

2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA,

ENFERMEDAD DE CHAGAS: UNA REVISION MONOGRAFICA SOBRE SU TRATAMIENTO

TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA PRESENTA: ALMA LEONOR PERA BRISEÑO



MEXICO, D. F.



1999

EXAMENES PROFESIONALES FAC. DE QUIMICA

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

270886



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente	Prof. Gutiérrez Ramos Abel
Vocal	Prof. Ri6n Arriola Rafael
Secretario	Prof. Espinoza Guti6rrez Bertha
1er . Suplente	Prof. Naranjo Rodr6guez Elia Brosla
2do. Suplente	Prof. G6mez Mart6nez Atonatlu Edmundo

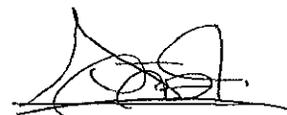
Sitio donde se desarroll6 el tema:
Departamento de Inmunolog6a, Instituto de Investigaciones Biom6dicas.
Universidad Nacional Aut6noma de M6xico, M6xico.

Asesor



Dra. Bertha Espinoza Guti6rrez

Sustentante



Alma Leonor Pe6a Brise6o



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE QUÍMICA

ENFERMEDAD DE CHAGAS: UNA REVISIÓN MONOGRÁFICA
SOBRE SU TRATAMIENTO

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
PRESENTA:
ALMA LEONOR PEÑA BRISEÑO

Este trabajo fue dirigido por la Dra. Bertha Espinoza Gutiérrez en el departamento de Inmunología del Instituto de Investigaciones Biomédicas y fue subsidiado parcialmente por los proyectos CONACyT 27951-M y DGAPA IN 224798.

DEDICATORIA

A mis padres porque gracias a su interés, apoyo y dedicación ha sido posible ver hecho realidad este logro.

A mis hermanos por su ejemplo de tenacidad y honestidad, y su constante ayuda.

A todos ellos por ser siempre una familia unida.

A mi mejor amigo, por contar contigo siempre, por tu confianza, por tu alegría por tus acertados consejos, por compartir mis sueños, por tu gran amor. José este pequeño logro también es tuyo.

AGRADECIMIENTOS

A la U.N.A.M que me dio la oportunidad de desarrollarme como profesionista e individuo.

A todos y cada uno de los profesores que intervinieron en mi formación.

A la Dra. Bertha Espinoza por haber dirigido esta tesis.

A los miembros del Jurado asignado para llevar a cabo la revisión de este trabajo.

A mis amigas Adriana, Berenice, Olivia y Yazmín por ser mis mejores amigas de la Facultad de Química, por estar juntas en este camino lleno de satisfacciones, por sus enseñanzas y amistad, y a todos los que me acompañaron a lo largo de la carrera.

A mis amigas Virginia, Lillana y Gaby porque a pesar del tiempo y de que hemos tomado caminos diferentes nuestra amistad se mantiene día a día.

A todos aquellos que de alguna forma contribuyeron a buen fin este proyecto.

CONTENIDO

	Página
<u>INTRODUCCIÓN</u>	5
Capítulo	
<u>I. OBJETIVOS</u>	7
<u>II. ANTECEDENTES</u>	8
2.1.- DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS	8
2.2.- ANTECEDENTES HISTÓRICOS	8
2.3.- AGENTE ETIOLÓGICO	9
2.3.1.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	9
2.3.2.- MORFOLOGÍA DE <i>Trypanosoma cruzi</i>	9
2.3.3.- CICLO BIOLÓGICO	10
2.3.4.- CEPAS DE <i>Trypanosoma cruzi</i>	11
2.4.- TRANSMISOR	11
2.5.- CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS	12
2.5.1.- PROCESO ASINTOMÁTICO	13
2.5.2.- PROCESO SINTOMÁTICO	13
2.5.2.a.- Fase aguda	13
2.5.2.b.- Fase indeterminada	13
2.5.2.c.- Fase crónica	14
2.6.- OTRAS FORMAS CLÍNICAS	15
2.6.1.- FORMAS DIGESTIVAS	15
2.6.2.- OTROS ÓRGANOS	15
2.6.3.- FORMAS NERVIOSAS	15
2.6.4.- INFECCIÓN CONGÉNITA	16
2.6.5.- EXACERBACIÓN AGUDA DE LA ENFERMEDAD	16
2.7.- DIAGNÓSTICO	17

2.8.- CRITERIO DE CURACIÓN DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS DESPUÉS DEL TRATAMIENTO	18
2.9.- EPIDEMIOLOGÍA	19
III. <u>MEDICAMENTOS ACTUALMENTE EN USO CLÍNICO</u>	24
3.1.- BENZNIDAZOL	25
3.1.1.- FARMACOLOGÍA	25
3.1.1.a.- Descripción	25
3.1.1.b.- Toxicidad	25
3.1.1.c.- Mecanismo de acción	26
3.1.2.- EFICACIA CLÍNICA	26
3.1.2.a.- Fase crónica	27
3.1.2.b.- Infección congénita	28
3.1.2.c.- Transplantes de órganos	28
3.1.2.d.- Reactivación de la enfermedad en pacientes infectados con el Virus de Inmunodeficiencia Humana	29
3.1.3.- EFECTOS SECUNDARIOS	30
3.1.4.- INDICACIONES TERAPÉUTICAS	31
3.1.5.- CONTRAINDICACIONES	32
3.1.6.- DOSIS Y VÍA DE ADMINISTRACIÓN	32
	32
3.2.- NIFURTIMOX	33
3.2.1.- FARMACOLOGÍA	33
3.2.1.a.- Descripción	33
3.2.1.b.- Toxicidad	33
3.2.1.c.- Mecanismo de acción	33
3.2.2.- EFICACIA CLÍNICA	34
3.2.2.a.- Fase crónica	34
3.2.2.b.- Infección congénita	34
3.2.3.- EFECTOS SECUNDARIOS	34
3.2.4.- INDICACIONES TERAPÉUTICAS	34
3.2.5.- CONTRAINDICACIONES	35

3.2.6.- DOSIS Y VÍA DE ADMINISTRACIÓN	35
3.3.- ESTUDIOS CLÍNICOS COMPARATIVOS DEL BENZNIDAZOL Y NIFURTIMOX	35
3.4.- RESISTENCIA PARASITARIA DE LAS CEPAS DE <i>Trypanosoma cruzi</i>	35
<u>IV. POSIBILIDAD DE NUEVOS MEDICAMENTOS</u>	38
4.1.- CLASIFICACIÓN POR ESTRUCTURA QUÍMICA	38
4.1.1.- ALCALOIDES	38
4.1.2.- AMIDINAS	39
4.1.3.- 8-AMINO-QUINOLINAS	40
4.1.4.- 9-ANILINO-ACRIDINAS 1 'SUSTITUIDAS	44
4.1.5.- AZOLES	45
4.1.5.a.- Ketoconazol	45
4.1.5.b.- Itraconazol	48
4.1.5.c.- Fluconazol	49
4.1.5.d.- D0870	50
4.1.5.e.- ICI 195,739 en combinación con otros medicamentos	51
4.1.5.f.- SCH 56592	51
4.1.6.- COMPLEJOS ORGANOMETÁLICOS	53
4.1.7.- 1,4-DIHIDRO-PIRIDINAS	54
4.1.8.- GANGLIÓSIDOS	57
4.1.9.- HORMONAS	58
4.1.10.- NITROBENZOFURANOS	59
4.1.11.- NUCLEÓSIDOS	60
4.1.12.- PIRIMIDINAS	61
4.1.13.- POLIAMINAS	62
4.1.14.- N,N-DIMETIL-2-PROPEN-1-AMINAS	63
4.1.15.- PURINAS	64
4.1.15.a.- Alopurinol	64
4.1.15.b.- Varios	67
4.2.- CLASIFICACIÓN POR MECANISMO DE ACCIÓN	67

4.2.1.- AGENTES QUELANTES	67
4.2.2.- INHIBIDORES DE LA BIOSÍNTESIS DE FOSFOLÍPIDOS	71
4.2.3.- INHIBIDORES DE $\Delta^{24(25)}$ ESTEROL METIL TRANSFERASAS	72
4.2.4.- INHIBIDORES DE PROTEASAS DE CISTEÍNA	74
4.2.5.- INHIBIDORES DE TOPOISOMERASA I	75
4.3.- CLASIFICACIÓN POR USO TERAPÉUTICO	76
4.3.1.- ANTICANCERÍGENOS	76
4.3.2.- ANTIMICÓTICOS	78
4.3.2.a.- Anfotericina B	78
<u>V. DISEÑO DE INHIBIDORES DE ENZIMAS</u>	79
5.1.- CRUZIPAINA	79
5.2.- TRIPANOTIÓN REDUCTASA	80
5.3.- HIPOXANTINA FOSFORIBOSIL TRANSFERASA	80
<u>VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS</u>	82
<u>VII. CONCLUSIONES</u>	88
<u>VIII. BIBLIOGRAFÍA</u>	90

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis americana fue descubierta por el médico brasileño Carlos Chagas en 1909. El agente etiológico es el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, el cual produce la enfermedad al ser transmitido al hombre por un insecto hematófago, o por transfusión sanguínea proveniente de personas infectadas; ésta última es una fuente común de transmisión en áreas no endémicas.

Es una de las enfermedades más importantes en América Latina debido a sus altos índices de mortalidad y morbilidad, constituyendo la principal causa de enfermedad cardíaca. Además, se han descrito varios casos de exacerbación por reactivación de la enfermedad, en pacientes inmunosuprimidos por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y después del trasplante de órganos.

Los dos únicos medicamentos actualmente disponibles para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, el nifurtimox y el benznidazol se recomiendan en la fase aguda, pero en la fase crónica tienen una limitada indicación terapéutica por la controversia que existe con respecto a la patogenia de la enfermedad y la importancia real de la eliminación del parásito en esta fase de la infección. Además ambos medicamentos causan serios efectos secundarios y producen resistencia parasitaria.

Aunque ya se han probado un gran número de compuestos contra las infecciones producidas por *T. cruzi* aun falta por desarrollarse una quimioterapia eficaz y segura. De acuerdo a una revisión reciente del tratamiento de la enfermedad de Chagas presentada por de Castro (de Castro, et al., 1993a), el alopurinol es la única posible alternativa al benznidazol y nifurtimox para el tratamiento de los casos crónicos, sin embargo, se requieren evaluaciones clínicas adicionales de este medicamento, antes de poder recomendar su uso.

Por esta razón una de las prioridades contra la infección de esta enfermedad es el desarrollo de nuevos medicamentos. Sin embargo, por la relativa falta de interés de la Industria Farmacéutica –altos costos y poco beneficio económico- las Universidades e Institutos Gubernamentales, son las que estimulan tanto programas de investigación para la identificación y/o evaluación clínica de medicamentos que exhiban actividad contra *T. cruzi* desarrollados para el tratamiento de otras enfermedades, como para el estudio de las propiedades bioquímicas y estructurales de una enzima blanco potencial del parásito y el subsecuente diseño de un compuesto que inhibiría la actividad de tal enzima.

En base a estos antecedentes se consideró de interés, realizar una revisión bibliográfica de la quimioterapia actual en la fase crónica, en los casos agudos de reactivación por inmunosupresión, y de la quimioterapia experimental contra las infecciones por *T. cruzi*.

Este trabajo está organizado en cinco capítulos. En el primer capítulo se presentan los objetivos particulares del trabajo de investigación. En el segundo capítulo se da un panorama general de la enfermedad y su epidemiología. En el tercer capítulo se describen los medicamentos actuales en uso clínico, sus propiedades farmacológicas, eficacia clínica, efectos secundarios, indicaciones terapéuticas, contraindicaciones, dosis y vía de administración. En el cuarto capítulo se presenta la eficacia y seguridad de los medicamentos que han llegado a la fase clínica, su mecanismo de acción conocido o propuesto y las ventajas que puedan tener sobre los medicamentos disponibles en la actualidad. También en este capítulo se describen los resultados de compuestos nuevos que en estudios "in vitro" e "in vivo" han mostrado actividad contra *T. cruzi*. Sólo se mencionarán los más promisorios. Finalmente, en el quinto capítulo, se hace referencia a la estrategia general para el diseño de medicamentos en base al conocimiento de su estructura tridimensional y a las enzimas del parásito, cruzipaina, hipoxantina fosforibosil transferasa y tripanotión reductasa como blancos para el diseño de nuevos medicamentos que maten al parásito sin afectar al paciente.

Esta revisión cubre medicamentos o compuestos químicos probados desde el año de 1993 y hasta la fecha. Se excluye la inmunoterapia y el uso de productos naturales.

I. OBJETIVOS

- Desarrollar una fuente de información de las perspectivas actuales del tratamiento de la enfermedad de Chagas, resultado de una extensa revisión bibliográfica, la cual se encuentra dispersa y es de difícil acceso en nuestro país.
- Ofrecer una herramienta a los Investigadores dedicados al desarrollo de medicamentos para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.
- Dar información para valorar el beneficio de la quimioterapia actual en la fase crónica y en casos agudos de reactivación de la enfermedad en pacientes con inmunosupresión.
- Destacar la importancia de las estrategias de uso actual para la búsqueda y desarrollo de nuevos medicamentos.
- Determinar si existen alternativas o sustitutos de los medicamentos actualmente en uso clínico que pudieran utilizarse en un futuro próximo.
- Describir la eficacia experimental de nuevos compuestos con actividad contra *T. cruzi* que podrían ser candidatos para estudios posteriores en animales y/o en seres humanos.
- Discutir los aspectos más importantes en la problemática de la evaluación de la eficacia del tratamiento para la enfermedad de Chagas.

II. ANTECEDENTES

2.1.- DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD

La enfermedad de Chagas (Chagas-Mazza; enfermedad de Chagas-Mazza-Romana; tripanosomiasis americana; tripanosomiasis) es una protozoosis causada por *Trypanosoma cruzi*, un protozooario hemoflagelado. La enfermedad presenta tres fases clínicas: aguda, de latencia o indeterminada y crónica. Los órganos principalmente afectados son el miocardio, esófago y colon. La enfermedad cardíaca producida por esta infección es una de las principales causas de invalidez y muerte en América Latina. La enfermedad se transmite generalmente en las materias fecales de artrópodos hematófagos, los triatóminos. Otros mecanismos de transmisión lo constituyen la transfusión sanguínea, la vía transplacentaria, la ingestión de leche materna, el trasplante de órganos, accidentes de laboratorio, el desarrollo de animales silvestres y la ingestión de carne semicruda de animales parasitados o bebidas contaminadas con materia fecal de triatóminos (Tay, et al., 1995).

