase funcional alterada en la escala de Nueva York (NYHA)⁶. La falla cardíaca crónica secundaria a la cardiopatía chagásica crónica es de peor pronóstico que lo observado en pacientes con falla cardíaca por otras etiologías, presentándose con mayor morbimortalidad^{1,7,8}.

Aunque el tratamiento antiparasitario sólo está indicado en la infección aguda incluyendo la infección congénita y la reactivación por inmunosupresión, actualmente se plantea que la eliminación del parásito podría prevenir la progresión del deterioro de la función cardíaca en pacientes con daño ya establecido⁹. Esta premisa se basa en que la persistencia del parásito induce una respuesta inmune disfuncional, que conlleva daño tisular y progresión de la enfermedad. El estudio clínico BENEFIT, en el cual se evaluó el efecto del tratamiento antiparasitario con benznidazol en pacientes con cardiopatía chagásica crónica establecida, demostró que si bien hay una reducción de la parasitemia no hay efecto en el cuadro clínico cardíaco durante 5 años de seguimiento⁹. No obstante, cuando el deterioro cardíaco es severo, las manifestaciones clínicas de la cardiopatía chagásica crónica como la falla cardíaca congestiva y las alteraciones de la conducción cardíaca son tratadas de manera similar que las

cardiopatías por otras etiologías. Por lo tanto, los pacientes con cardiopatía chagásica crónica en estadio final pueden beneficiarse del trasplante cardíaco⁶.

Si bien el sistema inmune desempeña un papel determinante en la lesión tisular y en el deterioro de la función cardíaca en la fase crónica de la enfermedad, en la mayoría de los casos se deduciría que la respuesta inmune es efectiva ya que controla el parásito sin inducir daño tisular. Después del proceso agudo, aproximadamente el 70% de las personas infectadas no desarrolla ninguna de las complicaciones posteriores^{2,6}. Las evidencias que apoyan la eficacia del sistema inmune en la protección y el control de la enfermedad son las siguientes:

- a) La desaparición de los síntomas cuando se supera la fase aguda se correlaciona con una disminución de la parasitemia hasta el punto de ser indetectable.
- b) Hay reactivación de la enfermedad y reaparición de síntomas en pacientes inmuno-suprimidos con disminución de la población de linfocitos CD4+ como en el VIH/SIDA¹⁰.
- c) Los estudios en modelos animales demuestran la participación de mecanismos inmunes protectores como anticuerpos, IFN- γ y linfocitos T CD8+¹¹.

El objetivo de esta revisión es exponer el componente inmune celular como uno de los implicados en la patogénesis de la cardiopatía chagásica. Para ello se utilizarán como evidencia los estudios realizados en pacientes chagásicos crónicos trasplantados y los trabajos que asocian la disfunción celular de los linfocitos con la persistencia parasitaria.

Trasplante cardíaco en pacientes chagásicos crónicos comparado con pacientes aceptores no chagásicos

Por varios años se consideró que la cardiopatía chagásica crónica era una contraindicación relativa para el trasplante cardíaco debido a que es una enfermedad infecciosa y teóricamente no era posible la eliminación completa del parásito con el tratamiento. Asimismo, la posibilidad de reactivación del parásito secundaria al uso de terapias inmunosupresoras usadas para inducir tolerancia al injerto, era considerado un riesgo potencial¹². Los estudios han demostrado que la cardiopatía chagásica crónica no es una contraindicación para trasplante. Incluso, en algunas cohortes se evidencia que los aceptores chagásicos presentan mayor sobrevida posttrasplante que los pacientes con cardiopatía dilatada por otras etiologías; además, algunas complicaciones inherentes al tratamiento inmunosupresor son menos frecuentes y menos severas^{5,12-16}. La sobrevida, complicaciones, causas de mortalidad y pronóstico de los pacientes chagásicos trasplantados son comparados con los resultados obtenidos frente a grupos control de pacientes trasplantados por otras causas de cardiopatía dilatada como la cardiopatía isquémica y la cardiopatía dilatada idiopática.

En términos de supervivencia y mortalidad, en Brasil, han demostrado una mejor sobrevida a corto y a mediano plazo en los pacientes con cardiopatía chagásica trasplantados comparado con controles sometidos al mismo protocolo de trasplante (técnica quirúrgica, cuidados postoperatorios, protocolos de inmunosupresión y de reactivación). A largo

plazo, aunque los resultados no son comparables por la poca cantidad de pacientes, también existe una tendencia a mayor sobrevida en los pacientes chagásicos. Al comparar las causas de mortalidad entre los diferentes grupos (cardiopatía chagásica crónica, cardiopatía isquémica, cardiopatía dilatada idiopática), es notable que los pacientes chagásicos mostraron menores porcentajes de disfunción aguda al injerto con una tasa de mortalidad por rechazo muy similar entre los grupos. En pacientes chagásicos fueron menos frecuentes otras causas de mortalidad como infecciones y coronariopatía aguda^{15,16}.

