

MAL DE CHAGAS-MAZZA: FISIOPATOGENIA Y NUEVAS PROPUESTAS DE TRATAMIENTOS*NEW INSIGHTS INTO PATHOPHYSIOLOGY AND TREATMENT IN CHAGAS-MAZZA DISEASE.*

H. Walter Rivarola, Patricia Paglini-Oliva

La enfermedad de Chagas, descubierta hace 103 años, sigue siendo en la actualidad una de las principales endemias que afecta al continente americano ⁽¹⁾. Entre 15 y 16 millones de personas están infectadas con *Trypanosoma cruzi* y más de 25 millones de personas corren el riesgo de contraer la enfermedad ⁽²⁾. Se estima que en 2008 la enfermedad de Chagas produjo la muerte de 10.000 personas ⁽¹⁾. Está considerada como la enfermedad parasitaria con mayor carga económica en América Latina debido a su prolongada cronicidad; además ha comenzado a ser un desafío para los médicos de Estados Unidos y de países europeos debido a la inmigración de personas que proceden de países de zona endémica ⁽³⁾. Teniendo en cuenta la situación socioeconómica y habitacional, algunos especialistas aseguran que esta parasitosis constituye en dicha región una amenaza mayor que el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). En América Latina, de acuerdo al número de infectados, la Enfermedad de Chagas se ubica en tercer lugar de importancia, detrás de la malaria y la esquistosomiasis. Esta enfermedad es también uno de los problemas sanitarios más relevantes de la Argentina. Aproximadamente unas 3.000.000 de personas están infectadas y entre un 15 % a un 30 % de ellos presentan lesiones cardíacas o de otros órganos, que son irreversibles. Es una patología relacionada con las realidades económicas, ecológicas, políticas y sociales de la región, que ha sido considerada con justicia como una enfermedad socioeconómica típica, inseparable de la pobreza y el subdesarrollo ⁽⁴⁾. A principios del siglo XX la enfermedad de Chagas afectó mayormente a zonas rurales, hoy, luego de las importantes migraciones hacia las ciudades, se ha urbanizado. En la ciudad de Buenos Aires, por ejemplo, hay más de un millón de infectados

que vive en las zonas marginales del conurbano.

Fases de la Enfermedad de Chagas-Mazza

En la mayoría de los casos, la infección puede iniciarse imperceptiblemente para el paciente, aunque a veces es posible detectar el sitio de entrada del parásito con lesiones en la piel provocadas por la picadura de la vinchuca. Los parásitos depositados en la herida de la piel o en las mucosas estimulan una reacción inflamatoria local con una respuesta linfocitaria. Los tripomastigotes dentro de los macrófagos son llevados al hígado, bazo, ganglios linfáticos y músculos esquelético y cardíaco, donde forman pseudoquistes de amastigotes. Con la ruptura de estos pseudoquistes en el miocardio y en los plexos mientéricos, comienza la miocarditis aguda mediada por células T CD4+ y T CD8+ e interleuquinas. Esta reacción inflamatoria lleva a la destrucción muscular y nerviosa, que se mantiene por la presencia del *T. cruzi* o sus fragmentos y del ADN del parásito ⁽⁵⁾. El curso de la infección estaría determinado por la cantidad de parásitos con que se infectó el paciente, el linaje de *T. cruzi* infectante (TcI o TcII), las posibles reinfecciones, el histotropismo de la cepa, y la respuesta inmune temprana y tardía del paciente ⁽⁶⁾. La infección con *T. cruzi* en el ser humano ha sido dividida en dos etapas sucesivas: aguda y crónica. La etapa crónica a su vez, puede presentarse en diferentes formas: indeterminada, cardíaca y/o digestiva, de acuerdo a los órganos comprometidos en cada caso ^(5,6). Los signos clínicos en la etapa aguda pueden incluir signo de Romaña (edema periorbital biparpedal), conjuntivitis, fiebre, linfadenopatía, hepatoesplenomegalia, náuseas, vómitos, diarrea, anorexia y sarpullidos ^(7;8). Las lesiones histopatológicas de esta etapa se caracterizan por la presencia de reacciones inflamatorias localizadas, con predominio de cé-

lulas mononucleares en el lugar de ruptura de los pseudoquistes, ocasionalmente con la formación de granulomas localizados principalmente en el tejido cardíaco y muscular. En algunos casos, puede haber una miocarditis aguda difusa, con edema intersticial, hipertrofia de las fibras miocárdicas y dilatación de las cavidades cardíacas. La destrucción de las neuronas cardíacas y de los plexos mientéricos, con reducción en el número de neuronas, comienza en esta etapa y continúa en la etapa crónica de la enfermedad ⁽⁹⁾. En el músculo esquelético y cardíaco los amastigotes forman grandes nichos o nidos (un pseudoquiste sin pared limitante). Las características degenerativas de las células musculares libres de parásitos están asociadas a los infiltrados inflamatorios. Estos infiltrados también invaden los ganglios parasimpáticos cardíacos, donde las células gliales o las células de Schwann pueden estar altamente parasitadas. La unión de células mononucleares inflamatorias a las neuronas lleva a la lisis y a la pérdida de estas células en la etapa aguda ⁽⁶⁾. Un pequeño porcentaje de individuos muere en la etapa aguda por complicaciones asociadas a miocarditis aguda o meningoencefalitis ^(7,8,10). Por lo general, en esta fase de la enfermedad no se observan bradiarritmias (disfunción sinusal, ni bloqueo aurículo-ventricular); si bien son más frecuentes en la fase crónica y evolucionada, la cardiopatía puede presentarse con disfunción sinusal o bloqueo aurículo-ventricular como síntoma principal o inicial ⁽¹¹⁾.