2.2.- ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La enfermedad de Chagas fue descubierta en 1909 por el investigador brasileño Carlos Chagas, en Lassance, Minas Gerais, donde fue comisionado para dirigir un programa de profilaxis del paludismo (Chagas, 1909). El descubrimiento se inició con la descripción de su transmisor, un artrópodo hematófago el cual infestaba las viviendas de aquella población y se alimentaba de sangre picando al humano mientras dormía. Al examinar el intestino de este artrópodo encontró flagelados semejando crithidias. Algunos artrópodos fueron enviados a Río de Janeiro, donde se demostró que el parásito podía infectar a pequeños primates. El protozooario fue primero nombrado *Schizotrypanum cruzi*, pero posteriormente se denominó *Trypanosoma cruzi*. Carlos Chagas demostró la presencia del parásito en la sangre de un gato que habitaba una vivienda infestada de artrópodos y finalmente aisló el parásito de la sangre de una niña (de nombre Berenice) con síntomas que actualmente son reconocidos como signos clásicos de la infección aguda de la enfermedad. Carlos Chagas no sólo identificó el agente etiológico, también describió los vectores, las manifestaciones clínicas en humanos y animales, complicaciones, causas de muerte y finalmente la existencia de reservorios animales (Wendel y Gonzaga, 1993; Marshall, 1995).

2.3.- AGENTE ETIOLÓGICO

2.3.1.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA (tomado de OMS, 1986)

Reino: *Protista*

Subreino: *Protozoa*

Phylum: *Sarcomastigophora*

Subphylum: *Mastigophora*

Clase: *Zoomastigophora*

Orden: *Kinetoplastida*

Suborden: *Trypanosomatida*

Familia: *Trypanosomatidae*

Género: *Trypanosoma*

Subgénero: *Schizotrypanum*

Especie: *Trypanosoma (S.) cruzi*

T. cruzi se caracteriza por la presencia de un flagelo y una mitocondria simple en la cual está localizado el cinetoplasto, un organelo especializado que contiene una red fibrosa de DNA.

2.3.2.- MORFOLOGÍA DE *Trypanosoma cruzi*

T. cruzi pasa por diferentes estadios en su ciclo biológico, los cuales se identifican por la forma de la célula, la posición relativa del cinetoplasto con respecto al núcleo y la región de donde emerge el flagelo. De acuerdo a lo anterior se distinguen tres diferentes estadios (Wendel y Gonzaga, 1993; Tay, et al., 1995):

Amastigote. De forma circular, mide 2-7 μm de diámetro, sin flagelo libre (con el microscopio electrónico se observa un flagelo discreto corto), con un gran núcleo y cinetoplasto. Este estadio se encuentra en el interior de las células del huésped mamífero donde se divide por fisión binaria. Se localiza en los tejidos (miocardio, esófago, colon, neuralgia y sistema retículo endotelial) del huésped vertebrado.

Epimastigote. Es de aspecto fusiforme, mide 15-20 μm , el cinetoplasto está localizado en la parte anterior al núcleo, posee un flagelo que forma una pequeña membrana ondulante. Los epimastigotes se observan en el aparato digestivo del vector y en medios de cultivos específicos.

Tripomastigote. Generalmente está en forma de C, U o S, mide 12-20 μm de diámetro. El cinetoplasto está localizado en la parte posterior al núcleo. Del cinetoplasto surge una membrana ondulante que recorre el parásito a todo lo largo de su cuerpo que se convierte en flagelo. En los vertebrados, se localiza extracelularmente en la circulación sanguínea, fluido linfático y cerebroespinal, en la fase aguda principalmente. En los invertebrados, se encuentran extracelularmente en el intestino posterior de los triatóminos donde se reconocen como tripomastigotes metacíclicos.

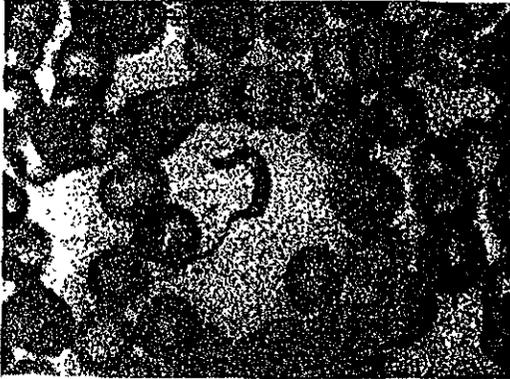


Figura 1. Tripomastigote sanguíneo de *Trypanosoma cruzi*.

Microfotografía de un frotis sanguíneo teñido con colorante de Giemsa y observado al microscopio (1000X). Tomado de Tay, et al., 1995.

2.3.3.- CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico del parásito se inicia cuando el triatómino se alimenta de sangre de un mamífero que contiene tripomastigotes circulantes, los cuales pasan al intestino del triatómino, se transforman en epimastigotes, se multiplican por fisión binaria y en pocos días hay presencia de tripomastigotes metacíclicos (forma infectante para un nuevo huésped mamífero). Un triatómino infectado en subsecuentes alimentaciones puede depositar junto con su excremento a los tripomastigotes metacíclicos infectantes, los cuales atraviesan la piel indemne, se meten por el agujero dejado por la probóscide del triatómino en el momento de la picadura, al arrastrar con las patas la materia fecal hacia dicho agujero, así como también si la persona se rasca, se contamina los dedos con la materia fecal del triatómino y luego al frotarse los ojos, se produce la infección. Una vez en el mamífero y habiendo penetrado los tripomastigotes metacíclicos por debajo de la piel o mucosas, se

introducen en las células del tejido cercano al sitio de penetración, en donde se transforman en amastigotes. El inicio de la reproducción es por fisión binaria durante cuatro a cinco días, llenan la célula, la cual revienta, salen a la circulación, se transforman rápidamente en tripomastigotes sanguíneos y se diseminan por todo el organismo. Penetran nuevamente a células, se vuelven a transformar en amastigotes, se multiplican profusamente, rompen las células y repiten este mecanismo muchas veces. El ciclo biológico se completa cuando un triatómino libre de infección, se alimenta de sangre con tripomastigotes sanguíneos y se infecta (Tay, et al., 1995).

2.3.4.- CEPAS DE *Trypanosoma cruzi*

Tabla 1. Cepas de <i>Trypanosoma cruzi</i>
Cepa
Brasileña
Colombiana
Clon Dm28c
Clon Brener
EP
LQ
MHO/BR/00/Y
Peruana
21-SF
Tulahuén
Y

Nota: Cepas de *Trypanosoma cruzi* citadas en los trabajos de investigación de esta revisión bibliográfica.

2.4.- TRANSMISOR

T. cruzi se desarrolla en una amplia variedad de artrópodos pero los vectores de importancia epidemiológica y epizoológica de *T. cruzi* son los triatóminos. Estos son insectos que pertenecen al orden *Hemiptera*, familia *Reduviidae*, subfamilia *Triatominae*, repartidos en 6 géneros y 114 especies. Las especies de esta subfamilia son hematófagas a lo largo de su vida, alimentándose con la sangre de vertebrados y en ocasiones de la

hemolinfa de algunos artrópodos. Durante el día reposan en sus criaderos naturales o en las hendiduras de viviendas de construcción rudimentaria y por la noche se alimentan de las personas dormidas. Se reconocen tres ciclos de transmisión de *T. cruzi* que involucran la intervención del vector (Velasco-Castrejón, et al., 1994):

1. Ciclo silvestre o enzootico: triatóminos silvestres que sólo ocasionalmente pican al hombre.
2. Ciclo peridoméstico: triatóminos que habitan en las cercanías de la vivienda humana y que han iniciado la colonización de ésta.
3. Ciclo doméstico: triatóminos que tienen como principal fuente de alimento al hombre, aunque no desdeñan animales domésticos o silvestres que viven en la habitación o penetran a ella.

Los principales vectores son *Triatoma infestans* en Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay, Perú y Uruguay; *Rhodnius prolixus* en Venezuela, Colombia, Guayanas, parte de Centro América y México; *T. sordida* en Bolivia, Brasil y Paraguay; *Panstrongylus megistus* en Brasil; *T. dimidiata* en Ecuador y Centro América; *Rhodnius pallescens* en Panamá (Schmuñis, 1991). En la República Mexicana, las especies de mayor importancia son: *R. prolixus*, *T. barberi*, *T. dimidiata*, *T. phyllosoma*, *T. longipennis* y *T. picturata*. (Velasco-Castrejón, et al., 1994).

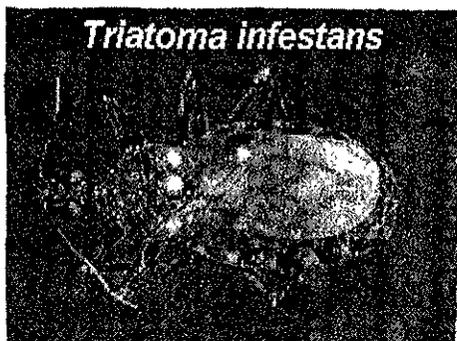


Figura 2. *Triatoma infestans*

Tomado de <http://www.bioscl.ohio-state.edu/~parasite/chagas.html>

2.5.- CLÍNICA DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

En la evolución de la enfermedad de Chagas se distinguen dos procesos diferentes:

2.5.1.- PROCESO ASINTOMÁTICO

La infección por *T. cruzi*, que no produce signos ni síntomas patológicos y sólo se manifiesta por la presencia transitoria de tripanosomas o de inmunoglobulinas específicas en la sangre.

2.5.2.- PROCESO SINTOMÁTICO

La enfermedad de Chagas en la cual se pueden presentar las siguientes tres fases:

2.5.2.a.- Fase aguda

Los síntomas se presentan después de un periodo de incubación que oscila de 4 a 12 días. Tiene una mortalidad del 2-8% (de Castro, 1993a). Se caracteriza por parasitemia elevada. En algunas ocasiones cuando la transmisión se ha efectuado por triatóminos, aparece en el lugar de la inoculación una reacción local denominada "chagoma" resultado de la multiplicación del parásito y de la respuesta inflamatoria que suele acompañarse de linfadenopatía regional o generalizada. Cuando se localiza en el ojo (signo de Romaña) se observa edema bpalpebral unilateral, adenopatía preauricular y conjuntivitis. Otras manifestaciones pueden incluir fiebre, linfadenopatía, hepatoesplenomegalia y edema. La temperatura se eleva rápidamente oscilando alrededor de 38 °C, se acompaña de astenia, anorexia, cefalea y mialgias e irritabilidad. El edema subcutáneo puede estar limitado a la cara, extremidades inferiores o ser generalizado. En las formas más graves, pueden presentarse manifestaciones cardiacas de intensidad variable (alteraciones del electrocardiograma, arritmias, miocarditis e insuficiencia cardiaca) o signos de meningoencefalitis principalmente en muy jóvenes (Kirchhoff, 1996). Menos del 3-5% fallecen por implicación cardíaca severa (Rossi y Bestetti, 1995). Sin embargo, en pacientes inmunosuprimidos, la fase aguda puede ser fatal (Kirchhoff, 1996). Esta fase se resuelve en cuatro a ocho semanas y los pacientes pasan a la fase indeterminada.

2.5.2.b.- Fase indeterminada

Es de larga duración entre 10-30 años. Se caracteriza por la ausencia de evidencia clínica, incluyendo electrocardiograma normal, serología positiva y bajos índices de parasitemia. Puede considerarse como la fase inicial de la forma crónica.

2.5.3.c.- Fase crónica

La enfermedad de Chagas en esta fase se desarrolla en 10-20% de los individuos infectados (Milei, et al., 1992). La cardiopatía chagásica crónica es la manifestación más grave y frecuente de la enfermedad de Chagas. La alta incidencia se desarrolla principalmente entre los 15 y 50 años de edad (Rossi y Bestetti, 1995). Tres diferentes periodos se observan en la fase crónica:

En la fase inicial el paciente tiene pocos síntomas, la mayoría de ellos relacionados con una alteración del ritmo cardíaco. En la fase intermedia los signos clínicos usualmente se correlacionan con crecimiento del área cardíaca. En la fase final, las manifestaciones clínicas más significativas son la cardiomiopatía crónica de Chagas, insuficiencia cardíaca congestiva, eventos tromboembólicos, arritmias severas y muerte súbita (Rossi y Bestetti, 1995). Las alteraciones en la función cardíaca como la conducción anormal severa, episodios de arritmias ventriculares o síncope predisponen a los pacientes chagásicos a una inesperada muerte súbita. La autopsia en pacientes quienes murieron por cardiopatía crónica de Chagas muestran marcada alteración en la forma y tamaño del miocardio. El crecimiento del área cardíaca de la cámara derecha es la que se afecta principalmente y la dilatación es más pronunciada que la hipertrofia. Los trombos se presentan frecuentemente en la aurícula derecha y el apex del ventrículo izquierdo. La migración de trombos que se forman en una zona enferma del endocardio (trombos murales) al cerebro u otras áreas puede ocurrir. El aneurisma apical del ventrículo izquierdo es una lesión típica en pacientes con la enfermedad de Chagas. El proceso que conlleva el desarrollo de estas lesiones patológicas es una miocarditis difusa, progresiva y fibrosa, que afecta al sistema de conducción y al músculo cardíaco. Este proceso resulta en una amplia variedad de anomalías de conducción incluyendo bradiarritmias y fibrilación, contracciones ventriculares prematuras, bloqueo de rama del Haz de His, principalmente la de la rama derecha y bloqueo de corazón de tercer grado.

La fisiopatología de la fase crónica no ha sido comprendida en su totalidad, pero puede implicar la progresión de daño neuronal en la fase aguda o autoinmunidad causada por la infección parasitaria (Van Voorhis, 1990).

2.6.- OTRAS FORMAS CLÍNICAS

2.6.1.- FORMAS DIGESTIVAS

La disfunción gastrointestinal es la segunda manifestación más común de la enfermedad de Chagas crónica. Los síntomas de la enfermedad gastrointestinal aparecen años o aun décadas después de iniciada la infección. Una pérdida de las neuronas en el Intestino es el problema que conlleva la disfunción gastrointestinal. La inervación parasimpática y simpática están implicadas. Aparentemente todas las vísceras pueden ser afectadas por el proceso de desnervación. La prevalencia de los llamados megas (desarrollo anormalmente grande de órganos) en pacientes con enfermedad crónica cardíaca en Brasil es del 2.6-17.3% (Kirchhoff, 1996).