En pacientes chagásicos la tendencia en el tratamiento es disminuir las dosis de los medicamentos inmunosupresores lo suficiente para evitar la aparición de reactivaciones y demás complicaciones inherentes a la terapia, sin que se aumenten las tasas de rechazo¹⁴. En un estudio donde se comparan dos grupos de pacientes chagásicos trasplantados, diferenciados por la disminución de la dosis de ciclosporina, se evidenció mayor supervivencia y menores tasas de neoplasias sin un aumento significativo de rechazo en ambos grupos¹³. El rechazo inmunológico al injerto, incluyendo los diversos tipos de rechazo, es una de las causas de morbimortalidad más importantes y frecuentes en pacientes con trasplante cardíaco. Si bien algunos resultados son contradictorios, en general en los pacientes chagásicos se han reportado menores tasas de tratamiento por rechazo agudo respecto a grupos control¹⁴.

Los datos obtenidos de los resultados de trasplante cardíaco en cardiopatía chagásica crónica indican que en estos pacientes podría existir un efecto inmuno-modulador, inducido por la exposición a los antígenos parasitarios, lo cual hace que la respuesta al injerto y al tratamiento inmunosupresor sea diferente y determinante en el pronóstico de la sobrevida del injerto y del paciente. Esto podría explicarse por la teoría de la disfunción celular inmune (linfocitaria), fenómeno que ya se ha establecido en los pacientes infectados de forma crónica.

Si bien el número de pacientes en los estudios no ha sido óptimo y además existen variables no controladas como las diferentes intervenciones pre y posttrasplante en cada paciente, que pueden afectar el pronóstico, se ha logrado reconocer que el trasplante cardíaco es una excelente opción para los pacientes con cardiopatía chagásica crónica avanzada. En general, se considera que no es necesaria la profilaxis antiparasitaria ya que ésta no previene eficazmente la reactivación de la infección. Además, en la actualidad se considera que las reactivaciones son relativamente fáciles de diagnosticar y tratar^{13,14}. También, las reactivaciones son una causa de mortalidad poco frecuente con reportes tan bajos como del 0,7%¹⁵. La reactivación del *Trypanosoma cruzi*, igualmente no se ha asociado con la aparición de lesiones prematuras en el injerto ni con mayores tasas de rechazo al trasplante^{14,15}.

La disfunción celular en la cardiopatía chagásica crónica

Respuesta inmune mediada por linfocitos T

La actividad de los linfocitos T es dependiente de la presentación antigénica, la cual es realizada por células presentadoras de antígeno profesionales (CPA). Cuando un

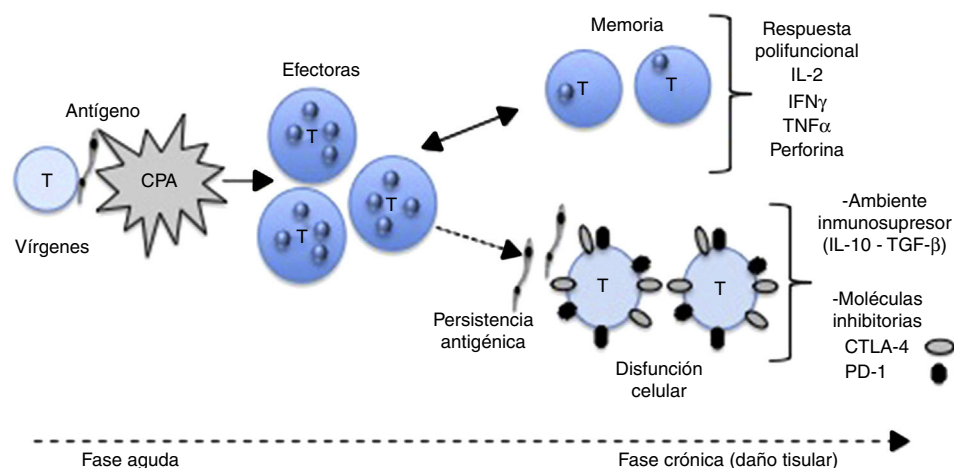


Figura 1 Modelo de diferenciación de linfocitos T. Las CPA presentan los antígenos parasitarios a los linfocitos T vírgenes. Se produce expansión clonal y se convierten en células efectoras. Con la disminución o eliminación del antígeno se reduce la población efectora y se generan células de memoria. Las células de memoria, al entrar en contacto con el antígeno, desencadenan una respuesta polifuncional con producción de citocinas y moléculas efectoras. Si el antígeno persiste se induce disfunción celular; las células cambian el patrón de secreción de citocinas, expresan marcadores de agotamiento clonal y no controlan la infección aunque producen daño tisular. CPA (células presentadoras de antígeno), CTLA-4 (proteína citotóxica asociada a los linfocitos T), IL-2 (interleucina 2), INF- γ (interferón gamma), PD-1 (muerte celular programada tipo 1).