La mayoría de los pacientes con enfermedad aguda se recuperan completamente a los 3 a 4 meses ⁽⁷⁾ y pueden continuar sin presentar síntomas por el resto de sus vidas (etapa crónica indeterminada) ⁽¹⁰⁾. Sin embargo, aproximadamente entre un 25 % al 30 % de los pacientes infectados desarrollan síntomas cardíacos que pueden llevar a la muerte súbita, daños digestivos (6%) y compromiso del sistema nervioso periférico (3%) ⁽¹²⁾.

Durante años se han informado variaciones geográficas significativas, que inciden tanto en la severidad como en la prevalencia de las diversas formas clínicas de la enfermedad. La forma digestiva predomina en Chile y en el centro de Brasil, pero es relativamente rara en otras áreas endémicas de Brasil, es casi inexistente en Centro

América y escasa en la Argentina. Estas observaciones sugieren que podrían ser importantes los factores genéticos del huésped y del parásito para determinar la prevalencia de la patología chagásica ^(13,14)

Patogénesis de la Enfermedad de Chagas-Mazza

Hoy, después de más de 100 años de haber encontrado el primer caso humano descrito por Carlos Chagas en 1909, aun no se conoce con certeza la patogénesis de la enfermedad. La forma cardíaca es la manifestación más expresiva de la enfermedad de Chagas debido tanto a su frecuencia como a su severidad. Los mecanismos por los cuales las lesiones tisulares se desarrollan en el curso de la infección por *T. cruzi* han sido objeto de intensos debates. Numerosos trabajos han propuesto diversas hipótesis sobre el origen de las lesiones patológicas de la enfermedad ^(15,16,17).

Los posibles mecanismos propuestos que explicarían la fisiopatogenia de la cardiopatía chagásica son:

1. Respuesta inmune específica contra el *T. cruzi* o a antígenos persistentes en el corazón: Está bien documentado que en los humanos y ratones con cardiopatía chagásica, la histopatología cardíaca esta caracterizada por el desarrollo de un infiltrado celular difuso, compuesto principalmente por linfocitos, células mononucleares, eosinófilos y ocasionales leucocitos polimorfonucleares. El infiltrado de células mononucleares se presume que contiene principalmente linfocitos contra antígenos específicos del parásito. Este proceso puede contribuir a la génesis de la cardiopatía chagásica debido a la destrucción y el desplazamiento de las miofibrillas cardíacas o la interrupción de la vasculatura local ^(18, 19).

2. Miocitólisis mediada por el parásito: Se postula que la inflamación crónica sería un proceso de reparación que surge para aliviar el daño mecánico causado por el parásito. Debido a la lisis de la célula huésped que se produce después de la diferenciación de amastigotes en tripomastigotes sanguíneos, el parásito induce miocitólisis, y la posterior inflamación es un resultado predecible de la infección celular ⁽⁶⁾.

3. Daño neuronal primario: En la década de 1950

se publicaron varios estudios con detalles del grave daño neuronal cardíaco en los pacientes con Chagas, a partir de lo cual se postuló de que la denervación intramural constituiría el principal mecanismo de la fisiopatología chagásica. Aunque múltiples estudios clínicos y experimentales han motivado discrepancias con esta hipótesis (20).

4. Daños a la microvasculatura cardíaca: Se ha postulado que las alteraciones que conducen a la isquemia microvascular podría contribuir a la patogénesis de la enfermedad de Chagas. Los corazones de los pacientes con miocardiopatía chagásica presentan lesiones focales de los miocitos y necrosis acompañada de reparación con fibrosis intersticial que es muy similar a lo que se ve en modelos experimentales de isquemia y reperfusión, como resultado de complicaciones microvasculares transitorias de trastornos isquémicos (21).

5. Citotoxicidad mediada por anticuerpos y daños no específicos causados por eosinófilos y neutrófilos: El infiltrado de células inflamatorias es característico de la patología cardíaca que se desarrolla durante la enfermedad de Chagas aguda y crónica. El infiltrado leucocítico se compone principalmente de linfocitos, y en menor medida de macrófagos, eosinófilos, células plasmáticas, neutrófilos y mastocitos. A pesar de que la contribución exacta de cada uno de estos tipos de células sigue siendo especulativa, varias líneas de evidencia sugieren un importante papel de los eosinófilos y neutrófilos en la patogénesis de la miocardiopatía chagásica. (22, 23)

6. Secreción de toxina por el parásito: Es posible que algunas sustancias producidas por el *T. cruzi* tengan efectos tóxicos sobre las células del huésped. El TC-Tox es una hemolisina activa secretada por el *T. cruzi* que está inmunológicamente relacionada con la proteína del complemento humano C9. Se ha propuesto que esta proteína tiene funciones durante la invasión a las células, tal vez en la mediación de la lisis de la membrana del fagosoma en la que el parásito vive en los primeros tiempos después de la invasión (24).

7. Autoinmunidad inducida por el *T. cruzi*: La escasez de parásitos en la fase crónica de la enfermedad contrasta con las severas lesiones

observadas en cerca del 30% de los pacientes crónicos, lo cual sugiere un proceso autoinmune en el origen de la patología. La hipótesis autoinmune postula que la enfermedad podría ser el resultado de una reacción causada por autoanticuerpos o células T autorreactivas, producto del mimetismo molecular entre los antígenos del parásito y los del huésped (25, 26)

Como podemos ver, la mayoría de las hipótesis sugieren que la presencia y la persistencia del parásito son factores determinantes en el daño miocárdico de la etapa crónica. El desarrollo de métodos más sensibles para detectar la presencia del *T. cruzi*, como técnicas inmunohistoquímicas y métodos basados en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) han facilitado encontrar parásitos con mucha frecuencia.