La enfermedad esofágica es la causa más común de los síntomas gastrointestinales. Los síntomas más comunes son el megaesófago, disfagia, dolor esofágico, y regurgitación. Otros problemas secundarios que pueden presentarse son acidez, hipo, accesos de tos, bronquitis y neumonía.

Después del esófago, el colon es el órgano que se afecta con más frecuencia y los síntomas que presenta son varios, pero el más importante es la constipación (estreñimiento). También puede ocurrir meteorismo, disquesia y dolor abdominal.

2.6.2.- OTROS ÓRGANOS

Otros órganos afectados por la enfermedad pueden ser el estómago, duodeno, hígado, vesícula biliar y vías biliares. Además se produce hipertrofia de las glándulas salivales.

2.6.3.- FORMAS NERVIOSAS

La neuritis constituye la principal alteración dentro de esta categoría. Se presenta como una polineuritis motor-sensitiva, cuyas características clínicas son la ausencia de reflejos tendinosos profundos. Estudios electromiográficos muestran la destrucción de neuronas motoras y de las fibras nerviosas sensoriales periféricas. Han sido descritas lesiones en el cerebelo, hipotálamo, cordón espinal y corteza cerebral, y algunos síndromes neurológicos han sido atribuidos a esta enfermedad (Prata, 1994).

2.6.4.- INFECCIÓN CONGÉNITA

La infección congénita ocurre de 2 al 4% de los recién nacidos de madres con infecciones crónicas o agudas de la enfermedad. Una minoría de estos niños desarrollan signos sugestivos de meningoencefalitis y tienen infiltración linfocitaria periférica perivascular más o menos frecuente y amastigotes visibles en las secciones histológicas del cerebro (Lowichick y Siegel, 1995).

Los neonatos infectados con *T. cruzi* son usualmente prematuros y pueden ser apropiados o no de tamaño para la edad gestacional. Los niños sintomáticos desarrollan en los primeros días de vida ictericia y hepatoesplenomegalia. Puede presentarse edema, petequias y alteraciones en la frecuencia cardíaca. Los niños con daño en el sistema nervioso central son hipotónicos y débiles para mamar y además, pueden desarrollar actividad convulsiva. Aunque algunos médicos asocian la condición cardíaca con la enfermedad de Chagas, la meningoencefalitis en neonatos ocurre frecuentemente sin signos concomitantes de miocarditis. La historia natural de la enfermedad es variable y casi la mitad de los neonatos infectados mueren alrededor de 4 meses, pero algunos pueden estar asintomáticos durante varios meses. Sin embargo, en un reporte reciente, de seis neonatos infectados, dos tuvieron meningoencefalitis temprana y ninguno sobrevivió más allá del periodo de recién nacido (Lowichick y Siegel, 1995).

2.6.5.- EXACERBACIÓN AGUDA DE LA ENFERMEDAD

Experimentalmente se ha demostrado que varias sustancias inmunosupresoras, tales como cortisona y ciclosporina, exacerbaban la infección de *T. cruzi*. Este hecho ha sido confirmado frecuentemente en pacientes infectados con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) (Prata, 1994). La meningoencefalitis multifocal o difusa severa y la miocarditis aguda son hallazgos patológicos de la asociación de la infección de *T. cruzi* y Síndrome de Inmunodeficiencia Humana (SIDA) (Rocha, et al., 1994).

Los pacientes chagásicos sometidos a trasplantes de corazón son otro grupo que integra esta categoría. Ellos presentan una clara reactivación de la infección, con fiebre, miocarditis y lesiones cutáneas similares a las que ocurren en la fase aguda de la enfermedad, sin embargo, difieren en que no muestran aumento de tamaño en los ganglios linfáticos, esplenomegalia, parasitemia, y por IgM negativa (Prata, 1994). La implicación del Sistema Nervioso Central por *T. cruzi* puede sospecharse por la detección de

anticuerpos contra el parásito en el fluido cerebro espinal, pero el diagnóstico se asegura con la detección de *T. cruzi* en el fluido cerebroespinal (Jardim y Takayanagui, 1994).

2.7.- DIAGNÓSTICO

En el diagnóstico de la enfermedad de Chagas es importante conocer los antecedentes epidemiológicos como son, el lugar de origen del paciente, el contacto con los triatóminos u otras posibilidades de infección, tal como transfusión sanguínea y el cuadro clínico del paciente. La siguiente fase es la confirmación del diagnóstico a través de la detección de antígenos y/o anticuerpos de *T. cruzi* en el suero y a través de electrocardiograma, radiología, pruebas de laboratorio y eventualmente alteraciones patológicas (Prata, 1994).

En la fase aguda se identifica a *T. cruzi* en un examen directo de sangre periférica (al fresco, teñida, con o sin métodos de concentración previos) en el buffy coat (fracción de leucocitos y plaquetas que se colecta entre la fracción de los eritrocitos y del plasma en sangre total centrifugada), en los aspirados de los chagomas o de nódulos linfáticos y en el líquido cefalorraquídeo. La detección de IgM anti-tripanosoma en el suero y la presencia de un cuadro clínico sugestivo permiten diagnosticar esta fase (Coura, 1996; Kirchhoff, 1993a, b).

En la fase indeterminada y crónica, la visualización de *T. cruzi* en sangre es difícil y la biopsia es infrecuente. La identificación del parásito se realiza por medio de hemocultivo, inoculación en animales de laboratorio y xenodiagnóstico. El diagnóstico de la fase crónica usualmente se basa en la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi*. Los métodos serológicos más utilizados son: hemaglutinación indirecta, reacción de fijación de complemento, inmunofluorescencia indirecta, aglutinación directa y ELISA (López-Antuñano, 1997; Prata, 1994; Kirchhoff, 1993a, b). Utilizando estas pruebas se han encontrado falsos positivos asociados con otras infecciones parasitarias o enfermedades autoinmunes (Kirchhoff, 1994). Los falsos negativos se suelen ver en pacientes con infección crónica de larga duración y cierta depresión de la inmunidad humoral (Kirchhoff, 1993b). Se recomienda hacer por lo menos dos o tres pruebas para confirmar el diagnóstico (cualquier combinación de ELISA, hemaglutinación o inmunofluorescencia indirecta). El electrocardiograma, la examinación radiológica y los síntomas clínicos son útiles para identificar cardiopatía.

El diagnóstico de Infección en tracto digestivo, en megacolon y megaesófago se determina en un examen radiológico con bario. El diagnóstico de polineuropatía se sugiere ante la ausencia de reflejos tendinosos profundos o alteraciones electromiográficas (Prata, 1994).

El historial de inmunosupresión es importante en la exacerbación aguda. La encefalitis puede diagnosticarse por tomografía computada (Prata, 1994).

Los criterios para el diagnóstico de la fase aguda congénita son los mismos utilizados para el diagnóstico de la fase aguda adquirida después del nacimiento. La verificación de la infección de la madre por *T. cruzi* es sugerente de infección congénita. Con frecuencia la infección se diagnostica en su fase crónica. La persistencia de reacciones serológicas positivas seis meses después del nacimiento indican transmisión congénita del parásito (Coura, 1996). El cuadro clínico puede manifestarse por abortos, mortinatos, partos prematuros, neonatos gravemente enfermos con compromiso sistémico, o bien, con niños asintomáticos temporal o permanentemente (López-Antuñano, 1997).

Recientemente se han realizado proyectos de investigación para el desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico para detectar *T. cruzi* en la fase crónica y aguda de la infección. Se han descrito estudios de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y radioinmunoprecipitación que parecen ser altamente sensibles y específicas (Kirchhoff, 1993a, 1996). También se han desarrollado ensayos para detectar anticuerpos anti-*T. cruzi* en los cuales proteínas de *T. cruzi* recombinante o péptidos sintéticos se utilizan como antígenos blanco, sin embargo, se requieren evaluaciones posteriores de estas técnicas (Kirchhoff, 1996). Recientemente, la prueba de Ensayo de Inhibición de Trans-Salidasa (TIA), detectó anticuerpos específicos aun en pacientes tratados y considerados curados con los métodos parasitológicos y serológicos convencionales, así, un resultado positivo de TIA es un marcador que predice que la persona fue previamente infectada con *T. cruzi* y por tanto podría tener una importante aplicación en bancos de sangre, ya que por su alta sensibilidad podría prevenir la transfusión sanguínea proveniente de un individuo con una infección previa o actual (Leguizamón, et al., 1997).

2.8.- CRITERIO DE CURACIÓN DE LA ENFERMEDAD DESPUÉS DEL TRATAMIENTO

El criterio de curación, es controversial y aun está bajo evaluación científica. Existen tres criterios de curación: parasitológico, serológico y clínico.

En la fase aguda o crónica reciente debe hacerse seguimiento mediante hemocultivo y/o xenodiagnóstico y pruebas serológicas. La negatividad de la parasitemia y la serología has sido consideradas como criterio de cura (Coura, 1996). Para confirmar los resultados negativos se requiere aplicar por lo menos dos técnicas serológicas, y éstas pueden ser hemaglutinación directa o indirecta, inmunofluorescencia indirecta, reacción de fijación de complemento y ELISA. Durante la fase aguda, el xenodiagnóstico es la prueba más sensible (López-Antuñano, 1997).

En la fase crónica, excluyendo la infección reciente, no existe un criterio de cura específico para todos los autores como consecuencia de las dificultades en probar la eficacia del tratamiento durante esta fase. Entre ellas se destaca el significado de la persistencia de reacciones serológicas positivas por métodos convencionales cuando los métodos parasitológicos evidencian negatividad (Coura, 1996). Algunos autores destacan la importancia de la desaparición de los anticuerpos líticos, en la forma de lisis mediada por el complemento, como criterio de cura (Galvao, et al., 1993). Además se requiere de negatividad del criterio parasitológico, el cual es difícil de confirmar, porque las pruebas para determinar la presencia del parásito en esta fase, el xenodiagnóstico y hemocultivo han mostrado baja sensibilidad y confiabilidad (Fragata Filho, et al., 1995).

El criterio de cura clínico demuestra el daño de diferentes órganos por medio de exámenes físicos o de laboratorio, tales como electrocardiograma o una radiografía de tórax. Algunos autores consideran aconsejable el seguimiento clínico sobre un periodo de tiempo prolongado (Vlotti, et al., 1994), sin embargo, otros autores, lo consideran como el peor criterio de curación con respecto al criterio parasitológico y serológico, ya que en la fase aguda las manifestaciones clínicas desaparecen en dos a tres meses con o sin tratamiento y en la fase crónica el daño a los órganos es irreversible (Fragata Filho, et al., 1995).

2.9.- EPIDEMIOLOGÍA

La enfermedad de Chagas originalmente fue una enzootia silvestre, pero cuando el hombre invadió el ecosistema natural de los triatóminos, algunas especies se adaptaron al ser humano.

La morbilidad de la infección humana está asociada a las condiciones socioeconómicas de la población, la región geográfica y la naturaleza doméstica del vector (Schmuñis, 1991). Es un padecimiento que afecta particularmente a individuos que habitan

en viviendas precarias (hechas de paredes de adobe, con techo de paja y caña y con piso de tierra) en zonas rurales y suburbanas dispersas de América Latina.

La enfermedad de Chagas se sitúa en el tercer sitio de prevalencia de las enfermedades parasitarias a nivel global, después de la malaria y la esquistosomiasis (UNDP/World Bank WHO, 1997). Se distribuye aproximadamente desde la latitud 42° Norte (norte de California a Maryland en Estados Unidos de América) a la latitud 42° Sur (parte sudeste de Argentina y Chile), las altas montañas y la cuenca del Amazonas está exenta de esta enfermedad (Schmuñis, 1991; Reyes, 1993).

Este padecimiento constituye uno de los principales problemas de salud pública en América Latina. La Organización Mundial de la Salud ha estimado que en América Latina 16-18 millones de personas están infectadas por *T. cruzi*, 90 millones de personas están en riesgo de infección y es la causa de 50 000 muertes anuales (Kirchhoff, 1994; Rocha, et al., 1994). Se ha estimado que 5-6 millones de personas infectadas han desarrollado complicaciones crónicas. El 27% desarrolla lesiones cardíacas, el 6% daños digestivos y el 3% lesiones neurológicas periféricas (UNDP/World Bank WHO, 1997).

Se estiman aproximadamente 2.6, 5.0, 1.2 millones de individuos infectados en Argentina, Brasil y Venezuela, respectivamente. Datos de Bolivia, Chile, Paraguay y Uruguay indican 500,000, 1,460,000, 397,000 y 37,000 individuos respectivamente. Estos datos implican que el 7.95% de la población de Argentina, 4.3% de Brasil, 6.2% de Venezuela, 7.2% de Bolivia, 11.0% de Chile, 9.8% de Paraguay y el 1.2% de Uruguay están infectados con *T. cruzi*. Estimados del Salvador indican que el 20% de la población rural están infectados. Estudios de la población de Guatemala y Honduras indican que 730,000 y 300,000 personas respectivamente están infectadas. Estos números representan el 8.4% y el 6.2% de la población total (Schmuñis, 1991). En México se calcularon 3,000,000 de individuos infectados (Velasco-Castrejón, 1992). Excepto en Cuba y República Dominicana se han reportado individuos infectados en todos los países de Centro y Sudamérica, incluyendo Guayana Francesa, Guyana, Surinam (Schmuñis, 1991).

En México, la Encuesta Nacional de Seroepidemiología (ENSE) indicó que la enfermedad de Chagas se distribuye en todo el país, generalmente en focos de tamaño variable, pero particularmente en los estados de Chiapas, Oaxaca, Hidalgo y Veracruz, y en especial en los dos primeros. Sin embargo, Jalisco que posee el mayor número de casos agudos y en donde se han presentado brotes epidemiológicos, no figuró entre las entidades con mayor prevalencia. Se identificaron dos nuevos focos endémicos, uno en

el sur de Chiapas y otro en Hidalgo. También se ratificaron otros como el de las Huastecas Hidalguense, Potosina, Veracruzana y Tamaulipeca, y el de la Selva Lacandona y la del Marqués de Comillas en el estado de Chiapas (Velasco-Castrejón, et al., 1992).

En un estudio reciente realizado en la Ciudad de México, en el Instituto Nacional de Cardiología, de 37 pacientes con cardiomiopatía idiopática, el 40% presentó anticuerpos contra *T. cruzi* (Reyes, 1993).