microorganismo rompe las barreras cutáneas o mucosas, éste puede ser reconocido mediante receptores de patrones moleculares (PAMP) y, dependiendo del tipo de célula, el antígeno es endocitado y procesado en los tejidos, como ocurre con los macrófagos y las células dendríticas (DC)¹⁷. Los antígenos son presentados por estas células en su superficie en el contexto de las moléculas HLA del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) para ser reconocidos e inducir la activación de linfocitos T específicos del antígeno. La activación del linfocito T requiere una alta afinidad entre el complejo CMH-antígeno con su contraparte el receptor de linfocitos T o TCR. El receptor TCR carece de cola citoplasmática, por ende, es incapaz de iniciar una cascada de señalización intracelular, de ahí que la señalización es iniciada por la molécula CD3. El complejo TCR-CD3 se considera la primera señal de estimulación, la cual es potenciada por la coestimulación de moléculas accesorias como CD80 (B7-1) y CD86 (B7-2). Todas estas señales conducen a una cascada de fosforilación intracelular que permite la activación de factores de transcripción nuclear (ERK, JNK, NF- κ B, NFAT) los cuales se unen a regiones promotoras de genes que se desean transcribir, en el caso de los linfocitos T del gen promotor de la IL-2; igualmente, se promueve la expresión del receptor de membrana de IL-2¹⁸. La función primordial de la activación del linfocito T es la producción de IL-2, que es el principal factor de crecimiento, desarrollo y diferenciación de linfocitos T. La activación de los linfocitos T conlleva la expansión de clones específicas de antígeno que dan origen a células efectoras y células de memoria (fig. 1). Los linfocitos T CD4⁺ (ayudadores o Th) producen diversas citocinas que permiten diferenciar subpoblaciones como Th1 (producen primordialmente INF- γ), Th2 (IL-4) y Th17 (IL-17), entre otras. Los linfocitos T CD8⁺ (citotóxicos) además de citocinas (INF- γ y TNF- α), secretan moléculas citotóxicas como granzimas y perforinas¹⁹. Una vez se elimina el microorganismo, la ausencia de estímulo antigénico promueve la apoptosis de las células efectoras, y algunas se convierten en

células de memoria (fig. 1). Las células de memoria residen en mucosas y tejidos a la espera de encontrar a su antígeno en un futuro y así generar una respuesta más rápida y eficaz contra el agente agresor. Cuando el antígeno no es eliminado por completo y la infección se hace crónica, dicha persistencia puede inducir una respuesta alterada de los linfocitos T (disfunción celular). La disfunción es inducida y aprovechada por los microorganismos para asegurar su supervivencia. La mayoría de estudios sobre disfunción celular inmune han sido realizados en modelos de infección viral crónicos donde hay altas tasas de replicación viral. Por el contrario, en la infección por *T. cruzi* se presenta una parasitemia baja y la cantidad de antígenos circulantes es probablemente menor respecto a los virus²⁰.

La alteración de la respuesta de los linfocitos T frente a un antígeno específico, puede deberse a una presentación subóptima de antígeno al TCR, a una falta de activación dada por ausencia de señales de las moléculas coestimuladoras o a señales de inhibición mediadas por receptores presentes en la membrana del linfocito T, como CTLA-4 y PD-1²⁰ (fig. 1 y tabla 1). La disfunción celular incluye mecanismos aún no bien dilucidados como el agotamiento (*exhaustion*), la tolerancia, la anergia clonal, la ignorancia antigénica o la senescencia celular. Algunos de estos mecanismos se han identificado por medio de marcadores celulares (fenotipos) o en estudios de función celular²¹.