Además la utilización de fármacos tripanocidas en la fase crónica de la enfermedad de Chagas que reducen la carga parasitaria, provocan una atenuación en los síntomas de la miocardiopatía (27,28). Por otra parte en pacientes con Chagas crónico e inmunosuprimidos por trasplante y con compromiso de la inmunidad celular como ocurre en el SIDA se produce una reactivación de la infección, encontrándose en algunos casos el parásito en el líquido cefalorraquídeo (29, 30).

La persistencia parasitaria se convierte así, en un descubrimiento clave para considerar seriamente la posibilidad de administrar tratamiento específico antichagásico en las fases crónicas de la enfermedad de Chagas. En este orden de ideas se debe considerar que el tratamiento antiparasitario (benznidazol) ha llevado en algunos estudios a una significativa reducción en la ocurrencia de cambios electrocardiográficos así como menor frecuencia en el deterioro de la condición clínica del paciente (31). Si se considera que en la fase crónica puede estar presente el parásito y que éste cumple un papel fundamental en el daño tisular que se produce, y aceptar que el tratamiento aun cuando no lleve a la cura, produce beneficios, entonces, se justificaría administrar tratamiento antichagásico a pacientes en fases crónicas, bien con las drogas clásicas nifurtimox y benznidazol, o con nuevas drogas o drogas con actividad anti-Trypanosoma cruzi (18,32).

Tratamientos

El tratamiento de la enfermedad de Chagas sigue siendo un importante problema para la salud pública. Actualmente, en Argentina, la única droga disponible es el benznidazol. Este medicamento fue sintetizado en los años 60, y si bien produce efecto parasiticida, existen evidencias que confirman que sólo es efectivo en la etapa aguda de la enfermedad, que posee efectos secundarios indeseables y que existen cepas resistentes a la droga^(33; 34, 35, 36). La problemática de esta enfermedad se profundiza aún más debido a que la búsqueda de nuevos fármacos para su tratamiento no es redituable para las industrias farmacéuticas; la raíz de este problema es el alto costo de las inversiones y la falta de un mercado potencial y seguro en los países en desarrollo.

De las 1393 nuevas drogas sintetizadas entre 1975 y 2000, menos de 1,1% fueron para enfermedades tropicales⁽¹⁾. Por estas razones la OMS establece que para el desarrollo de una quimioterapia antiparasitaria para la enfermedad de Chagas se debe tener en cuenta: ⁽¹⁾ los principios activos de plantas utilizadas en medicina popular, ⁽²⁾ fármacos ya aprobados para el tratamiento de otras enfermedades, ya que éstos han sido sometidos a ensayos clínicos y ⁽³⁾ la determinación de blancos específicos identificados en vías metabólicas claves del parásito.

Estudios recientes han permitido la identificación de blancos potenciales en *T. cruzi*, que incluyen el metabolismo de esteroides, ADN (particularmente del kinetoplasto) y diferentes enzimas propias del parásito⁽³⁷⁾, que contribuyen a la especificidad del tratamiento y a la disminución de los efectos adversos de las drogas, comunes en los fármacos de uso habitual.

Nuevas terapias específicas en la Enfermedad de Chagas

En los últimos 10 años, por el progreso en el conocimiento de la patogenia de la enfermedad, la quimioterapéutica ha avanzado enormemente en tener datos convincentes sobre la importante actividad anti *T. cruzi* tanto de nuevas drogas, como de drogas previamente conocidas en otras indicaciones que también se ha determinado que tienen importante actividad tripanocida.

Inhibidores de la biosíntesis de esteroides: Al es-

tudiar la bioquímica y el metabolismo del *T. cruzi* se ha conocido que este protozoario requiere de esteroides específicos para la viabilidad celular y proliferación en todas sus fases. En el grupo de drogas inhibidores de la biosíntesis de esteroides se encuentra el ketoconazol, itraconazol y otros antifúngicos. Los estudios de eficacia *in vitro* y sobretodo *in vivo* han demostrado resultados controversiales^(38, 39).

Inhibidores de las cisteín-proteasas: Otro hallazgo en el estudio de la bioquímica del *T. cruzi* es que este contiene un catépsin cisteín-proteasa tipo L llamada cruzipaina, responsable de la actividad proteolítica. Así, los inhibidores de estas proteasas bloquean la proliferación, tanto de epimastigotes extracelulares como amastigotes intracelulares. Se ha observado que los inhibidores de la cruzipaina pueden inducir cura parasitológica en modelos murinos de enfermedad aguda y crónica, con toxicidad mínima, en este grupo de drogas se encuentran las thio-alquil-semicarbazonas cíclicas.^(40, 41)

Inhibidores del metabolismo de pirofosfato: Los Trypanosomatidae tienen organelas especializadas: los acidocalcisomas, involucrados en el almacenamiento de polifosfato y cationes y en la adaptación del microorganismo al estrés ambiental. El ingreso y salida de calcio de la matriz acidocalcisomal es regulado por diversos mecanismos: Ca²⁺ ATPasa, intercambiador Na⁺ /H⁺, Bomba H⁺ ATPasa, Pirofosfatasas 37,38. Las pirofosfatasas son entonces, otro blanco terapéutico de gran potencialidad por existir drogas con actividad contra estas sustancias. Los bifosfonatos son drogas usadas en el tratamiento de los trastornos de reabsorción ósea (como la osteoporosis) y han demostrado una potente actividad anti *T. cruzi* "in vitro" e "in vivo"^(42; 43).