La enfermedad de Chagas, clásicamente era una enfermedad rural de América Latina, pero actualmente está cambiando su perfil epidemiológico asociado con la transfusión sanguínea y el aumento de los niveles de urbanización y migración (Schmuñis, 1991). La transfusión sanguínea de individuos infectados asintomáticos se considera el segundo mecanismo de transmisión (Milei, et al., 1992). Existe la posibilidad de transmisión en áreas de países desarrollados de Norte América, Europa, Japón y Australia (Wendel y Gonzaga, 1993). Resultados con respecto a la inmigración latinoamericana, estiman que 50, 000 a 100,000 inmigrantes infectados con *T. cruzi* viven en Estados Unidos de América (Kirchhoff, 1996).

Con respecto a estudios de diagnóstico y aspectos clínicos de la infección chagásica en mujeres embarazadas e infección congénita en sus respectivos hijos, se observó que la prevalencia de 6123 embarazadas atendidas en servicios asistenciales públicos de la ciudad de Santa Fe (una área de baja endemicidad en Argentina) fue de 14.62% con una incidencia de infección transplacentaria del 2.64% (Streiger, et al., 1995). En Buenos Aires, en un estudio con 71 niños, se detectó el 97.4% de infección congénita en niños menores de 6 años. El 64.8% del total de los niños no tuvieron síntomas clínicos. En los que sí presentaron, el signo más común fue hepatomegalia con 18.3% (Freilij y Altcheh, 1995). En el periodo de Enero 1990-1991 en el hospital de Clínicas José San Martín, Universidad de Buenos Aires, buscando o investigando la posibilidad de enfermedad de Chagas de 729 mujeres embarazadas (aproximadamente el 90% nació en zona endémica de Argentina y la mayoría desconocía ser portadora de la enfermedad) e infección congénita en sus respectivos niños, se detectó el 8.5% de incidencia de esta patología en embarazadas y 5.3% de recién nacidos tuvieron infección congénita (Arcavi, et al., 1993).

T. cruzi debe incluirse en la lista de los patógenos oportunistas causando infección en pacientes inmunocomprometidos con SIDA. La aparición de casos de reactivación de Chagas entre pacientes con coinfección con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)

y *T. cruzi* está aumentando (algunas veces como infecciones oportunistas). Gluckstein, reconoció el primer caso, aunque su publicación fue precedida por casos reportados por Del Castillo (1990) y Ferreira (1991) (citado en Sartori, et al., 1995). En Noviembre de 1996, 13 casos fueron publicados en la literatura, aunque al menos otros 37 han sido reportados únicamente en congresos médicos (citado en Rocha, et al., 1994; citado Ferreira, et al., 1997).

Los casos fatales entre pacientes con SIDA fueron extremadamente altos aun cuando el diagnóstico se realizó y se aplicó la terapia apropiada (Ferreira, et al., 1997; Nishioka, et al., 1993). También se han reportado tres casos de reactivación de enfermedad de Chagas en pacientes con SIDA, con implicación del Sistema Nervioso y/o cardíaco (Ferreira, et al., 1997), el Sistema Nervioso Central fue el sitio más comúnmente implicado (75%), seguido del corazón (44%). En otro estudio de pacientes infectados con VIH y Chagas, la reactivación de la enfermedad se manifestó con daño cardíaco en el 16.7% de los pacientes (Sartori, et al., 1998).

Existen variaciones geográficas en la prevalencia y severidad de las diferentes formas clínicas. En Brasil los megas son tan comunes como el daño cardíaco, y en muchos pacientes ambos daños están presentes. En cambio, en Colombia, Venezuela, Centro América y México ni el megacolon ni el megaesófago son frecuentes (Kirchhoff, 1996).

En la morbilidad de la enfermedad carece de importancia la edad, raza y sexo, pero se ha encontrado una asociación con las condiciones socioeconómicas (da Silva, et al., 1995) y la coinfección con VIH en niños (Freilij y Altcheh, 1995).

La mortalidad depende de varios factores: estadio clínico, la edad, más grave en niños (de Castro, 1993a), el estado general e inmunitario del paciente y la virulencia de la cepa (Velasco-Castrejón, et al., 1991).

En países endémicos las políticas para disminuir la transmisión de la enfermedad en los humanos están dirigidas al control del vector y la identificación de donadores infectados por *T. cruzi* en bancos de sangre.

Los índices de seroprevalencia entre niños han disminuido del 28% al 1% en Sudamérica (citado en de Andrade, et al., 1996). En 1991, los países del Cono Sur de América Latina (Argentina, Brasil, Bolivia, Chile, Paraguay y Uruguay) lanzaron una iniciativa conjunta para disminuir la población del vector a través de la mejora de las viviendas, fumigación con insecticidas y educación (Kirchhoff, 1994). Los datos epidemiológicos y entomológicos actuales, indican que la transmisión de la enfermedad de

Chagas a través del vector y transfusiones sanguíneas se interrumpirá en 1997 en Uruguay y Chile, y en 1998 en Argentina y Brasil. La interrupción de la transmisión en el 2003 se espera en Bolivia y Paraguay (UNDP/ World Bank WHO, 1997; Kirchhoff, 1994). Grandes progresos La interrupción de la transmisión se previó para 1998 (UNDP/ World Bank WHO, 1997). También los países de los Andes (Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela) y Centro América (Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Nicaragua, Panamá y Honduras) y México lanzaron una iniciativa para el control de la transmisión a través del control de calidad en bancos de sangre en 1993 (UNDP/ World Bank WHO, 1997).

III. MEDICAMENTOS ACTUALMENTE EN USO CLÍNICO

Desde el descubrimiento de la enfermedad de Chagas en 1909 y hasta 1937 no se había probado ningún compuesto en humanos contra esta enfermedad. Fue entonces cuando Mazza (Coura, 1996) empleó por primera vez en humanos un derivado de quinolina (Bayer 7602) para el tratamiento de la fase aguda. Desde entonces un gran número de compuestos han sido utilizados con éxito relativo debido a baja eficacia y/o alta toxicidad, como ejemplo se pueden citar: derivados de quinoleína, arsenobenzoles sulfurados y otros arsenicales, compuestos de la fenantridina, derivados antimaláricos y otros arsenicales antimoniales, sales de oro, bismuto, cobre y estaño, violeta de genciana, aminopterina, ácido paraminosalicílico, hidrazida del ácido nicotínico, anti-histamínicos, sulfamídicos hipoglucemiantes, ACTH y cortisona, derivados de la estílocina y de la actiminocina, anfotericina B (Coura, 1996). En 1957 se encontraron nuevas perspectivas con los estudios de Packchanian, el cual reportó el efecto "in vivo" de compuestos 5-nitrofuránicos contra las formas circulantes de *T. cruzi* (Coura, 1996). En 1961, Brener demostró que el tratamiento en esquemas prolongados con un nitrofurano (nitrofurazona) tenía un efecto curativo en las infecciones experimentales de *T. cruzi* (Coura, 1996). Investigaciones posteriores "in vivo" en ratones indicaban que ciertos compuestos como la nitrofurazona, nifurtimox y benznidazol eran también activos contra las formas intracelulares del parásito (citado en Viotti, et al., 1994). La primera planeación para la evaluación terapéutica de estos compuestos fue propuesta en 1962 en Brasil. Los experimentos con nifurtimox se iniciaron en 1965 y los del benznidazol en 1973 (Coura, 1996; citado en Viotti, et al., 1994). Solamente estos dos medicamentos han sido aceptados, registrados y comercializados por autoridades nacionales de salud en países de América Latina (López-Antuñano, 1997). El nifurtimox y el benznidazol se han utilizado desde finales de 1976 y 1978 respectivamente. En la actualidad el nifurtimox está discontinuado en el mercado brasileño y sólo hay disponibilidad del benznidazol, en Chile, en cambio sólo se usa el nifurtimox, y en Argentina y Uruguay se utilizan ambos (López-Antuñano, 1997; Coura, 1996).

3.1.- BENZNIDAZOL

3.1.1.- FARMACOLOGÍA

3.1.1.a.- Descripción

El benznidazol, un derivado 2-nitroimidazol (N-bencil-2-nitroimidazol-1-acetamida); Radanil; Ro-1051. (figura 1). Síntesis: Patente británica 1,138,529 (1966 Hoffman-La Roche), C.A. 71,3383d (1969) (Budavari, et al., 1996).

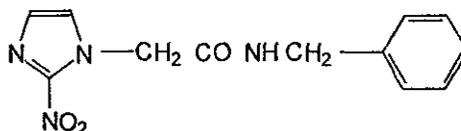


Figura 3. Estructura química del benznidazol

3.1.1.b.- Toxicidad

El benznidazol se ha asociado con mutagenicidad en *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* (Teixeira, et al., 1994). Hay resultados contradictorios con respecto a la genotoxicidad del benznidazol en diferentes tipos de células mamífero probadas. En un estudio "in vivo" no se observó aumento significativo en la frecuencia de aberraciones cromosómicas en células de médula ósea, ni en los micronúcleos de células de sangre periférica de ratones expuestos en forma aguda o crónica al benznidazol (Souza, et al., 1991). En cambio, en células de humano, "in vitro" no fue clastogénico (puede inducir ruptura de los cromosomas) en linfocitos, pero incrementó la frecuencia de micronúcleos en células hepáticas, así como el intercambio de cromátides hermanas de linfocitos periféricos y células hepáticas humanas (Santos, et al., 1994) e "in vivo" indujo aumento de daño cromosomal en linfocitos periféricos en niños chagásicos (Gorla, et al., 1988).

En relación a la actividad carcinogénica, el benznidazol (8 µg/g) se ha asociado con neoplasias en el ratón (Teixeira, et al., 1994), junto con una alta prevalencia de neoplasias malignas en el 25-38% de los pacientes sometidos a trasplante de corazón como tratamiento de la enfermedad chagásica (Bocchi, et al., 1994). Sin embargo, la ausencia de linfomas o tumores malignos en un gran número de pacientes tratados con este medicamento y observados durante un periodo de tiempo prolongado (citado en Bestetti,

1997a, b) hacen inconsistente la evidencia experimental del efecto carcinogénico del benznidazol.

3.1.1.c.- Mecanismo de acción

El mecanismo de acción del benznidazol sobre *T. cruzi* podría involucrar la interferencia directa en la síntesis de macromoléculas vía enlace covalente u otros tipos de interacción entre intermediarios de la nitroreducción y varios componentes celulares, tales como DNA, lípidos y proteínas (de Castro, 1993a).

3.1.2.- EFICACIA CLÍNICA

La controversia en el uso de medicamentos para la enfermedad de Chagas, principalmente en la fase crónica, está fundamentada en las dudas sobre la patogenia, la importancia de la eliminación del parásito y la falta de un criterio específico para probar la acción antiparasitaria del tratamiento. Además, la comprobación de la parasitemia en la fase crónica es difícil de demostrar debido a que el parásito rara vez se pueden detectar en la sangre periférica o en los tejidos, por lo tanto es difícil una correlación entre la severidad de las lesiones y el nivel de parasitosis (Fragata Filho, et al., 1995). Varios autores han propuesto que los componentes de mecanismos autoinmunes juegan un papel importante en el avance de la patología de la enfermedad. Sin embargo, en estudios recientes se confirmó la presencia de DNA del parásito entre las lesiones de los pacientes, que aun en un bajo número desencadena reacciones inflamatorias que son amplificadas y mantenidas por mecanismos autoinmunes (Dutra, et al., 1996). En ratones infectados crónicamente con tripomastigotes y tratados con benznidazol (200 mg/kg/día) o nifurtimox (100 mg/kg/día) durante 30 días, se observó una importante regresión de las alteraciones histológicas del músculo esquelético, corazón y vejiga. Los resultados de este estudio además de indicar que las lesiones en los tejidos dependen de la presencia continua del parásito, también demostraron la importancia del avance de la fase de la enfermedad (Segura, et al., 1994).

También, ha sido cuestionada la utilidad del tratamiento en la fase indeterminada o crónica para producir cura parasitológica, ya que después del tratamiento la serología realizada por medio de métodos serológicos convencionales persiste positiva aun cuando la parasitemia es negativa. Un estudio de 10 años de seguimiento reportó que el tratamiento con benznidazol (8-10 mg/kg) o nifurtimox (5-7 mg/kg) durante 30-60 días en pacientes

con enfermedad aguda y crónica producen sucesivas pruebas negativas de lisis mediada por complemento, lo cual indica curación de la infección por *T. cruzi* aun cuando la serología convencional persista positiva (Galvao, et al., 1993).

Recientemente, la presencia del parásito asume más importancia por la reactivación de la enfermedad de Chagas en pacientes inmunosuprimidos como los infectados con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y los que se sometieron a transplantes de órganos, en donde se incrementa la necesidad de eliminar el parásito (Fragata Filho, et al., 1995).

3.1.2.a.- Fase crónica

Se han realizado recientemente estudios clínicos para evaluar la eficacia y seguridad del benznidazol o nifurtimox en la fase crónica de la enfermedad con diversos grupos de pacientes, sin un criterio de curación específico y utilizando diferentes tiempos de seguimiento y esquemas terapéuticos.

En un estudio clínico realizado en Buenos Aires, Argentina; los pacientes chagásicos tratados con benznidazol (5 mg/kg/día durante 30 días) durante la fase crónica de la enfermedad con un seguimiento promedio de ocho años, presentaron menos cambios electrocardiográficos (4.2 vs 30%) y una menor frecuencia de deterioración de su condición clínica (2.1 vs 17%), así como también, se volvieron serológicamente negativos (19.1 vs 6%) o mostraron una disminución más frecuente en los títulos de anticuerpos por métodos convencionales, que los pacientes no tratados (Viotti, et al., 1994).

En Sao Paulo, Brasil; con el uso de benznidazol (5 mg/kg durante 60 días), los estudios electrocardiográficos y clínicos mostraron que con un seguimiento de 2 a 12 años, el 84% de los pacientes permanecieron en la misma fase clínica que presentaban al inicio del tratamiento. La parasitemia no se eliminó completamente, se obtuvo un 61% de cura parasitológica al final del tratamiento, evaluado mediante xenodiagnóstico. El efecto secundario de mayor frecuencia en ambos esquemas terapéuticos fue dermatitis alérgica (13.7-38%). Al aumentarse el tiempo de administración a 60 días se presentó polineuropatía periférica (13.6%). Otros efectos secundarios de menor importancia fueron: dolor de cabeza, prurito, edema de miembros inferiores, náusea, vómito e insomnio (Viotti, et al., 1994; Fragata Filho, et al., 1995). Con el objetivo de evaluar el efecto del tratamiento con benznidazol o nifurtimox sobre la parasitemia en la fase crónica de la enfermedad, se realizó un estudio clínico abierto en un hospital de Sao Paulo, Brasil.