Persistencia antigénica como inductor de disfunción celular en la enfermedad de Chagas

La cardiopatía chagásica crónica es básicamente una miocarditis cuya severidad histológica está dada por la cantidad y extensión del infiltrado inflamatorio que se puede correlacionar con la severidad clínica y el deterioro de la función del corazón²². En la fase aguda, la miocarditis presenta un infiltrado inflamatorio más denso, con presencia de linfocitos,

Tabla 1 Marcadores de función de los linfocitos T

Función	Respuesta de memoria T polifuncional	Disfunción celular T
Moléculas estimuladoras		
CD28	↑↑	↓
CD3 cadena ζ	↑↑↑	↓
Citocinas		
IL-2	↑	↓
TNF-α	↑↑	↓
INF-γ	↑↑↑	↓
Marcadores de activación		
CD38	↑↑	↑↑↑
HLA-DR	↑↑	↑↑↑
Moléculas inhibitorias		
CTLA-4	↓	↑↑↑
PD-1	↓	↑↑↑
TIM-3	↓	↑↑↑
Funciones celulares		
Proliferación	↑↑↑	↓
Apoptosis	↓	↑
Citotoxicidad	↑↑	↑

Comparación de la expresión, producción y función entre la respuesta de memoria polifuncional⁴³ y la respuesta celular disfuncional^{36,44}. ↑-expresión o actividad baja. ↑↑-moderada. ↑↑↑-alta. ↓-reducción de la expresión o actividad. CD (*cluster of differentiation*), CTLA-4 (proteína citotóxica asociada a los linfocitos T), HLA-DR (antígeno leucocitario humano - complejo mayor de histocompatibilidad clase II), PD-1 (muerte celular programada tipo 1), TIM-3 (proteína de membrana de célula T), TNF-α (factor de necrosis tumoral alfa), INF-γ (interferón gamma), CD3 ζ (zeta).

macrófagos y eventualmente eosinófilos y neutrófilos; además es posible identificar nichos de parásitos intracelulares en el tejido²² (figs. 2A y 2B). Por el contrario, en la fase crónica rara vez se observa el parásito en el tejido, a través del uso de métodos de diagnóstico histológico convencionales, y así mismo, el infiltrado celular es menor, más disperso y de predominio linfocitario²³ (figs. 2C y 2D). No obstante, mediante técnicas inmuno-histológicas y moleculares más sensibles, se ha logrado detectar el parásito en circulación²⁴, directamente en los tejidos afectados²⁵ e incluso, en tejido cardíaco de pacientes seropositivos (fase indeterminada), que murieron por otras causas²⁶. Algunos estudios correlacionan la cantidad del ADN parasitario detectado y el compromiso cardíaco²⁷. En modelos animales se ha logrado disminuir la inflamación miocárdica y por consiguiente el deterioro cardíaco mediante el tratamiento antiparasitario con benznidazol²⁸, pero no en humanos con cardiopatía crónica⁹. Esto permite sugerir que la persistencia antigénica en el tejido cardíaco condiciona la aparición del proceso inflamatorio y está implicada en la lesión tisular. Aunque la lesión del miocito puede ser causada directamente por el parásito, se considera que es la interacción entre el parásito y las células del sistema inmune uno de los factores determinantes para la inducción de miocitólisis²⁹.

Respuesta inmune celular en la infección crónica por *T. cruzi*

En células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de individuos sanos expuestos al parásito o a antígenos del mismo, se demostró una disminución de la proliferación celular aún en presencia de mitógenos y de IL-2 exógena, sin un incremento de la mortalidad celular³⁰. Este fenómeno está dado por la disminución de la expresión del receptor para la IL-2 (IL-2R), demostrando que no hay alteración de la producción de la citocina como tal, pero sí un defecto en la vía de señalización del linfocito T³¹.

Las CPA pueden ser infectadas por el *T. cruzi*, lo cual puede conllevar cambios funcionales de estas células y en consecuencia una alteración en la activación de los linfocitos T³². La infección de monocitos disminuye la expresión de moléculas coestimuladoras como CD80 y CD86 especialmente en pacientes con cardiopatía chagásica crónica, en comparación con individuos en fase indeterminada e individuos sanos³³. La presencia del parásito igualmente disminuye la expresión de marcadores como CD3, CD4 y CD8 en células activadas³⁴, y más aún, es capaz de disminuir la expresión del TCR posterior a la activación³⁵. De forma similar, los antígenos parasitarios alteran la cascada de señales mediadas por CD3 disminuyendo la expresión intracelular de la cadena CD3zeta (CD3ζ) en linfocitos T de pacientes chagásicos³⁶.

Los linfocitos T de los individuos infectados crónicamente con el parásito expresan marcadores de activación como CD38 y HLA-DR, siendo mayor en individuos con cardiopatía chagásica. Este hallazgo sugiere que estas células ya han estado expuestas a los antígenos parasitarios. A pesar de que las células presentan un estado de "hiperactivación", sus funciones efectoras no son adecuadas^{24,36}. De forma interesante, estos marcadores de activación revierten luego del tratamiento antiparasitario, indicando que son los antígenos parasitarios los inductores de estos cambios³⁷.