Inhibidores de purinas: El *T. cruzi* es deficiente en la biosíntesis de novo de purinas. Para poder obtener las purinas hacen uso de intermediarios metabólicos. La hipoxantina-guanil-fosforibosil transferasa (HGPRT) es una enzima clave en la síntesis de purinas. El Alopurinol inhibe la HGPRT y evita la síntesis de ácidos adenilico y guanilico y del DNA. Este compuesto reduce la parasitemia, negativiza el xenodiagnóstico y mejora la supervivencia en los modelos experimentales que puede ser inhibida por sustancias como el alopurinol. En humanos se han presentado re-

sultados contradictorios, probablemente debido a la diferentes sensibilidad de las distintas cepas de *T. cruzi* frente a alopurinol.^{(44; 45; 46).}

Inhibidores de Tripanotona reductasa

Uno de los más importantes resultados del estudio de la bioquímica comparativa entre *T. cruzi* y vertebrados es el descubrimiento de la tripanotona y la tripanotona reductasa, moléculas que cumplen en organismos del orden Kinetoplastida funciones equivalentes a las del glutatión y la glutatión reductasa en mamíferos, que participan en el mantenimiento del nivel de óxido-reducción celular⁽⁴⁷⁾. Ha sido demostrado que la inactivación o reducción de la expresión del gen de la tripanotona reductasa en *T. cruzi* reduce la habilidad de estos organismos para sobrevivir al estrés oxidativo, con la consecuente muerte del parásito. Similitudes con el glutatión, sugieren que tripanotona reductasa puede tener una función similar en el secuestro de radicales libres y especies reactivas del oxígeno formadas por los procesos metabólicos cuando los parásitos se encuentran sujetos al estrés oxidativo por la respuesta inmune del huésped⁽⁴⁸⁾.

La TR interviene en reacciones redox dependiente de NADPH y es responsable de la conversión de la forma oxidada T(S)2 [forma disulfuro] a la forma reducida T(SH)2 [forma dihidro sulfuro]:

Su acción con la tripanotona peroxidasa (TP), contribuye a un eficaz sistema desintoxicante de hidroperóxidos en tripanosomas⁽⁴⁹⁾.

Por lo tanto inhibidores del metabolismo de la tripanotona reductasa serían compuestos con gran potencial para el desarrollo de agentes anti-*T. cruzi* selectivos, usados solos o en combinación con otros compuestos capaces de inducir estrés oxidativo⁽⁵⁰⁾.

Fármacos tricíclicos

Hacia el final del siglo 19, el científico alemán Paul Ehrlich describe las propiedades de azul de metileno, un compuesto tricíclico que más tarde se convertiría en el núcleo de un grupo de compuestos derivados que en conjunto constituyen las fenotiazinas y que poseían acción contra bacterias y protozoos. El azul de metileno se utilizó para tratar infecciones de las vías urinarias y las infecciones parasitarias de las ovejas. Los efectos de azul de metileno sobre el sistema nervioso central, luego de numerosos estudios dan como

resultado en 1952, el desarrollo de clorpromazina, una fenotiazina derivada de azul de metileno, como medicamento neuroléptico (antipsicótico). Además se encontró que la clorpromazina tiene actividad contra *Mycobacterium tuberculosis*⁽⁵¹⁾. En la búsqueda de nuevas drogas para el tratamiento de la Enfermedad de Chagas que sean más eficaces y con menos efectos adversos, Hammond y Gutteridge en 1984 realizaron un "screening" entre 500 drogas, demostrando que, las fenotiazinas y compuestos relacionados como la clomipramina, clorpromazina, tioridazina, etc, eran tripanocidas, no sólo para el *T. cruzi* sino también para *Leishmania*⁽⁵²⁾. Estos son usados en tratamientos psiquiátricos y como antiheméticos o antihistamínicos. Entre las diferentes acciones biológicas que presentan, tienen una potente actividad antifúngica, antibacteriana y antiplásmidos. Estas drogas también mostraron una actividad antitumoral, antiinflamatoria, antihelmíntica, y contra la malaria^(53; 54). Además interactúan con las membranas o sus componentes, con proteínas celulares, con receptores dopaminérgicos, inhiben la actividad ATP-asa dependiente de Mg²⁺, aumentan la fluidez de la membrana^(55; 56) y presentan una marcada actividad anticalmodulina^(51;57).

Los psicofármacos tricíclicos, que comprenden a los neurolépticos fenotiazinas y a los antidepresivos clásicos como imipramina, amitriptilina y derivados como la clomipramina, inhiben la tripanotona reductasa, por lo que pueden incluirse como potenciales agentes quimioterápicos⁽⁵⁸⁾. En nuestro laboratorio hemos estudiado el efecto de algunas fenotiazinas como prometazina, tioridazina y antidepresivos tricíclicos, como la clomipramina sobre *Trypanosoma cruzi* in vitro e in vivo.

Prometazina: Tiene efecto tripanocida sobre epimastigotes y tripomastigotes de *T. cruzi* "in vitro". Además redujo significativamente la parasitemia y aumento la sobrevida de ratones infectados.⁽⁵⁹⁾

Tioridazina: Fenotiazina con un efecto tripanocida directo, provocando "in vitro" la disrupción de la mitocondria y del kinetoplasto en tripomastigotes de *T. cruzi*, cepa Tulahuen, y condensación de los orgánulos celulares cerca de la membrana plasmática en epimastigotes (60). El tratamiento con tioridazina de ratones infectados con *T. cruzi* provocó disminución de las alteraciones elec-

trocardiograficas e histopatológicas y aumento la sobrevida con respecto a los no tratados, es decir que previno la instalación de la cardiopatía chagásica ⁽⁶¹⁾.