Los efectos secundarios del benznidazol (5-8 mg/kg/día durante 30-60 días) fueron frecuentes, conduciendo a la suspensión del tratamiento en el 41.5% de los pacientes. La persistencia en los resultados negativos del estudio parasitológico mediante xenodiagnóstico, durante un periodo de observación de 6 años y 7 meses, ocurrió en el 63.4% de los pacientes (Levi, et al., 1996).

Los resultados del tratamiento con benznidazol en infecciones crónicas recientes fueron satisfactorios en niños de 7-12 años de edad, en un estudio aleatorio de un área endémica de Brasil. El benznidazol (7.5 mg/kg/día durante 60 días) fue seguro y 55.8% efectivo para producir seroconversión negativa de anticuerpos específicos (utilizando un ELISA quimioluminiscente) al final de un seguimiento de tres años. La tolerancia fue buena. Se presentaron efectos secundarios mínimos tales como náusea, anorexia, dolor de cabeza, dolor de estómago y artralgia en menos del 5% de los pacientes. Solamente un paciente suspendió el tratamiento por presentar erupción cutánea y prurito. Con estos resultados los autores justificaron la recomendación del tratamiento en niños seropositivos como una política de salud pública (de Andrade, et al., 1996). En Argentina y siguiendo el mismo protocolo anterior la eficacia del benznidazol fue de 62.1% (UNDP/World Bank WHO, 1997).

3.1.2.b.- Infección congénita

El tratamiento con benznidazol (5 mg/kg/día durante 30 días) en niños recién nacidos con infección congénita corroborada en la ciudad de Santa Fe, Argentina; resultó eficaz, por los resultados negativos de la parasitología y serología durante el seguimiento posterior al tratamiento (en un caso hasta 13 años después). El benznidazol fue bien tolerado. En los casos en los que se presentaron efectos secundarios se observó anorexia, irritabilidad y alteración en la curva de peso (Streiger, et al., 1995).

3.1.2.c. Transplante de órganos

En un estudio llevado a cabo en el ratón, se confirmó que la inmunosupresión aumenta los niveles de parasitemia y la incubación de *T. cruzi* en tejidos durante la enfermedad aguda de la enfermedad, sugiriendo que la inmunosupresión seguida por transplante de órganos en pacientes crónicos puede conducir a una recaída por la reactivación de nidos de amastigotes latentes. También se encontró que el uso del

benznidazol fue de ayuda porque disminuyeron significativamente los niveles de amastigotes en los tejidos de ratones inmunosuprimidos (Okumura, et al., 1994).

El benznidazol utilizado en el periodo preoperatorio al trasplante de corazón, aunado al uso concomitante de una terapia inmunosupresiva para el control del rechazo del injerto, en pacientes con cardiopatía chagásica, disminuyó la frecuencia de reactivación de la infección por *T. cruzi* (de Carvalho, et al., 1996). Estos resultados no son consistentes con los encontrados por otros autores en estudios previos, ya que la reactivación por *T. cruzi* se presentó en el 100% de los pacientes tratados con benznidazol en dosis de 10 ± 1 mg/kg/día durante 60-90 días (Bocchi, et al., 1993). Sin embargo, en estos mismos estudios, se observó la eficacia del benznidazol como tratamiento para los episodios de reactivación de la enfermedad una vez establecidos.

La literatura en trasplantes renales es poca, pero se ha reportado que un paciente con meningoencefalitis por la enfermedad de Chagas y con antecedentes de trasplante renal y medicación inmunosupresiva recibió tratamiento con benznidazol (7.5 mg/kg/día durante 60 días). Dos semanas posteriores al inicio del tratamiento no se encontró la presencia de *T. cruzi* en el fluido cerebroespinal. El paciente fue dado de alta con una buena condición clínica (Jardim y Takayanagui, 1994).

3.1.2.d.- Reactivación de la enfermedad de Chagas en pacientes infectados con el Virus de Inmunodeficiencia Humana

El tratamiento con benznidazol en pacientes con enfermedad de Chagas crónica y VIH, con reactivación de la enfermedad de Chagas (diagnóstico positivo de *T. cruzi* por examen directo de sangre al microscopio y manifestada por cardiopatía), fue efectivo en disminuir la parasitemia y en controlar las manifestaciones clínicas atribuidas a *T. cruzi* en dos de tres pacientes tratados. Uno de ellos, durante un seguimiento de ocho meses después del tratamiento no tuvo recurrencia de la enfermedad ni signos de progresión de la enfermedad (Sartori, et al., 1998). Como reacciones adversas se presentaron leucopenia y salpullido eritomatoso generalizado.

El tratamiento de la reactivación de la enfermedad de Chagas, manifestada como meningoencefalitis y miocarditis en un paciente con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), resultó exitoso con benznidazol (8 mg/kg/día durante 80 días) por la remisión de la parasitemia en sangre y fluido cerebroespinal, el mejoramiento clínico, la

normalización de la tomografía computada y la ausencia de infección por *T. cruzi* en el cerebro y miocardio en el examen post-mortem (el paciente sobrevivió por cerca de tres meses después del tratamiento con benznidazol, murió por otras causas no relacionadas con la enfermedad) (Nishioka, et al., 1993).

En un reporte de tres casos de reactivación de la enfermedad de Chagas en pacientes con SIDA, la condición de un paciente con implicación cardíaca y del Sistema Nervioso Central mejoró al recibir tratamiento con benznidazol (8 mg/kg/día durante 50 días). La demostración del parásito en un examen directo de sangre fue negativo y la tomografía computada después de 30 días de tratamiento fue normal. La administración del benznidazol se suspendió por la aparición de polineuropatía periférica severa y neutropenia (Ferreira, et al., 1997).

3.1.3.- EFECTOS SECUNDARIOS

Los principales efectos secundarios observados con benznidazol son:

1) Alteraciones hematológicas por hipersensibilidad:

La leucopenia y trombopenia, asociadas algunas veces con púrpura y agranulocitosis. La depresión severa de médula ósea es rara. La fiebre que se observa de forma frecuente junto con estas alteraciones hematológicas, indica la suspensión del tratamiento.

2) Alteraciones dermatológicas

La dermatosis por hipersensibilidad puede presentarse en el 30% de los pacientes mostrando intensidad variable en más del 30% de los pacientes. Si es severa el tratamiento debe suspenderse. Durante el proceso dermatológico puede presentarse linfadenopatía.

3) Alteraciones neurológicas

La polineuropatía periférica se relaciona con la dosis y se observa principalmente en esquemas con dosis elevadas. Una dosis diaria de 5 mg/kg de benznidazol puede provocar esta manifestación en el 10 al 30% de los pacientes, se observa generalmente al final del tratamiento (Coura, 1996; Fragata Filho, et al., 1997). Sin embargo, se sugiere una reevaluación de los efectos secundarios neurológicos del benznidazol en humanos porque no se observó polineuropatía periférica en perros tratados con benznidazol en una dosis de 0.5 a 4 veces mayor que la administrada en pacientes con esta enfermedad (Flores-Vieira y Antunes, 1997).

3.1.4.- INDICACIONES TERAPÉUTICAS

En un congreso sobre el tratamiento etiológico de la enfermedad Chagas convocada por el Ministerio de Salud de Brasil (Fragata Filho, et al., 1997; Coura, 1996), se establecieron las siguientes normas terapéuticas con respecto al benznidazol:

Tratamiento de la fase aguda. Existe unanimidad de criterios en cuanto a la aplicación inmediata en la fase aguda de la enfermedad independientemente de cual haya sido el mecanismo de transmisión. El índice de cura parasitológico y serológico en esta fase es aproximadamente del 60%.

Tratamiento de la infección congénita. El tratamiento específico debe iniciarse y es más eficiente cuanto más próximo al parto se realice.

Tratamiento de la fase crónica. El tratamiento está principalmente indicado en infecciones crónicas recientes (<10 años, quienes para propósitos del tratamiento, se consideran como pacientes de la fase aguda). En la práctica todos los niños con serología positiva deben tratarse. En casos particulares y con carácter de investigación, los pacientes con la forma indeterminada, cardíaca y digestiva leve pueden también tratarse. Cuando hay megaesófago se recomienda efectuar tratamiento sintomático del mismo, para asegurar el libre tránsito del medicamento antiparasitario y en consecuencia su absorción. En términos de programas de salud pública, el tratamiento etiológico todavía no es recomendable. Se requieren investigaciones suplementarias, sobre todo para evaluar si los medicamentos antiparasitarios disponibles inhiben o reducen la progresión de la enfermedad.

Infecciones accidentales. La infección accidental puede ocurrir en profesionales de la salud o investigadores que efectúan actividades de laboratorio (bancos de sangre, laboratorios clínicos de diagnóstico, laboratorios de investigación del parásito) en las que el riesgo es concreto, produciéndose la necesidad de adoptar medidas que permitan evitar dicho riesgo. Ante cualquier sospecha o confirmación de contaminación, el tratamiento debe iniciarse inmediatamente después del accidente. Una muestra de sangre debe colectarse para reacciones serológicas antes de comenzar el tratamiento, las que deberán repetirse posteriormente para observar el desarrollo de la enfermedad. Es recomendable efectuar previamente reacciones serológicas a las personas que van a desempeñar actividades de laboratorio, haciendo evaluaciones periódicas. Un receptor de transfusión de sangre proveniente de un donador con enfermedad de Chagas debe tratarse en la misma forma que se describió para el caso de infección accidental.

Transplante de órganos. En el transplante de órganos es necesario conocer si el donador o el receptor tienen enfermedad de Chagas. El transplante de órganos de un individuo infectado por *T. cruzi* puede producir la transmisión de la parasitosis al receptor. Por otra parte, un receptor afectado por infección chagásica puede experimentar reactivación de la tripanosomiasis, debido a inmunosupresión. Las manifestaciones clínicas de la reactivación difieren de las que se encuentran habitualmente en la fase aguda, por lo que es importante el adecuado monitoreo de laboratorio.

Tratamiento durante la reactivación de la enfermedad de Chagas. La reactivación de la enfermedad de Chagas en las variadas modalidades de inmunodeprimidos puede ocurrir por diversos motivos. Considerando la frecuente ocurrencia de infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), es recomendable verificar si los infectados están concomitantemente afectados por la parasitosis, efectuando exámenes serológicos previos ante una posible reactivación. Si la reactivación de la infección por Chagas se detecta, el tratamiento con benznidazol debe realizarse por un período suficiente para controlar la infección. Se ha pensado en recurrir a la quimioprofilaxis, pero todavía faltan estudios que permitan determinar cual es la mejor orientación aplicable. Un comité de expertos ha recomendado recientemente que el benznidazol, en dosis simples de 5 mg/kg tres veces a la semana de por vida debería ser el medicamento de elección, y el nifurtimox como alternativo en una dosis simple de 5 mg/kg tres veces a la semana (Ferreira, et al., 1997).

3.1.5.- CONTRAINDICACIONES

El benznidazol no debe administrarse a pacientes con afecciones consideradas graves asociadas a la enfermedad de Chagas y en mujeres embarazadas (Fragata Filho, et al., 1997; Coura, 1996).

3.1.6.- DOSIS Y VÍA DE ADMINISTRACIÓN

Oral.

Adultos: 5 mg/kg por día, durante 60 días.

Niños: Hasta 10 mg/kg/día, durante 60 días. La dosis total por día debe dividirse en dos tomas (cada 12 horas) o en tres tomas (cada 8 horas) .

3.2.- NIFURTIMOX

3.2.1.- FARMACOLOGÍA

3.2.1.a.- Descripción

El nifurtímo, un derivado 5-nitrofurano (3-metil-4-(5'-nitrofurfurilide-neamino)-tetrahidro-4H-1,4-tiazina-1,1-dióxido); Bay 2502; Lampit. (figura 2).

Es sintetizado a partir del 5-nitrofurfural y 4-amino-metiltetrahidro-1,4-tiazina-1,1-dióxido. Patente alemana 1,170,957. Patente Estado Unidense 3,262,930 (1964 y 1966 Bayer) (Budavari, et al., 1996).

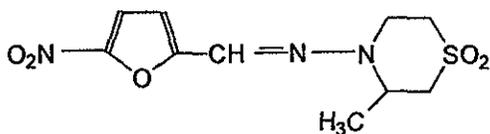


Figura 4. Estructura química del nifurtimox

3.2.1.b.- Toxicidad

En estudios con bacterias, el nifurtímo se ha asociado con mutagenicidad en *Salmonella thymurium* (Teixeira, et al., 1994). En niños con enfermedad de Chagas tratados con nifurtímo se observó una diferencia estadística significativa en el aumento de aberraciones cromosómicas en linfocitos periféricos, los niveles de daño genético fueron 13 veces más altos que en niños no tratados (Gorla, et al., 1989).

Con respecto a la carcinogenicidad del nifurtímo (8µg/g), éste se ha asociado con la incidencia de linfomas en el ratón (Teixeira, et al., 1994).

3.2.1.c.- Mecanismo de acción

La reducción metabólica del grupo nitro por nitroreductasas es de fundamental importancia, conduciendo a la producción de radicales anión nitro. *T. cruzi* es parcialmente deficiente en los mecanismos de detoxificación y así es susceptible a los productos de una reducción parcial del oxígeno (de Castro, 1993a).

3.2.2.- EFICACIA CLÍNICA

3.2.2.a.- Fase crónica

En un estudio clínico abierto del nifurtimox para el tratamiento de la parasitemia en la fase crónica de la enfermedad en Sao Paulo, Brasil; con un esquema terapéutico variable (dosis inicial de 5-7 mg/kg/día a una dosis final de 15-17 mg/kg/día durante 120 días) y un seguimiento promedio de 5 años, el xenodiagnóstico fue negativo en el 12.5% de los pacientes con la forma indeterminada (se caracteriza por la seropositividad de un individuo asintomático, con electrocardiograma y radiografías normales del corazón, esófago y colon) y cardíaca de la enfermedad. El 75% de los pacientes tuvieron efectos secundarios graves, conduciendo a la suspensión del tratamiento (Levi, et al., 1996).