En cuanto a la producción de citocinas, los pacientes chagásicos crónicos asintomáticos presentan un predominio de la respuesta de linfocitos productores de IFN-γ (Th1) sobre linfocitos productores de IL-4 (Th2). En consecuencia, hay una disminución de citocinas antiinflamatorias como la IL-10¹¹. Este patrón de secreción de citocinas favorece mecanismos que inducen inmunidad contra infecciones intracelulares como la infección por *T. cruzi*. Se ha establecido que la producción de IFN-γ por parte de linfocitos T frente a los antígenos del parásito, disminuye con la progresión de la enfermedad cardíaca³⁸⁻⁴⁰. Sin embargo, algunos autores han demostrado un aumento de IFN-γ en pacientes con cardiopatía avanzada y lo asocian a la lesión tisular^{41,42}. A pesar de la disminución de la producción de citocinas por parte de los linfocitos T en la cardiopatía chagásica crónica, estas células presentan mayor función citotóxica relacionada con un incremento en la producción de perforina intracelular y mayores tasas de degranulación^{38,40,43,44}. Este fenómeno de pérdida de las funciones efectoras citotóxicas, que también se ha descrito en infecciones virales crónicas, se conoce como agotamiento clonal²¹. La producción de otras citocinas proinflamatorias como el TNF-α y la actividad citotóxica, también se han asociado con el daño tisular en la cardiopatía chagásica^{24,44,45}.

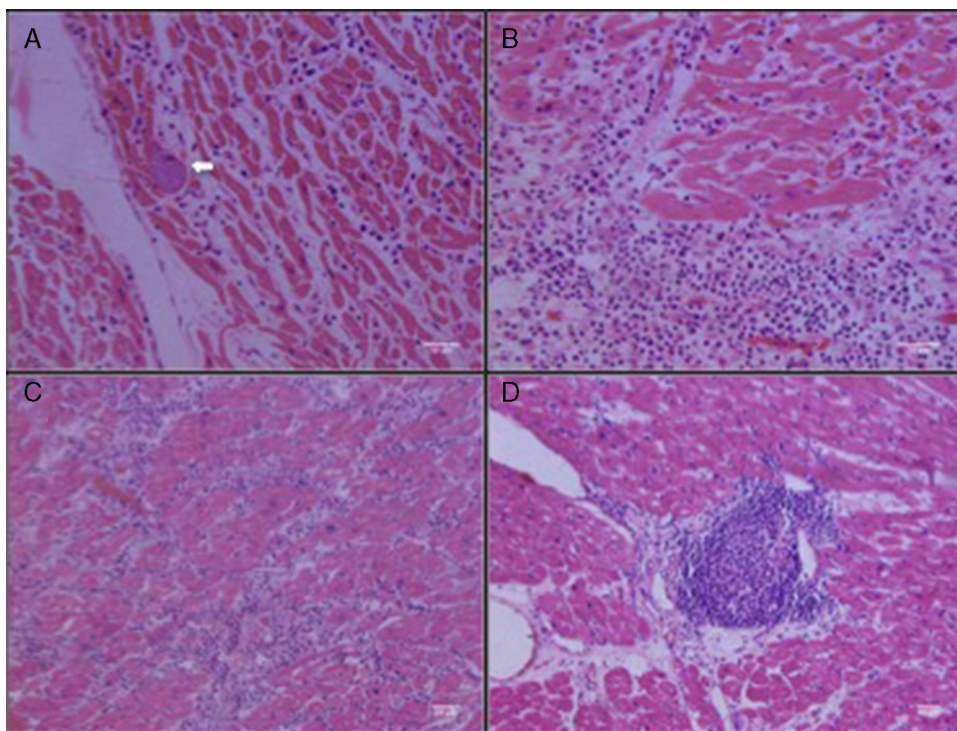


Figura 2 Infiltrado celular en tejidos cardiacos de pacientes con cardiopatía chagásica. A. Miocarditis aguda. Se observan fibras musculares separadas por un infiltrado inflamatorio difuso. Presencia de nicho de amastigotes en la fibra cardiaca (flecha blanca), B. Miocarditis aguda. Denso infiltrado inflamatorio de predominio mononuclear lesionando las fibras. Escasos polimorfonucleares (figuras A y B coloración con H & E, objetivo 40 x, marcador de escala 50 μ m). C. Miocarditis crónica con infiltrado inflamatorio difuso entre las fibras y foco con presencia de eosinófilos. Pérdida de la continuidad de las fibras por presencia de células inflamatorias (miocitólisis). D. Miocarditis crónica. Patrón nodular (follicular) del infiltrado inflamatorio que podría simular un tejido linfoide terciario. Se observan linfocitos, plasmocitos y macrófagos (figuras C y D coloración con H & E, objetivo 20 x, marcador de escala 100 μ m).