Clomipramina: Es un antidepresivo tricíclico que demostramos que "in vitro" inhibe la motilidad y produce la muerte de tripomastigotes y epimastigotes de *T. cruzi*, de acuerdo a la dosis utilizada por inhibición de la calmodulina ⁽⁶²⁾. En estudios realizados con ratones infectados con *T. cruzi*, con distintas cepas, observamos que si éstos son tratados con clomipramina en la etapa aguda y crónica indeterminada de la Enfermedad de Chagas, esta droga modifica la evolución de la infección e impide que se instale la cardiopatía ^(27, 63; 64).

Combinaciones de drogas para el tratamiento de la enfermedad de Chagas

Teniendo en cuenta la alta toxicidad de los fármacos comúnmente utilizado para el tratamiento de la enfermedad de Chagas ⁽⁶⁵⁾, la posible existencia de cepas de parásitos resistentes, y la coexistencia de más de una cepa en el mismo paciente, es posible que la administración simultánea de dos o más fármacos con diferentes mecanismos de acción, con diferentes especificidades en contra de cepas de parásitos y con menos efectos secundarios podrían optimizar el tratamiento ^(28;38). Esto ha sido demostrado por varios investigadores en el tratamiento de la tuberculosis ^(66; 67) y también en la enfermedad de Chagas con la asociación de benznidazol y ketoconazol ⁽⁶⁸⁾, clomipramina y allopurinol ⁽⁴⁵⁾, entre otras. Así la sinergia entre drogas puede ser una valiosa forma de mejorar la eficacia del tratamiento en varias enfermedades ⁽⁵⁾.

Desarrollo de nuevos sistemas portadores de Fármacos

Como ya expresamos, el tratamiento durante la fase crónica de la enfermedad de Chagas es controversial debido, entre otras cosas, a la alta toxicidad de los fármacos, efectos adversos graves, frecuente aparición de resistencia y limitada eficacia, entre otros problemas. Es conocido que el desarrollo de nuevas alternativas farmacoterapéuticas, como nuevas moléculas bioactivas más seguras y confiables, no ha acompañado a

la problemática de esta enfermedad endémica. Sin embargo, se pueden encontrar trabajos, en avanzado desarrollo, donde se pretende optimizar las formulaciones antichagásicas mediante diferentes estrategias farmacotécnicas. En el contexto de la moderna farmacoterapia se identifican 2 grandes problemáticas vinculadas específicamente con las áreas farmacotécnicas y biofarmacéuticas:

1. Incidir en la velocidad y eficiencia del proceso de absorción de los principios activos (a) mediante la modulación de la liberación de éstos en el (los) sitio(s) en que se produce la absorción y (b) facilitando su permeación a través de las membranas involucradas.

2. Dirigir selectivamente el principio activo al blanco de la acción farmacodinámica.

En ese marco, se vienen realizando esfuerzos en investigación y desarrollo para responder a estas problemáticas mediante Sistemas Portadores de Fármacos, que permitan incidir en uno o más de los factores que gobiernan la secuencia de fenómenos originada por la administración de un medicamento. Se ha propuesto que los sistemas multiparticulados, administrados por vía per oral, se distribuyen más uniformemente a lo largo del tracto gastrointestinal que otras formas farmacéuticas más convencionales, lo que contribuye a favorecer la absorción de fármacos, reducir de las variaciones intra- e inter-individuales y aumentar la biodisponibilidad. Con esto se pretende prevenir las altas concentraciones de fármaco localizadas y reducir los riesgos de toxicidad asociados a la misma. ^(69, 70).

Nuestro laboratorio de Chagas de la Cátedra de Física Biomédica de la Facultad de Ciencias Médicas se encuentra trabajando en colaboración con el Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas-UNC en sistemas multiparticulados como portadores de fármacos tripanocidas para contribuir a mejorar el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

Bibliografía

1. WHO REPORT ON CHAGAS DISEASE. World Health Organization on behalf of the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. 2010.
2. COURA, J.R. Uma visão sistêmica da ende-

mia chagásica. La enfermedad de Chagas a la puerta de los 100 años del conocimiento de una epidemia americana ancestral. Publicación monográfica de la OPS 2006; 25-35.

3. DOBARO, D.; GÓMEZ-RUBIN, C.; SANCHEZ-RECALDE, A.; OLIAS, F.; BRET-ZURITA, M.; CUESTA-LOPEZ, E.; ROBLES-MARHUENDA, A.; FRAILE-VICENTE, J.M.; PAÑO-PARDO, J.R.; LOPEZ-SENDON, J. Chagas' heart disease in Europe: an emergent disease? *J. Cardiovsc. Med.* 2008; 12: 1263-1267.

4. WHO. Control of Tropical Disease, CTD. 1998.

5. COURA, J.R. Chagas disease: what is known and what is needed. A background article. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 2007; 102: 113-122.

6. TEIXEIRA, A.R.L.; NASCIMENTO, R.J.; STURM, N.R. Evolution and pathology in Chagas disease – A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101: 463-491.

7. TANOWITZ, H.B.; KIRCHHOFFLV, S.D.; MORRIS, S.A.; WEISS, L.M.; WITTNER, M. Chagas disease. *Clin Microb Rev* 1992; 5: 400-419.