3.2.2.b.- Infección congénita

En recién nacidos con infección congénita de áreas consideradas como no endémicas o de baja endemicidad, el nifurtimox (12-15 mg/día) resultó exitoso, según su evaluación por los resultados negativos de la parasitología y serología (Arcavi, et al., 1993, Strelger, et al., 1995).

En niños coinfectados con VIH, los resultados clínicos con nifurtimox a una dosis de 10-15 mg/kg/día durante 60-90 días (iniciando con 5 mg/kg/día e incrementando los niveles terapéuticos de acuerdo a los efectos hematológicos de los controles) no fueron satisfactorios a pesar de haber una buena respuesta antiparasitaria (Freilij y Altech, 1995).

3.2.3.- EFECTOS SECUNDARIOS

Frecuentes: reacciones de hipersensibilidad, como dermatitis, fiebre, ictericia, infiltrados pulmonares y anafilaxis. Gastrointestinales como, náusea y vómito que pueden llevar a una pérdida de peso excesiva. Neuropatía periférica, mialgias y astenia.

Pocos frecuentes: cefalea, trastornos psíquicos, parestesias, polineuritis, y excitación del Sistema Nervioso Central.

Raras: leucopenia e hipospermia (Rodríguez-Carranza, 1995).

3.2.4.- INDICACIONES TERAPÉUTICAS

Las normas terapéuticas del nifurtimox son las mismas que las establecidas para el benznidazol (ver sección 3.1.4) conforme al congreso sobre el tratamiento etiológico de

la enfermedad Chagas convocada por el Ministerio de Salud de Brasil (Fragata Filho, et al., 1997; Coura, 1996).

3.2.5.- CONTRAINDICACIONES

El nifurtímox no debe ser indicado a pacientes embarazadas ni en caso de pacientes con afecciones consideradas graves asociadas a la enfermedad de Chagas (Coura, 1996).

3.2.6.- DOSIS Y VÍA DE ADMINISTRACIÓN

Oral.

Adultos: 8-10 mg/kg/día durante 60-90 días.

Niños: 15 mg/kg/día durante 60-90 días. El total de la dosis por día debe dividirse en tres tomas y administrarse cada ocho horas.

Algunos autores sudamericanos prescriben el nifurtímox en lugar del benznidazol porque el efecto supresivo inmediato sobre los parásitos, de apariencia superior, tanto a nivel sanguíneo como tisular (Velasco-Castrejón, et al., 1994).

3.3.- ESTUDIOS CLÍNICOS COMPARATIVOS DEL BENZNIDAZOL Y NIFURTÍMOX

En un reciente estudio controlado comparativo del benznidazol y nifurtímox (5 mg/kg/día durante 30 días) en la fase crónica de la enfermedad de Chagas, en una área con transmisión interrumpida, el grupo del benznidazol mostró 98.2% de xenodiagnósticos negativos, el nifurtímox 90.4% y el placebo 65.7% un año después del seguimiento. Sin embargo, todas las reacciones serológicas persistieron positivas (Coura, et al., 1997).

3.4.- RESISTENCIA PARASITARIA DE LAS CEPAS DE *Trypanosoma cruzi*

El tratamiento de los pacientes con enfermedad aguda y crónica de Chagas con los medicamentos actualmente en uso, han producido diversos resultados distintos. Las diferencias son aun mayores cuando se comparan con estudios clínicos de diferentes áreas geográficas. En Argentina y Brasil se reportaron índices de cura del 81 y 33.3-38.4% respectivamente, con nifurtímox en infecciones agudas; con benznidazol se encontró un índice de cura del 80% en Argentina, mientras que en Brasil fue de 51.3-53.8% (de Andrade, et al., 1992). Uno de los factores contribuyentes en estos resultados podría ser

la cepa del parásito junto con la predominancia de ciertas cepas estables en algunas áreas geográficas (Andrade, et al., 1992; Viotti, et al., 1994; Murta y Romanha, 1998).

La susceptibilidad hacia el benznidazol y nifurtimox (durante 90 días) se correlacionó con las características biológicas de la cepa del parásito (caracterizadas en varios tipos I, II o III, de acuerdo a su morfología y a su comportamiento biológico). Las cepas de tipo I mostraron la mayor susceptibilidad, las de tipo II moderada-alta y las de tipo III altamente resistentes a ambos medicamentos (Andrade, et al., 1985). En un estudio para evaluar la influencia de la quimioterapia en el comportamiento bioquímico de diversas cepas de *T. cruzi* (cepa Peruana, 21 SF y Colombiana) con diferentes patrones biológicos e isoenzimáticos, no se demostraron diferencias entre las cepas de *T. cruzi* aisladas de ratones tratados con nifurtimox (4 dosis de 200 mg/kg/día seguido con dosis diarias de 50 mg/kg durante 90 días) o benznidazol (100 mg/kg/día durante 90 días) y no tratados, señalando que no hay una selección clonal detectable o alteraciones en los marcadores genéticos de las isoenzimas analizadas, sugiriendo estabilidad de las características fenotípicas de los tres tipos de cepas biológicas de *T. cruzi*. Sin embargo, las cepas difirieron en la susceptibilidad. La cepa tipo I (Peruana) mostró índices de cura de 37.7% con nifurtimox y 45.5% con benznidazol, el tipo II (21 SF) mostró una alta susceptibilidad con índices de cura del 75% con nifurtimox y 100 % con benznidazol. La cepa más resistente fue la Colombiana (Tipo II) pues no mostró cura con nifurtimox y sólo 30.7% con benznidazol (Marreto y Andrade, 1994).

En un estudio de susceptibilidad de cepas de *T. cruzi* aisladas de pacientes con enfermedad de Chagas de áreas del centro de Brasil se identificaron cepas de tipo II (zimodema 2) y de tipo III (zimodema 1). El índice de cura en ratones con benznidazol (5-10 mg/kg durante 60 días) y nifurtimox (8-8.7 mg/kg durante 60 o 75 días) fue de 66-100% en ratones infectados con cepas de tipo II y 0-9% en aquellos infectados con las cepas de tipo III. La correlación del tratamiento entre pacientes infectados e infección experimental en modelos murinos fue del 81.8% (Andrade, et al., 1992).

Algunos autores han sugerido que las diferencias en la concentración de tioles libres encontradas entre diferentes cepas (LQ, clon Dm28c, clon Brener) y entre epimastigotes, tripomastigotes y amastigotes de una cepa, podrían explicar la diferente susceptibilidad o resistencia al benznidazol o nifurtimox (Repetto, et al., 1996; Maya, et al., 1997).

Varios autores, usando diferentes protocolos han obtenido cepas resistentes "in vitro" al nifurtimox y al benznidazol, sin embargo no se observó una correlación entre la

susceptibilidad de las cepas "in vitro" e "in vivo" (Murta y Romanha, 1998). Con el fin de investigar sobre los mecanismos de resistencia se seleccionó y se caracterizó "in vivo" una población y clones de *T. cruzi* resistentes al benznidazol. La selección de la población resistente se obtuvo a través de 25 tratamientos rápidos sucesivos (8 meses) con benznidazol en ratones infectados con la cepa Y de *T. cruzi*. La población de *T. cruzi* resistente al benznidazol, inicialmente produjo un índice de parasitemia y mortalidad bajo en los ratones infectados, pero después en el proceso de selección, los niveles de parasitemia y mortalidad aumentaron a los mismos valores obtenidos en ratones infectados con una cepa de tipo silvestre. No se observó cura, ni disminución de la parasitemia de los ratones infectados con la población seleccionada resistente al benznidazol. Esta población también mostró resistencia cruzada con el nifurtimox, MK-436 ([3-(1-metil-5-nitroimidazol-2-ilo)3a, 4,5,6,7,7a-hexahidro-1,2-benzisoxazol] (Merck Sharp & Dohme)) y megarol (2-amino-5-(1-metil-5-nitro-2-imidazolil)-1,3,4-tiadiazol (American Cyanamid Company). Al comparar la cepa silvestre con los clones resistentes al benznidazol, se observó que el fenotipo de estos últimos fue más estable que el de la cepa silvestre (Murta y Romanha, 1998). En un reciente estudio de caracterización molecular de 27 cepas de *T. cruzi* susceptibles y naturalmente resistentes al benznidazol y nifurtimox, los resultados mostraron una buena correlación de la susceptibilidad a los medicamentos entre el polimorfismo de los segmentos del gen hipoxantina fosforibosil transferasa y glicoproteína-P y las cepas clasificadas como zimodema ZB por el análisis isoenzimático. Del estudio de 18 cepas adicionales aisladas de diferentes áreas geográficas de Brasil, todas las zimodema B fueron susceptibles al tratamiento con benznidazol independientemente del origen del área geográfica. De acuerdo a los resultados presentados en este trabajo, las fallas terapéuticas se deben en parte a las variaciones genéticas conduciendo a susceptibilidad o resistencia (Murta, et al., 1998).

IV. POSIBILIDAD DE NUEVOS MEDICAMENTOS

Debido a que las expectativas de introducción de nuevos medicamentos antichagásicos por parte de la Industria Farmacéutica son escasas, diversas estrategias están siendo diseñadas para identificar, entre medicamentos que ya están disponibles en el mercado para el tratamiento de otras enfermedades, aquellos que muestren actividad contra *T. cruzi* y que pudieran ser usados clínicamente en la enfermedad de Chagas, evitando así, los altos costos del desarrollo de medicamentos (Brener, et al., 1993). Los compuestos que ya han sido probados en la fase clínica contra esta enfermedad son: el alopurinol, un medicamento para el tratamiento de la gota y dos antimicóticos, el ketoconazol y el Itraconazol.

Para la identificación de nuevos compuestos experimentales con actividad anti-*T. cruzi*, también se han investigado otros medicamentos desarrollados para el tratamiento de enfermedades no relacionadas con la enfermedad de Chagas, tales como anti-VIH, antimicóticos, antidepresivos, antihipertensivos, antipalúdicos, antineoplásicos, etc.

Las estrategias que se han empleado para el desarrollo de nuevos agentes quimioterapéuticos más eficaces y con menos efectos secundarios contra esta enfermedad son: cernimiento general o detección selectiva, extracción de fuentes naturales, modificación molecular y síntesis de compuestos químicos sobre bases racionales.

En este capítulo se hace referencia a nuevos compuestos que han sido evaluados en diferentes etapas (estudios preclínicos o clínicos) en cuanto a su eficacia en el tratamiento de las infecciones por *T. cruzi*, clasificándolos conforme a: 1) la estructura química, 2) mecanismo de acción, 3) uso terapéutico.

4.1.- CLASIFICACIÓN POR ESTRUCTURA QUÍMICA

4.1.1.- ALCALOIDES

La boldina (figura 5) es el principal constituyente alcaloide del boldo, una planta medicinal de uso popular y en la medicina tradicional para tratar desórdenes digestivos o hepatobiliares, además las preparaciones del boldo se encuentran descritas en varias farmacopeas.

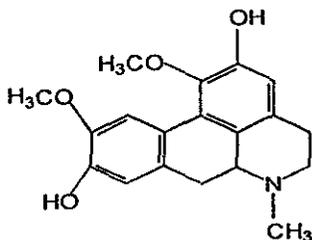


Figura 5.

Estructura química de la boldina

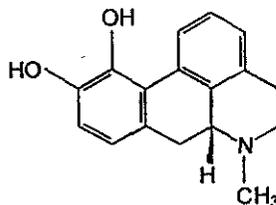


Figura 6.

Estructura química de la apomorfina

Su toxicidad en mamíferos es relativamente baja y no muestra mutagenicidad. El hecho que la boldina y sus estructuras químicas relacionadas son potentes antioxidantes sugiere que podrían ser candidatos como compuestos experimentales para el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Se ha propuesto que la boldina y sus compuestos relacionados pueden inhibir el crecimiento de *T. cruzi* mediante el bloqueo de transporte de electrones. En un estudio "in vitro" del efecto tripanocida de la boldina y sus alcaloides relacionados, en concentraciones mayores de 500 μM , la boldina inhibió totalmente el crecimiento de los epimastigotes (cepa Tulahuén). Se obtuvieron resultados similares con las cepas LQ y el clon Dm28c. El alcaloide más activo fue la apomorfina (figura 6), la concentración que inhibió el 50% del crecimiento (I_{50}) fue 29-36 μM . Con boldina la inhibición del consumo de oxígeno en epimastigotes fue del 25-30% y no hubo diferencias significativas entre las diferentes cepas. Se obtuvieron resultados similares con apomorfina, predicentrina ([S]-5,6,6a,7-tetrahidro-6metil-1,9,10-trimetoxi-4H-dibenzo [de,g] quinolin-2-ol) y glaucina ([S]-5,6,6a,7-tetrahidro-6-metil-1,2,9,10-tetrametoxi-4H-dibenzo [de,g] quinolina). La apomorfina fue el alcaloide más tóxico para *T. cruzi*, seguido por boldina y glaucina o norarmepavina ([R,S]-1,2,3,4-tetrahidro-1-[4-metoxifenil]metil-6-metoxi-isoquinolin-7-ol) (Morello, et al., 1994).

4.1.2.- AMIDINAS

Con el fin de encontrar nuevos agentes tripanocidas, se decidió evaluar "in vitro" derivados de amidinas, nunca antes utilizados contra *T. cruzi* (cepa Y).

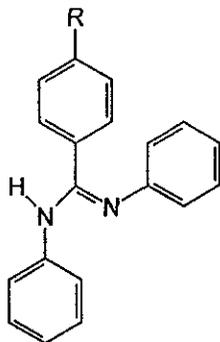


Figura 7. Estructura química del N,N'-difenil-4-R-benzamida

Los derivados del N,N'-difenil-4-R-benzamida (figura 7); R=OCH₃, R=Br en dosis de 160 µg/mL mostraron un 100% de inhibición en el crecimiento de tripomastigotes sanguíneos. El derivado de bromo fue el más activo aun en dosis de 40 µg/mL. La concentración que inhibió el 50% del crecimiento (DL₅₀) fue 59 y 251 nM respectivamente. En epimastigotes, los derivados de R=Cl y R=Br fueron los más eficaces en inhibir su crecimiento en dosis de 160 µg/mL con un 75% y 100% respectivamente, la DL₅₀ del derivado de cloro y bromo fue 474 y 424 nM respectivamente (Canto-Cavalheiro, et al., 1997).