Además de las características de las alteraciones funcionales de los linfocitos T en los pacientes con cardiopatía chagásica crónica, se ha descrito un aumento de CTLA-4⁴⁶ y PD-1^{29,46} como marcadores fenotípicos de agotamiento clonal. La presencia de estos marcadores inhibitorios se asocia con alteraciones de la proliferación de linfocitos T^{29,46,47}.

Algunos cúmulos de células infiltrantes en el corazón de pacientes chagásicos presentan marcadores de estructuras linfoides terciarias (ELT). Estas estructuras han sido definidas como tejido linfoide ectópico y ayudan a montar una respuesta inmune local. Los ELT exhiben características conformacionales de un nódulo linfoide con zonas de linfocitos T, células dendríticas maduras y un centro germinal con células dendríticas foliculares y linfocitos B inmaduros, además de un endotelio especializado denominado endotelio venular alto o HEV. La presencia de ELT se ha descrito en enfermedades autoinmunes, infecciones virales y bacterianas persistentes, rechazo a injertos y en diferentes tipos de cáncer⁴⁷. De manera interesante, la presencia de ELT se ha logrado correlacionar con la evolución de la enfermedad y el pronóstico de los pacientes o con la respuesta a los diferentes tratamientos como es el caso de algunos tumores⁴⁷. En pacientes con cardiopatía chagásica crónica se ha demostrado que el infiltrado celular es predominantemente de linfocitos T CD8⁺⁴⁸, e igualmente se encuentran linfocitos T CD4⁺ y células CD68⁺ aunque en menor proporción;

este último marcador se usa para identificar macrófagos y células dendríticas en tejidos²⁹. Aunque no se reporta presencia de ELT en cardiopatía chagásica, se han identificado células inflamatorias y citocinas como TNF- α , asociadas al mantenimiento de dichas estructuras²⁹. En consecuencia, sería importante determinar la presencia de ELT en tejido cardiaco de pacientes con cardiopatía chagásica crónica, a través de marcadores específicos de endotelio venular alto, para determinar su rol en la patogénesis de la cardiopatía chagásica (fig. 2D).

Conclusiones

Aunque la cardiopatía chagásica crónica es la complicación más frecuente de la fase crónica de la enfermedad, solo aparece en un tercio de los pacientes crónicamente infectados con *T. cruzi*. Esto ha llevado a indagar la interacción entre el parásito y el sistema inmune del hospedero como componente de la patogénesis. Si bien la falla cardiaca producida por la enfermedad de Chagas es de peor pronóstico que las cardiopatías por otras etiologías, el pronóstico de sobrevida y de algunas complicaciones posteriores al trasplante cardiaco, parecerían ser mejores. Esto indicaría que la modulación del sistema inmune del paciente trasplantado, inducida por el parásito, en este caso sería

beneficiosa. En la fase crónica de la enfermedad no se visualizan los parásitos en el tejido, aunque se ha demostrado la persistencia de estos usando técnicas moleculares más sensibles. Los antígenos parasitarios inducen una alteración de la función de los linfocitos T con cambios en sus funciones efectoras que permiten la sobrevida del parásito y algunas de estas participan en el daño tisular. Esta alteración de los linfocitos T podría ser una de las causas que ayudarían a explicar los resultados pronósticos obtenidos en pacientes chagásicos con trasplante de corazón.

Financiación

Joel I. Klahr fue apoyado por el programa Joven Investigador de COLCIENCIAS, convocatoria 619 y la Facultad de Medicina de la Universidad de los Andes.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Agradecimientos

Al programa Joven Investigador de COLCIENCIAS, y a las Doctoras Concepción J. Puerta y Adriana Cuéllar de la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana, por sus valiosos aportes y apoyo continuo.