8. MADOERY, R. Actualizaciones en la Enfermedad de Chagas. Editores: Madoery R, Madoery C, Cámara M.I. 1993.

9. ANDRADE, S.G. Biodemas, zimodemas e esquistodemas: sua relação com a patologia da doença de Chagas. En Coura JR. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro. 2005; 621-637.

10. COURA, J.R. Tripanossomose, doença de Chagas. *Ciênc Cult (São Paulo)* 2003; 55: 30-33.

11. BESTETTI, R.B.; CURY, P.M. Trypanosoma cruzi myocardial infection reactivation presenting as complete atrioventricular block in a Chagas' heart transplant recipient. *Cardiovasc Pathol.* 2004; 13: 323-326.

12. MANOEL-CAETANO, F. DA S.; SILVA, A.E. Implications of genetic variability of Trypanosoma cruzi for the pathogenesis of Chagas disease. *Cad Saude Publica.* 2007; 23: 2263-2274.

13. TARLETON, R. Chagas disease: a role for autoimmunity? *TRENDS in Parasitol* 2003; 19: 447-451.

14. MACEDO, A.M.; MACHADO, C.R.; OLIVEIRA, R.P.; PENA, S.D.J. Trypanosoma cruzi: Genetic structure of populations and relevance of genetic variability to the pathogenesis of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004; 99: 1-12.

15. LEVIN, M.J. In chronic Chagas heart disease, don't forget the parasite. *Parasitol Today* 1996; 12: 415-416.

16. KIERSZENBAUM, F. Chagas disease and the autoimmunity hypothesis. *Clin Microbio Rev* 1999; 12: 2210-2223.

17. BONNEY, K.M.; ENGMAN, D.M.. Chagas Heart Disease Pathogenesis: One Mechanism or Many? *Curr Mol Med.* 2008; 8: 510-518.

18. TARLETON, R.L. Parasite persistence in the aetiology of Chagas disease. *Int. J. Parasitol.* 2001; 31: 550-554.

19. TARLETON, R.L.; ZHANG, L. Chagas disease etiology: autoimmunity or parasite persistence? *Parasitol. Today.* 1999; 15: 94-99.

20. DAVILA, D.F.; ROSSELL, O.; DE BELLA-BARBA, G.A. *Int J Parasitol.* 2002; 32: 107-109.

21. MORRIS, S.A.; TANOWITZ, H.B.; WITTNER, M.; BILEZIKIAN, J.P. *Circulation.* 1990; 82: 1900-1909.

22. MELO, R.C.; D'AVILA, H.; FABRINO, D.L.; ALMEIDA, P.E.; BOZZA, P.T. *Tissue Cell.* 2003; 35: 59-67.

23. ELIAS, F.E.; VIGLIANO, C.A.; LAGUENS, R.P.; LEVIN, M.J.; BEREK, C. *Am J Trop Med Hyg.* 2003; 68: 242-247.

24. ANDREWS, N.W.; ABRAMS, C.K.; SLATIN, S.L.; GRIFFITHS, G. *Cell.* 1990; 61: 1277-1287.

25. GIORDANENGO, L.; MALDONADO, C.; RIVAROLA, H.W.; IOSA, D.; GIRONES, N.; FRESNO, M.; GEA, S. *Eur J Immunol.* 2000; 30: 3181-3189.

26. BORDA, E.S.; STERIN-BORDA, L. *Int J Cardiol.* 1996; 54: 149-156.

27. RIVAROLA, H.W.; FERNÁNDEZ, A.R.; ENDERS, J.E.; FRETES, R.; GEA, S.; PAGLINI-OLIVA, P. Effects of clomipramine on Trypanosoma cruzi infection in mice. *R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2001; 95: 1-5.

28. BUSTAMANTE, J.M.; RIVAROLA, H.W.; FERNÁNDEZ, A.R.; ENDERS, J.; FRETES, R.; DE LUCA D'ORO, G.; PALMA, J.A.; PAGLINI-OLIVA, P. Trypanosoma cruzi reinfections provoke synergistic effect and cardiac β -adrenergic receptors' dysfunction in the acute phase of experimental Chagas' disease. *Experimental Parasitology* 2003; 103: 136-142.