4.1.3.- 8-AMINO-QUINOLINAS

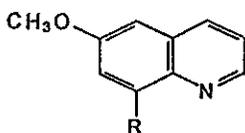
La primaquina (PQ) un derivado de la 8-aminoquinolina, que se emplea contra el paludismo, ha sido utilizada en casos agudos de la enfermedad de Chagas, por excepción, cuando no se tiene acceso al benznidazol o nifurtímox, sin embargo el uso de la primaquina está limitado por sus efectos tóxicos, entre ellos, anemia hemolítica, principalmente en pacientes deficientes en glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Aunque su mecanismo de acción no está completamente comprendido, se ha propuesto que la primaquina actúa como un agente tripanocida a través del ciclo redox, con la generación de especies de oxígeno activas (citado en Chung, et al., 1997).

En base a reportes previos, en los que se demostró que derivados antimaláricos de aminoácidos o péptidos de primaquina fueron menos tóxicos que la primaquina, se

sintetizaron y evaluaron "in vitro" una serie de estos derivados contra *T. cruzi*. La elección de los péptidos estuvo basada en la especificidad a la cruzipalpa, la principal proteasa de cisteína de *T. cruzi*. Los derivados Fenilalanina-Arginina-PQ, Lisina-Arginina-PQ y Fenilalanina-Alanina-PQ y primaquina en concentraciones de 5 a 10 μM en cultivo celular LL-MK2 inhibieron significativamente el desarrollo de tripomastigotes (cepa Y) comparado con el control (sin medicamento). El derivado Lisina-Arginina-PQ fue el inhibidor más efectivo con efectos similares a la primaquina en concentraciones de 10 μM , sin embargo, considerando que el derivado del péptido es menos tóxico que la primaquina, es de interés su evaluación "in vivo" (Chung, et al., 1997).

Una serie de análogos de primaquina (Tabla 2 y Tabla 3), se sintetizaron con base a la modificación molecular de ésta y se evaluaron "in vivo" en modelo murino.

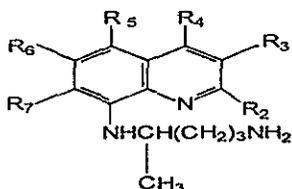
Tabla 2. Estructura química de análogos de la primaquina con sustituciones en la cadena lateral de la posición 8-amino.

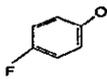
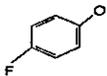


Compuesto	R
Primaquina	$\begin{array}{c} \text{---NHCH(CH}_2\text{)}_3\text{NH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
1	$\begin{array}{c} \text{---NHCH(CH}_2\text{)}_3\text{NH(C}_2\text{H}_5\text{)}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
2	$\begin{array}{c} \text{---NH(CH}_2\text{)}_3\text{CHNHC}_2\text{H}_5 \\ \\ \text{C}_2\text{H}_5 \end{array}$
3	$\begin{array}{c} \text{---NH(CH}_2\text{)}_3\text{CHNH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
4	$\begin{array}{c} \text{---NHCH(CH}_2\text{)}_4\text{NHCH(CH}_3\text{)}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$

Compuesto	R
5	$\begin{array}{c} \text{---NHCH(CH}_2)_2\text{C(CH}_3)_2 \\ \qquad \qquad \\ \text{CH}_3 \qquad \text{NH}_2 \end{array}$

Tabla 3. Estructura química de análogos de la primaquina con sustitución en el anillo de la quinolina.



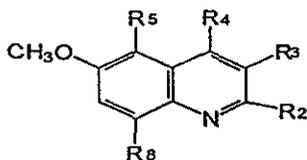
Compuesto	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6
6	CH_3				OCH_3
7	CH_3			OCH_3	OCH_3
8		CH_3			OCH_3
9		CH_3			OCH_3
10			CH_3		OCH_3
11	OCH_3		CH_3		OCH_3

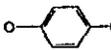
De los 77 análogos evaluados, 23 de ellos, en dosis de 0.8125-104 mg/kg/día fueron más efectivos que el nifurtimox en disminuir la parasitemia a los 14 días en ratones infectados con tripomastigotes con una cepa brasileña. Los compuestos 1-5 con sustituciones en la cadena lateral del grupo 8 amino, tuvieron actividades similares o más altas que el nifurtimox y ninguno mostró una actividad mayor que la de la primaquina por sí misma. Los compuestos 6 y 7 con sustitución en el anillo de la primaquina, fueron similares a la primaquina en disminuir la parasitemia; los compuestos 8-11 fueron más

activos que ésta última. El compuesto 11, fue 14 veces más activo que el nifurtímox y casi cuatro veces más activo que la primaquina (Kinnamon, et al., 1996).

En la evaluación "in vivo" de la efectividad de 48 análogos de las 8-amino-quinolina (no derivados de la primaquina) contra infecciones de *T. cruzi* en modelo murino (Tabla 4), los compuestos 1-7 en dosis de 0.8125-104 mg/kg/día fueron igual o más efectivos que el nifurtímox, en suprimir la parasitemia en el día 15 posterior a la infección con tripomastigotes de una cepa brasileña. El compuesto 4, fue 13 veces más efectivo que el nifurtímox y 3.5 veces más efectivo que la primaquina (Kinnamon, et al., 1997). El mecanismo de acción de las 8-amino-quinolinas contra *T. cruzi* todavía no se ha determinado (Kinnamon, et al., 1997).

Tabla 4. Estructura química de análogos de la 8-amino-quinolina.

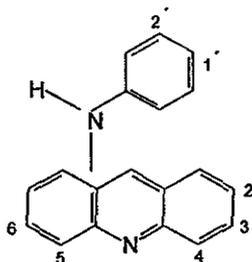


Compuesto	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₈
1	H	H	CH ₃	H	NHCH(CH ₂) ₃ NHCH(CH ₃) ₂ CH ₃
2	H	H	H	OCH ₃	NH(CH ₂) ₄ NH ₂
3	H	H	CH ₃	H	NH(CH ₂) ₃ CHNH ₂ CH ₃
4	CH ₃	H	H		NH(CH ₂) ₃ CHNH ₂ CH ₃
5	H	CH ₃	H	H	NH(CH ₂) ₃ CHNH ₂ CH ₃
6	OCH ₃	H	CH ₃	OCH ₃	NH(CH ₂) ₆ N(C ₂ H ₅) ₂
7	H	H	CH ₃	OCH ₃	N(CH ₂) ₆ N(C ₂ H ₅) ₂ CH ₃

4.1.4.- 9-ANILINO-ACRIDINAS 1'SUSTITUIDAS

En la evaluación de 9-anilino-acridinas 1'sustituidas (inhibidores de la topoisomerasa II) contra *T. cruzi* "in vitro" (Tabla 5), la concentración requerida para disminuir el número de macrófagos infectados con amastigotes (cepa MHOM/BR/00/Y) al 50% de los controles no tratados (DE₅₀) de los derivados de 1'-NH(CH₂)₅Me 9-anilino-acridinas (compuestos del 1-5 y 6-9) y 1'-N(alquilo)₂ 9-anilino-acridinas (10 y 11-16) fueron 0.12-(> 10) μM y (>0.3) -(> 3) μM respectivamente (Gamage, et al., 1997).

Tabla 5. Estructura química de análogos de 9-anilino-acridinas 1'-NH(CH₂)₅Me y 1'-N(alquilo)₂ sustituidas.



Compuesto	Sustituyentes
1	1'-NH(CH ₂) ₅ Me
2	1'-NH(CH ₂) ₅ Me, 2'-OMe
3 ^f	1'-NH(CH ₂) ₅ Me
4 ^f	1'-NH(CH ₂) ₅ Me, 2'-OMe
5 ^s	1'-NH(CH ₂) ₅ Me
6	1'-N(Me)(CH ₂) ₅ Me
7	1'-N(Me)(CH ₂) ₅ Me, 2'-OMe
8 ^f	1'-N(Me)(CH ₂) ₅ Me
9 ^s	1'-N(Me)(CH ₂) ₅ Me
10	1'-N(Me)Et
11	1'-N(Me) ₂
12	1'-N(Et) ₂
13	1'-N(Pr) ₂
14	1'-N(Bu) ₂

Compuesto	Sustituyentes
15	1'-N(Pt) ₂
16	1'-N(Hx) ₂

Nota: f = 2-OMe, 6-Cl acridina sustituida, g = 3,6-DiNMe₂ acridina sustituida

4.1.5.- AZOLES

Los derivados azólicos son potentes antifúngicos, incluyen dos clases generales que son los imidazoles y los triazoles. Ambos comparten el mismo mecanismo de acción contra los hongos. Inhiben la enzima esterol 14- α -desmetilasa, dependiente del citocromo P-450. De ese modo, los imidazoles y triazoles entorpecen la biosíntesis de ergosterol en la membrana citoplasmática y permiten la acumulación de los 14- α -metilesteroles. Estos metilesteroles pueden alterar la disposición de las cadena de acilfosfato y, con ello, alterar las funciones de algunos sistemas enzimáticos de la membrana como ATPasa y enzimas del sistema del transporte electrónico, y de este modo inhibir la proliferación de hongos (Goodman y Gilman, 1996). En *T. cruzi*, se demostró que estos compuestos azólicos bloquean la biosíntesis de esteroides de tipo fúngico (Docampo y Schmuñis, 1997). Aunque esta enzima también está presente en las células de mamíferos, es menos sensible a los medicamentos que la presente en hongos o tripanosomátidos (Docampo y Schmuñis, 1997).

4.1.5.a.- Ketoconazol

El ketoconazol, (cis- \pm)-1-acetil-4-[4-[[2-2,4-diclorofenil]-2-(1H-imidazol-1-ilo-metil)-1,3-dioxolan-4-ilo]metoxi]fenil]piperazina) (figura 8). Es un derivado imidazólico, indicado en el tratamiento de diversas micosis superficiales y sistémicas.

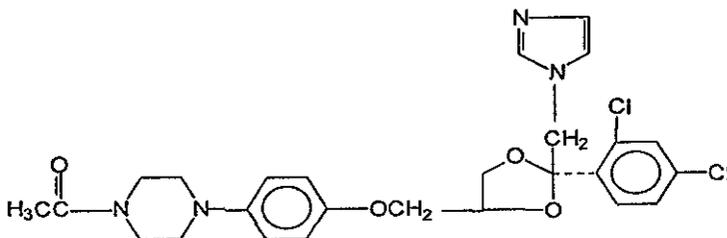


Figura 8. Estructura química del ketoconazol

El ketoconazol ha demostrado ser activo en cultivos de tejidos y en infecciones agudas experimentales de *T. cruzi* (de Castro, 1993a). En dosis de 120 mg/kg durante 20 días, mostró una amplia diversidad en el índice de cura contra tripomastigotes de diferentes cepas de *T. cruzi* (naturalmente resistentes al benznidazol o nifurtimox) en modelo murino. Con la cepa Y, el ketoconazol fue más activo que el benznidazol o nifurtimox. Un notable efecto supresivo de la parasitemia se observó en dosis de 40 y 100 mg/kg. En dosis menores de 25 mg/kg no fue capaz de controlar la infección (Brener, et al., 1993).

La administración de ketoconazol (3.1-8.7 mg/kg durante 51-96 días) en pacientes en la fase crónica de la enfermedad, no produjo curación durante un seguimiento de 8 meses-4 años, demostrado por las pruebas parasitológicas (hemocultivo) y serológicas positivas (lisis mediada por complemento) (Brener, et al., 1993).

Ketoconazol en asociación con otros medicamentos

Las dosis reportadas del ketoconazol para prevenir la mortalidad y promover la curación parasitológica en ratones infectados con infección de *T. cruzi* son mayores que las requeridas para producir hepatotoxicidad y bloquear la síntesis de hormonas esteroides, principalmente la testosterona en humanos (citado en Maldonado, et al., 1993). El ketoconazol en asociación con inhibidores de ergosterol, en diferentes puntos de la vía biosintética, tales como mevinolin (figura 9) y terbinafina (figura 10) han demostrado una acción sinérgica contra *T. cruzi* "in vitro" e "in vivo", lo cual podría disminuir la dosis y la duración del tratamiento (Maldonado, et al., 1993; Urbina, et al., 1993). El mevinolin forma parte de un grupo de metabolitos antifúngicos secundarios que son inhibidores competitivos de 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzima A reductasa y es actualmente usado como un agente hipocolesterolémico en humanos. La terbinafina es una alilamina, la cual bloquea la escualeno epoxidasa en hongos (citado en Maldonado, et al., 1993).

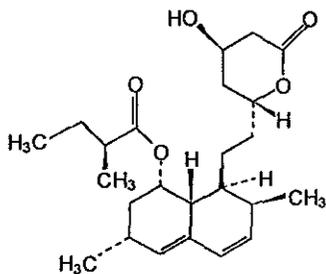


Figura 9. Estructura del mevinolin

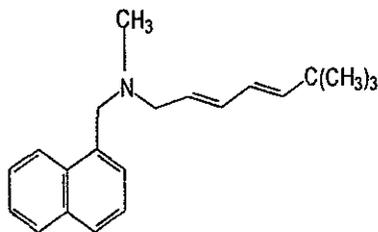


Figura 10. Estructura de la terbinafina

“In vitro”, la acción del mevinolin contra epimastigotes de *T. cruzi*, en dosis menores de 25 μM , disminuyó el índice de crecimiento del parásito, sin afectar la viabilidad de la célula; en concentraciones mayores, inhibió el crecimiento después de un período de tiempo que fue inversamente proporcional a la concentración del fármaco y se presentaron alteraciones morfológicas y lisis celular. El estudio del efecto antiproliferativo del mevinolin, combinado con ketoconazol y terbinafina sobre epimastigotes, indicaron una acción sinérgica. El mevinolin (1 μM) por sí mismo, no fue un agente antiproliferativo contra los amastigotes cultivados en células Vero; en concentraciones mayores se encontraron efectos deletéreos significativos en las células huésped. Sin embargo, el mevinolin (0.75 μM) en combinación con ketoconazol fue capaz de disminuir por un factor de 10, la concentración del azol requerida para erradicar el parásito (de 10 a 1 nM), indicando nuevamente una acción sinérgica. Una combinación de mevinolin y terbinafina mostró efectos aditivos antiproliferativos sobre amastigotes, pero en una combinación ternaria de mevinolin, ketoconazol y terbinafina mostró acción sinérgica (Urbina, et al., 1993).