Bibliografía

- Bestetti RB, Muccillo G. Clinical course of Chagas' heart disease: a comparison with dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 1997;60:187–93.
- Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. *Lancet Infect Dis.* 2001;1:92–100.
- Pereira KS, Schmidt FL, Guaraldo AMA, Franco RMB, Dias VL, Passos LAC. Chagas' disease as a foodborne illness. *J Food Prot.* 2009;72:441–6.
- Bhattacharyya T, Falconar AK, Luquetti AO, Costales JA, Grijalva MJ, Lewis MD, et al. Development of peptide-based lineage-specific serology for chronic Chagas disease: geographical and clinical distribution of epitope recognition. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8:e2892.
- Fiorelli AI, Stolf NAG, Honorato R, Bocchi E, Bacal F, Uip D, et al. Later evolution after cardiac transplantation in Chagas' disease. *Transplant Proc.* 2005;37:2793–8.
- Bern C, Montgomery SP, Herwaldt BL, Rassi A, Marin-Neto JA, Dantas RO, et al. Evaluation and treatment of chagas disease in the United States: a systematic review. *JAMA.* 2007;298:2171–81.
- Bestetti RB, Theodoropoulos TAD. A systematic review of studies on heart transplantation for patients with end-stage Chagas' heart disease. *J Card Fail.* 2009;15:249–55.
- Freitas HFG, Chizzola PR, Paes AT, Lima ACP, Mansur AJ. Risk stratification in a Brazilian hospital-based cohort of 1220 outpatients with heart failure: role of Chagas' heart disease. *Int J Cardiol.* 2005;102:239–47.
- Morillo CA, Marin-Neto JA, Avezum A, Sosa-Estani S, Rassi A, Rosas F, et al. Randomized trial of benznidazole for chronic Chagas' cardiomyopathy. *N Engl J Med.* 2015;373:1295–306.
- de Freitas VLT, da Silva SCV, Sartori AM, Bezerra RC, Westphalen EVN, Molina TD, et al. Real-time PCR in HIV/*Trypanosoma cruzi* coinfection with and without Chagas disease reactivation: association with HIV viral load and CD4 level. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5:e1277.
- Machado FS, Dutra WO, Esper L, Gollob KJ, Teixeira MM, Factor SM, et al. Current understanding of immunity to *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas disease. *Semin Immunopathol.* 2012;34:753–70.
- Blanche C, Aleksic I, Takkenberg JJM, Czer LSC, Fishbein MC, Trento A. Heart transplantation for chagas' cardiomyopathy. *Ann Thorac Surg.* 1995;60:1406–9.
- Bocchi EA, Bellotti G, Mocelin AO, Uip D, Bacal F, Higuchi ML, et al. Heart transplantation for chronic chagas' heart disease. *Ann Thorac Surg.* 1996;61:1727–33.
- Carvalho VBde, Sousa EFL, Vila JHA, Silva JPda, Caiado MR, Araujo SRde R, et al. Heart transplantation in Chagas' disease 10 years after the initial experience. *Circulation.* 1996;94:1815–7.
- Bocchi EA, Fiorelli A. The paradox of survival results after heart transplantation for cardiomyopathy caused by *Trypanosoma cruzi*. *Ann Thorac Surg.* 2001;71:1833–8.
- Fiorelli AI, Santos RHB, Oliveira JL, Lourenço-Filho DD, Dias RR, Oliveira AS, et al. Heart transplantation in 107 cases of Chagas' disease. *Transplant Proc.* 2011;43:220–4.
- Kopp E, Medzhitov R. Recognition of microbial infection by Toll-like receptors. *Curr Opin Immunol.* 2003;15:396–401.
- Malek TR. The biology of interleukin-2. *Annu Rev Immunol.* 2008;26:453–79.
- Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:745–63.
- Kahan SM, Wherry EJ, Zajac AJ. T cell exhaustion during persistent viral infections. *Virology.* 2015.
- Schietinger A, Greenberg PD. Tolerance and exhaustion: defining mechanisms of T cell dysfunction. *Trends Immunol.* 2014;35:51–60.
- Higuchi ML, De Moraes CF, Pereira Barreto AC, Lopes EA, Stolf N, Bellotti G, 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.
- Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simões MV. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. *Circulation.* 2007;115:1109–23.
- Mateus J, Lasso P, Pavia P, Rosas F, Roa N, Valencia-Hernández CA, et al. Low Frequency of circulating CD8+ T stem cell memory cells in chronic chagasic patients with severe forms of the disease. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9:e3432.
- Bellotti G, Bocchi EA, de Moraes AV, Higuchi ML, Barbero-Marcial M, Sosa E, et al. In vivo detection of *Trypanosoma cruzi* antigens in hearts of patients with chronic Chagas' heart disease. *Am Heart J.* 1996;131:301–7.
- Jones EM, Colley DG, Tostes S, Lopes ER, Vnencak-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.
- Olivares-Villagómez 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 cardiac tissue. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;59:563–70.
- García S, Ramos CO, Senra JFV, Vilas-Boas F, Rodrigues MM, Campos-de-Carvalho AC, et al. Treatment with benznidazole during the chronic phase of experimental Chagas' disease decreases cardiac alterations. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:1521–8.
- Argüello RJ, Vigliano C, Cabeza-Meckert P, Viotti R, Garelli F, Favaloro LE, et al. Presence of antigen-experienced T cells with low grade of differentiation and proliferative potential in chronic Chagas disease myocarditis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8:e2989.