29. CORTI, M.; YAMPOLSKY, C. Prolonged survival and immune reconstitution after chagasic

- meningoencephalitis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006; 39: 85-8.
30. MENGHI, C. I.; GATTA, C. L.; ARCAVI, M. *Trypanosoma cruzi* en el líquido cefalorraquídeo de un paciente con SIDA. *Rev. argent. microbiol. [online]*. 2010; 42: 42-142.
31. BAHIA-OLIVEIRA, L.M.; GOMES, J.A.; CASCADO, J.R.; FERRARI, T.C.; LEMOS, E.M.; LUZ, Z.M. Immunological and clinical evaluation of chagasic patients subjected to chemotherapy during the acute phase of *Trypanosoma cruzi* Infection 14-30 years ago. *J. Infect. Dis.* 2000;182: 634-38.
32. BUSTAMANTE, J.M.; LO PRESTI, M.S.; RIVAROLA, H.W.; FERNÁNDEZ, J.E.; ENDERS, J.E.; FRETES, R.; PALMA, J.A.; PAGLINI-OLIVA, P.A. Treatment with benznidazole or thioridazine in the chronic phase of experimental Chagas disease improves cardiopathy. *Int. J Antimicrob. Ag.* 2007; 29:733-739.
33. DE CASTRO, S.L. The challenge of Chagas' disease chemotherapy: an update of drugs assayed against *Trypanosoma cruzi*. *Acta Trop.* 1993; 53: 83-98.
34. SEGURA, M.A.; MOLINA DE RASPI, E.; BASOMBRIO, M.A. Reversibility of muscle and Herat lesions in chronic; *Trypanosoma cruzi* infected mice after late trypanocidal treatment. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1994; 89: 213-216.
35. BERNACCHI, A.S.; DE CASTRO, C.R.; DE TORANZO, E.G.D.; CASTRO, J.A. Effects of nifurtimox or benznidazole administration on rat testes: ultrastructural observations and biochemical studies. *Exp. Mol. Pathol.* 1986; 45: 245-256.
36. CALDAS, I.S.; TALVANI, A.; CALDAS, S.; CARNEIRO, C.M.; DE LANA, M.; DE MATTA GUEDES, P.; BAHIA, M.T. Benznidazole therapy during acute phase of Chagas disease reduces parasite load but does not prevent chronic cardiac lesions. *Parasitol. Res.* 2008; 103:413-421.
37. LISBOA DE CASTRO, S.; SOEIRO, M.S. La investigación de nuevas drogas para el tratamiento de la enfermedad de Chagas. [www.fiocruz.br/chagas_esp/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?](http://www.fiocruz.br/chagas_esp/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?2007) 2007.
38. URBINA, J.A.; DOCAMPO, R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends Parasitol.* 2003; 19: 495-501.
39. APT, W.; ARRIBADA, A.; ZULANTAY, I.; SANCHEZ, G.; VARGAS, S.L.; RODRIGUEZ, J. Itraconazole or allopurinol in the treatment of chronic American trypanosomiasis: the regression and prevention of electrocardiographic abnormalities during 9 years of follow-up. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 2003; 97: 23-29.
40. CAZZULO, J.J.; STOKA, V.; TURK, V. The major cysteine proteinase of *Trypanosoma cruzi*: a valid target for chemotherapy of Chagas disease. *Curr. Pharm. Des.* 2001; 7: 1143-56.
41. DU, X.; GUO, C.; HANSELL, E.; DOYLE, O.; CAFFREY, C.R.; HOLLER, T.P. Synthesis and structure-activity relationship study of potent trypanocidal thiosemicarbazone inhibitors of the trypanosomal cysteine protease cruzain. *J. Med. Chem.* 2002; 45: 2695-2707.
42. RODAN, G.A.; MARTIN, T.J. Therapeutic approaches to bone diseases. *Science* 2000; 289: 1508-1514.
43. MONTALVETTI, A.; BAILEY, B.N.; MARTIN, M.B.; SEVERIN, G.W.; OLDFIELD, E.; DOCAMPO, R. Bisphosphonates are potent inhibitors of *Trypanosoma cruzi* farnesyl pyrophosphate synthase. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 33930-33937.
44. GOBBI, P.; LO PRESTI, M.S.; FERNÁNDEZ A.R.; ENDERS J.E.; FRETES R.; GEA S.; PAGLINI-OLIVA, P.A.; RIVAROLA, H.W. "Allopurinol is effective to modify the evolution of trypanosoma cruzi infection in mice". *Parasitology Research.* 2007; 101: 1459-1462.
45. GOBBI, P.; LO PRESTI M SILVINA, BAEZ ALEJANDRA, FERNÁNDEZ ALICIA R, ENDERS JULIO E, FRETES RICARDO, GEA SUSANA, PAGLINI-OLIVA PATRICIA A, RIVAROLA H WALTER. Association of clomipramine and allopurinol for the treatment of the experimental infection with *Trypanosoma cruzi*. *Parasitology Research.* 2010; 107:1279-83.
46. GALLERANO, R.R.; SOSA, R.R. Estudio de intervención en la evolución natural de la Enfermedad de Chagas. Evaluación del tratamiento antiparasitario específico. Estudio retrospectivo-prospectivo de terapéutica antiparasitaria. *Rev. Fac. Cienc. Méd.* 2000; 57:135-162.
47. RAVASCHINO, E.L.; DOCAMPO, R.; RODRÍGUEZ, J.B. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Phosphinopeptides against *Trypanosoma cruzi* Targeting Trypanothione Biosínte-