30. Beltz LA, Kierszenbaum F. Suppression of human lymphocyte responses by *Trypanosoma cruzi*. *Immunology*. 1987;60:309.
31. Beltz LA, Kierszenbaum F, Szein MB. Selective suppressive effects of *Trypanosoma cruzi* on activated human lymphocytes. *Infect Immun*. 1989;57:2301–5.
32. Louie MJ, Cuna WR, Rodriguez De Cuna C, Mayer L, Sperber K. Impairment of monocytic function during *Trypanosoma cruzi* infection. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1994;1:707–13.
33. Souza PEA, Rocha MOC, Menezes CAS, Coelho JS, Chaves ACL, Gollob KJ, et al. *Trypanosoma cruzi* infection induces differential modulation of costimulatory molecules and cytokines by monocytes and T cells from patients with indeterminate and cardiac Chagas' disease. *Infect Immun*. 2007;75:1886–94.
34. Szein MB, Cuna WR, Kierszenbaum F. *Trypanosoma cruzi* inhibits the expression of CD3, CD4, CD8, and IL-2R by mitogen-activated helper and cytotoxic human lymphocytes. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1990;144:3558–62.
35. Szein MB, Kierszenbaum F. Suppression by *Trypanosoma cruzi* of T-cell receptor expression by activated human lymphocytes. *Immunology*. 1992;77:277–83.
36. Giraldo NA, Bolaños NI, Cuellar A, Roa N, Cucunubá Z, Rosas F, et al. T lymphocytes from chagasic patients are activated but lack proliferative capacity and down-regulate CD28 and CD3 ζ . *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7:e2038.
37. Perez-Mazliah DE, Alvarez MG, Cooley G, Lococo BE, Bertocchi G, Petti M, et al. Sequential combined treatment with allopurinol and benznidazole in the chronic phase of *Trypanosoma cruzi* infection: a pilot study. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68:424–37.
38. Giraldo NA, Bolaños NI, Cuellar A, Guzman F, Uribe AM, Bedoya A, et al. Increased CD4⁺/CD8⁺ double-positive T cells in chronic chagasic patients. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5:e1294.
39. Laucella SA, Postan M, Martin D, Hubby Fralish B, Albareda MC, Alvarez MG, et al. Frequency of interferon- γ -producing T cells specific for *Trypanosoma cruzi* inversely correlates with disease severity in chronic human Chagas disease. *J Infect Dis*. 2004;189:909–18.
40. Lasso P, Mesa D, Cuéllar A, Guzmán F, Bolaños N, Rosas F, et al. Frequency of specific CD8⁺ T cells for a promiscuous epitope derived from *Trypanosoma cruzi* KMP-11 protein in chagasic patients. *Parasite Immunol*. 2010;32:494–502.
41. Abel LC, Rizzo LV, Ianni B, Albuquerque F, Bacal F, Carrara D, et al. Chronic Chagas' disease cardiomyopathy patients display an increased IFN- γ response to *Trypanosoma cruzi* infection. *J Autoimmun*. 2001;17:99–107.
42. Gomes JAS, Bahia-Oliveira LMG, Rocha MOC, Martins-Filho OA, Gazzinelli G, Correa-Oliveira R. Evidence that development of severe cardiomyopathy in human Chagas' disease is due to a Th1-specific immune response. *Infect Immun*. 2003;71:1185–93.
43. Lasso P, Mateus J, Pavia P, Rosas F, Roa N, Thomas MC, et al. Inhibitory receptor expression on CD8⁺ T cells is linked to functional responses against *Trypanosoma cruzi* antigens in chronic chagasic patients. *J Immunol Baltim Md*. 1950. 2015;195:3748–58.
44. Silverio JC, de-Oliveira-Pinto LM, da Silva AA, de Oliveira GM, Lannes-Vieira J. Perforin-expressing cytotoxic cells contribute to chronic cardiomyopathy in *Trypanosoma cruzi* infection. *Int J Exp Pathol*. 2010;91:72–86.
45. Rocha Rodrigues DB, dos Reis MA, Romano A, Pereira SA de L, Teixeira V de PA, Tostes S, et al. In situ expression of regulatory cytokines by heart inflammatory cells in Chagas' disease patients with heart failure. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012:361730.
46. Argüello RJ, Albareda MC, Alvarez MG, Bertocchi G, Armenti AH, Vigliano C, et al. Inhibitory receptors are expressed by *Trypanosoma cruzi*-specific effector T cells and in hearts of subjects with chronic Chagas disease. *PLoS One*. 2012;7:e35966.
47. Dieu-Nosjean M-C, Goc J, Giraldo NA, Sautès-Fridman C, Fridman WH. Tertiary lymphoid structures in cancer and beyond. *Trends Immunol*. 2014;35:571–80.
48. Reis DD, Jones EM, Tostes S, Lopes ER, Gazzinelli G, Colley DG, et al. Characterization of inflammatory infiltrates in chronic chagasic myocardial lesions: presence of tumor necrosis factor- α ⁺ cells and dominance of granzyme A⁺, CD8⁺ lymphocytes. *Am J Trop Med Hyg*. 1993;48:637–44.