- sis. *J. Med. Chem.* 2006; 49: 426-435.
48. OLIN-SANDOVAL, V.; MORENO-SÁNCHEZ, R.; SAAVEDRA, E. Targeting Trypanothione Metabolism in trypanosomatid human parasites. *Curr Drug Targets.* 2010; 11:1614-1630.
49. KRAUTH-SIEGEL, R.L.; SCHÖNECK, R. Tripanotione reductase and lipoamide dehydrogenase as targets for a structured based drug desing. *FASEB J.* 1995; 9: 1138 – 1146.
50. TOVAR, J.; CUNNINGHAM, M.L.; SMITH, A.C.; CROFT, S.L.; FAIRLAMB, A.H. Down-regulation of *Leishmania donovani* trypanothione reductase by heterologous expression of a trans-dominant homologue: effect on parasite intracellular survival. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1998; 95: 5311-5316.
51. AMARAL, L.; VIVEIROS, M.; KRISTIENSEN, J.E. Phenothiazines: potential alternatives for management of antibiotic resistant infections of tuberculosis and malaria in developing countries. *Trop. Med. and Int. Health.* 2001; 6: 1016-1022.
52. HAMMOND, D.J.; COVER, B.; GUTTERIDGE, W.E. A novel series of chemical structures active in vitro against the trypomastigote form of *Trypanosoma cruzi*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1984; 78: 91-95.
53. MOTOHASHI, N.; SAKAGAMI, H.; KAMATA, K.; YAMAMOTO, Y. Cytotoxicity and differentiation-inducing activity of phenothiazines and benzo phenothiazines derivates. *Anticancer Res.* 1991; 11:1933-1937.
54. PETRI, I. B.; SZEKERES, E. V.; BEREK, I.; MOLNAR, J.; BEREK, L.; KAWASE, M.; MOTOHASHI, N. Immunomodulating activities on cellular cytotoxicity and the blast transformation of human lymphocytes by 10-(n-(Phthalimido)alkyl-2-substituted-10 HPhenothiazines and 1-(2-Chloroeeethyl)-3-(2-substituted-10 H-Phenothiazin-10-yl)alkyl-1-Ureas. *Anticancer Res.* 1996; 16: 1247-1250.
55. MOLNAR, J.; MANDI, Y.; PETRI, I.; SAKAGAMI, H.; KURIHARA, T. & MOTOHASHI, N. Immunomodulation activity of Phenothiazines, Benzo (a) phenothiazines and Benz (c) acridines. *Anticancer Res.* 1993; 13: 439-442.
56. MOLNAR, J.; SAKAGAMI, H.; MOTOHASHI, N. Diverse Biological activities displayed by Phenothiazines, Benzo (a) phenothiazines and Benz (c) acridins. *Anticancer Res.* 1993; 13: 1019-1026.
57. PAGLINI-OLIVA, P.; RIVAROLA, H.W. Central Nervous System Agents Used as *Trypanosoma cruzi* Infection Chemotherapy: Phenothiazines and Related Compounds. *Curr. Med. Chem. Anti-Infective Agents* 2003; 2: 323-333.
58. GUTIERREZ-CORREA, J.; FAIRLAMB, A. H.; STOPPANI, O. M. *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase is inactivated by peroxidase-generated phenothiazine cation radicals. *Free Rad. Res.* 2001; 34: 363-378.
59. FERNÁNDEZ, A.R.; FRETES, R.; RUBIALES, S.; LACUARA, J.L.; PAGLINI-OLIVA, P. Effects of prometazine on the viability of *T. cruzi*. *Medicina (Bs. Aires).* 1997; 57: 59-62.
60. PAGLINI-OLIVA, P.; FERNÁNDEZ, A.R.; FRETES, R.; PELSMAN, A. Structural, ultrastructural studies and evolution of *Trypanosoma cruzi* infected mice treated with thioridazine. *Exp. Mol. Pathol.* 1998; 65: 78-86.
61. LO PRESTI, M.S.; RIVAROLA, H.W.; BUSTAMANTE, J.M.; FERNÁNDEZ, A.R.; ENDERS, J.E.; FRETES, R.; GEA S.; PAGLINI-OLIVA, P.A. Thioridazine treatment prevents cardiopathy in *Trypanosoma cruzi* infected mice. *Int. J. Antimicrob. Ag.* 2004; 23: 634–636.
62. BARIOGLIO, S.R.; LACUARA, J.L.; PAGLINI OLIVA, P.J. Effects of clomipramine upon motility of *Trypanosoma cruzi*. *J. Parasitol.* 1987; 73: 451-452.
63. RIVAROLA, H.W.; BUSTAMANTE, J.M.; LO PRESTI, M.S.; FERNÁNDEZ, A.R.; ENDERS, J.E.; GEA, S.; FRETES, R.E.; PAGLINI-OLIVA, P.A. *Trypanosoma cruzi*: Chemotherapeutic effects of clomipramine in mice infected with an isolate obtained from an endemic area. *Exp. Parasitol.* 2005; 111: 80–86.
64. BAZÁN, P.C.; LO PRESTI, M.S.; RIVAROLA, H.W.; TRIQUELL, M.F.; FRETES, R.; FERNÁNDEZ, A.R.; ENDERS, J.; PAGLINI-OLIVA, P. Chemotherapy of chronic indeterminate Chagas Disease. A novel approach to treatment. *Parasitol. Res.* 2008; 103: 663-669.
65. CASTRO, J. Toxic Side Effects of Drugs Used to Treat Chagas' Disease (American Trypanosomiasis) Human & Exp. *Tox.* 2006; 25: 471-479.
66. BERENBAUM, M.C. A method for testing synergy with any number of agents. *J. Infect. Dis.* 1978; 137: 122-130.

67. RADLOFF, P.D.; PHILIPPS, J. Atovaquone and proguanil for *Plasmodium falciparum* malaria. *Lancet*. 1996; 347: 1511-1514.
68. ARAÚJO, M.S.S.; MATINS-FILHO, O.A.; PEREIRA, M.E.S.; BRENER, Z. A combination of benznidazole and ketoconazole enhances efficacy of chemotherapy of experimental Chagas' disease. *A journal of Ant. Chem.* 2000; 45: 819-824.
69. JIMENEZ-KAIRUZ, A.; RAMIREZ RIGO, V.; QUINTEROS, D.; VILCHES, A.P.; OLIVERA, M.E.; ALOVERO, F.; MANZO, R.H. Recientes contribuciones sobre la utilización de Polielectrolitos en sistemas portadores de fármacos. Parte I: Dispersiones Acuósas. *Rev. Farm.: Reviews. Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica.* 2008; 150: 11-25.
70. PALENA, M.C.; ARDUSSO, M.S.; MANZO, R.H.; JIMENEZ-KAIRUZ, A.F. Polyelectrolytes as Drug Carriers. Analysis by Dynamic Light Scattering of Reconstituted and *in-situ* Prepared Model Polymethacrylate-Drug Aqueous Dispersions. *The Open Nanoscience J.* 2010; 4: 1-7.