“In vivo”, el mevinolin por sí mismo mostró actividad antiparasitaria en modelo murino. En combinación con ketoconazol o terbinafina, en dosis en las que solos ofrecen una limitada protección contra los parásitos, fue capaz de eliminar parásitos circulantes y producir una completa protección contra la muerte (Urbina, et al., 1993; Maldonado, et al., 1993). El ketoconazol en dosis de 30 mg/kg/día durante 7 días mostró una sobrevivencia del 100% en ratones infectados con *T. cruzi*, mientras que los controles (no tratados) o los que recibieron solo ketoconazol (15 mg/kg/día) o solo terbinafina (100 mg/kg/día) murieron. Sin embargo, cuando los animales recibieron una combinación de ketoconazol (15 mg/kg/día) más terbinafina (100 mg/kg/día) se observó una total sobrevivencia a los 35 días posteriores a la infección, indicando que el mevinolin o la terbinafina tiene un efecto sinérgico en ratones. Los índices de cura parasitológico (por subinoculación de órganos en ratones no infectados) de los animales que sobrevivieron después de 7 días de tratamiento que recibieron solo ketoconazol (30 mg/kg/día) o la combinación de ketoconazol (15 mg/kg/día) más terbinafina (100 mg/kg/día) fueron 25 y 100% respectivamente. El tratamiento se extendió a 14 días porque la cura parasitológica no fue completa con 7 días de tratamiento. Los animales tratados solo con ketoconazol (30 mg/kg/día) o con la combinación de ketoconazol (15 mg/kg/día) más terbinafina (100

mg/kg/día) mostraron una sobrevivencia del 100% diez semanas después a la infección, mientras que 2/3 de los ratones tratados solo con ketoconazol (15 mg/kg/día) continuaron con vida después de catorce días 14 días de tratamiento. Los animales controles (no tratados) y los que recibieron solo terbinafina (100 mg/kg) no sobrevivieron después de 30 días. La subinoculación de órganos indicó bajos niveles de cura parasitológica para los grupos tratados solo con ketoconazol (15 ó 30 mg/kg/día), 33 y 25% de los animales sobrevivientes respectivamente fueron curados, pero todos los animales tratados con la combinación se encontraron libre de infección (Maldonado, et al., 1993).

4.1.5.b.- Itraconazol

(cis-4-[4-[4[[[2-(2,4-diclorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-metil)-1,3-dioxolan-4-ilo]]metoxi]fenil-1-piperazinil]fenil]-2,4-dihidro-2(1-metilpropil)-3H-1,2,4-triazol-3-ona); R-51-211; Sporanox (figura 11). Es un derivado triazólico, que guarda una relación muy estrecha con el ketoconazol. Al parecer posee menos efectos secundarios que el ketoconazol y su espectro de actividad es más amplio (Goodman y Gilman, 1996).

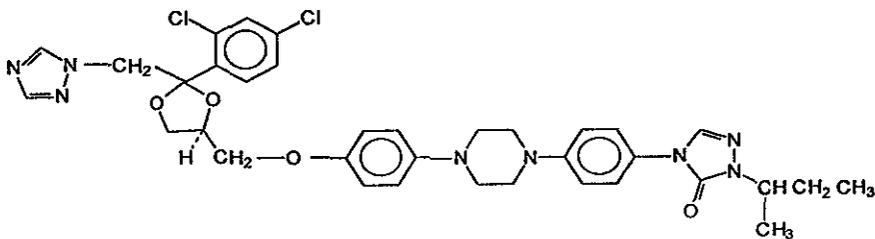


Figura 11. Estructura química del itraconazol

Es efectivo contra epimastigotes y amastigotes, ofreciendo protección completa a ratones infectados con diferentes cepas de *T. cruzi* (de Castro, 1993a).

En un informe preliminar de la eficacia del itraconazol (6 mg/kg/día durante 120 días) o del alopurinol (8.5 mg/Kg/día durante 60 días) en el tratamiento de la enfermedad crónica de Chagas, en pacientes del área Metropolitana (zona hipoendémica) y de la región IV (zona hiperendémica) de Chile, con un seguimiento de doce meses, el xenodiagnóstico positivo previo al tratamiento, se volvió negativo en el 94.4% de los pacientes tratados con itraconazol y en el 7.1% de los pacientes que recibieron placebo. El itraconazol normalizó el electrocardiograma en el 32% de los pacientes. En el grupo del

placebo el electrocardiograma no fue modificado en el 100% de los pacientes. El itraconazol fue bien tolerado en el 75% de los pacientes. El 12% de los pacientes presentaron tolerancia regular por sintomatología digestiva: dolor abdominal, nauseas, diarrea, aumento de la transaminasa oxalacética y de las fosfatasas alcalinas (Apt, et al., 1994). Los resultados del control de los casos del estudio anterior se publicaron recientemente con una mayor casuística y con la determinación de anticuerpos líticos antes y después de la terapia (Apt, et al., 1998). Los pacientes fueron evaluados durante un período de cuatro años posterior al tratamiento. Los resultados negativos sucesivos en el xenodiagnóstico y/o lisis mediada por complemento durante el seguimiento, fueron considerados como criterio de cura parasitológica. El xenodiagnóstico positivo previo al tratamiento se volvió negativo en el 88.4% y 25% de los pacientes (con forma indeterminada o cardiopatía chagásica) en el grupo del itraconazol y placebo respectivamente. La cura parasitológica fue evidente en 53% de los pacientes del grupo de la forma indeterminada tratados con itraconazol. El electrocardiograma se normalizó en el 36.5% de los pacientes con cardiomiopatía tratados con itraconazol o alopurinol. En el 48.2% de los pacientes con cardiopatía reciente tratados con itraconazol o alopurinol el electrocardiograma se normalizó. Las pruebas serológicas por métodos convencionales permanecieron positivas sin variación durante los cuatro años de seguimiento, a excepción de 5 casos tratados con itraconazol en los cuales la hemaglutinación indirecta disminuyó. Estos resultados confirman la idea de que la serología convencional es insatisfactoria como criterio de curación. El itraconazol fue bien tolerado en el 89.7% de los pacientes. Sólo un caso (0.6%) tuvo que suspender el tratamiento por vómito y diarrea (Apt, et al., 1998).

4.1.5.c.- Fluconazol

(2-(2,4-difluorofenil)1,3-bis(1H-1,2,4-triazol-1-ilo)-2-propanol) (figura 12). Es un bistriazol fluorado eficaz para combatir candidiasis, criptococosis en sujetos con SIDA y para tratar meningitis por coccidioides (Goodman y Gilman, 1996).

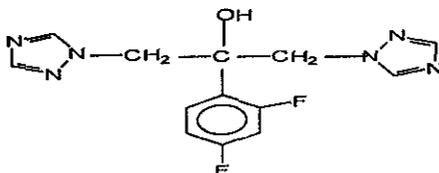


Figura 12. Estructura química del fluconazol

En un paciente con hemofilia y SIDA que se complicó con encefalitis por *T. cruzi*, el tratamiento con benznidazol (400 mg/día durante 11 semanas) no mostró mejoría después de dos semanas de terapia, pero al cambiar el medicamento a itraconazol (200 mg/día) durante 11 semanas y posteriormente a fluconazol (400 mg/día) los síntomas neurológicos se estabilizaron. Con el uso de estos triazoles no se observaron efectos secundarios de importancia (Solari, et al., 1993).

4.1.5.d.- D0870

El ICI 195, 739 es una mezcla racémica de un derivado bis triazólico (Fluconazol (R,S)-2-(2,4-difluorofenil)-1-(3-[(Z)-4-(2,2,3,3 tetrafluoropropoxi)estiril]-1,2,4-triazol-1-ilo)-3-(1,2,4-triazol-1-ilo)-2-propanol) con una actividad superior en relación a otros azoles de uso actual en modelos animales de micosis sistémicas y un notable efecto específico contra *T. cruzi* en modelo murino (citado en Urbina, et al., 1996a). Además de ser un inhibidor de la biosíntesis de esteroles al nivel de C-14- α -desmetilasa en *T. cruzi*, el compuesto bloquea el ciclo celular en la citocinesis (Urbina, et al., 1996a). Se demostró que el enantiómero R (+) del ICI 195,739, conocido como D0870 (figura 13) es el responsable de la actividad antifúngica y antiparasitaria contra *T. cruzi* (Yamada, et al., 1993, Urbina, et al., 1996a). El D0870 se encuentra actualmente en estudios clínicos para el tratamiento de candidiasis resistentes al fluconazol en pacientes con SIDA (citado en Urbina, 1997).

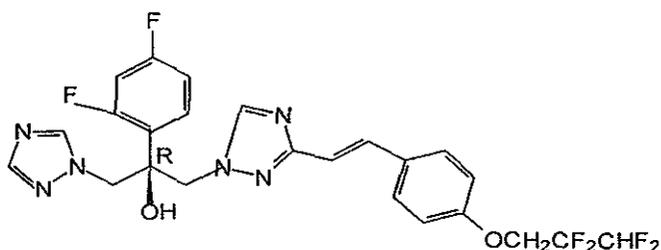


Figura 13. Estructura química del D0870

El D0870, "in vitro" mostró ser 30-100 veces más potente que su análogo S(-) como un agente antiproliferativo e inhibidor de la biosíntesis de esteroides contra epimastigotes y amastigotes de *T. cruzi* (Urbina, 1997).

En un modelo murino (animales experimentales de la Familia de los roedores, donde se reproduce la infección y algunas características patológicas de la enfermedad humana) de la enfermedad de Chagas aguda (infección con la cepa Y), el D0870 fue 30-50 veces más potente que el nifurtimox o el ketoconazol en prolongar la supervivencia de los animales, además, en dosis ≥ 15 mg/kg/día por un total de 28 dosis fue capaz de proteger del 85-100% de los animales infectados. Usando diferentes criterios, incluyendo el parasitológico, serológico y la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se encontró que más del 60% de los animales infectados fueron curados parasitológicamente, mientras que no se observó cura con nifurtimox o ketoconazol. En un modelo murino de la fase crónica de la enfermedad de Chagas (infección con la cepa Bertoldo), el D0870 en una dosis de 15-20 mg/kg/día, administrado en días alternados por un total de 28 dosis, produjo el 90-100% de protección, con un 80-90% de cura parasitológica, mientras que el nifurtimox o ketoconazol administrados diariamente por un total de 43 dosis, no tuvo efectos significativos en la supervivencia o en el número de animales curados con respecto a los animales no tratados (Urbina, et al., 1996a). El D0870 también mostró ser efectivo contra seis diferentes cepas de *T. cruzi* (UNDP/ World Bank WHO, 1997).

4.1.5.e.- ICI 195,739 en combinación con otros medicamentos

En un estudio "in vivo", el ICI 195,739 (1 mg/kg) durante 5 días fue suficiente para proteger a los ratones de la muerte 30 días después de iniciada la infección, pero no se observó cura parasitológica. Cuando el ICI 195,739 (0.5 mg/kg/día) se asoció con terbinafina (100 mg/kg/día), en una dosis en la que por sí misma no indujo protección, se observó aumento de la actividad protectora. Extendiendo el tratamiento a 15 días, el ICI 195,739 (1mg/kg/día) proporcionó protección definitiva contra la muerte y cura parasitológica en el 50% de los ratones diez semanas después de iniciada la infección, pero no se observó aumento de la actividad del ICI 195,739 (0.5 mg/kg/día) cuando se asoció con terbinafina (100 mg/kg/día) (Maldonado, et al., 1993).

4.1.5.f.- SCH 56592

{(-)-4-[4-[4-[4-[[2R-cis]-5(2,4-difluorofenil)-tetrahidro-5-(1H-1,2,4-triazol-1-ilo-metil) furan-3-ilo]metoxi]fenil]-2,4-dihidro-2-[(S)-1-etil-2(S)-hidroxipropil]-3H-1,2,4-triazol-3-ona (figura 14). Es un nuevo derivado triazólico experimental con un amplio espectro antifúngico sobre micosis experimentales.

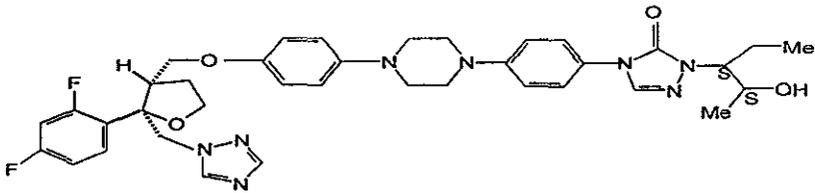


Figura 14. Estructura química del SCH 56592.

Se demostró que el mecanismo de acción primario en *T. cruzi* es la inhibición de la esteroil C-14- α -desmetilasa (Urbina, et al., 1998).

“In vitro” el SCH 56592 (30 nM) bloqueó la proliferación de epimastigotes (cepa Y y EP), ésta concentración fue 30-100 veces más baja que la requerida para el ketoconazol y el itraconazol. Contra amastigotes, cultivados en células Vero, la concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 0.3 nM, como en el caso de epimastigotes, fue nuevamente 33-100 veces más baja que las requeridas para el ketoconazol y el itraconazol (Urbina, et al., 1998).

En modelo murino de la enfermedad aguda de Chagas (cepa Y) el SCH 56592 en dosis ≥ 10 mg/kg/día por un total de 43 dosis, permitió el 85%-100% de supervivencia y 90-100% de cura en los animales, demostrado con pruebas parasitológicas (xenodiagnóstico, hemocultivo, hemoinoculación en ratones recién nacidos), serológicas y PCR, mientras que con ketoconazol en dosis de 30 mg/kg, sobrevivieron el 60% de los animales, pero únicamente con un 20% de cura parasitológica. En un modelo murino de la enfermedad crónica (cepa Bertoldo), el SCH 56592, fue más efectivo que el ketoconazol, protegiendo del 75-85% de los animales contra la muerte, con 60-75% de cura parasitológica, mientras que con el ketoconazol no se observó cura parasitológica. La autopsia de los controles (no tratados) reveló un aumento significativo en el tamaño del corazón y bazo con lesiones inflamatorias características de cardiomiopatía chagásica murina y humana, mientras que los animales tratados con SCH 56592 en dosis terapéuticas mostraron morfología normal (Urbina, et al., 1998). También este compuesto demostró ser capaz de inducir cura parasitológica en infecciones experimentales de *T. cruzi* causadas por cepas de moderada a alta resistencia al benzimidazol o nifurtimox (citado en Urbina, et al., 1998).

4.1.6.- COMPLEJOS ORGANOMETÁLICOS

El uso de compuestos organometálicos como agentes terapéuticos está actualmente bien establecido, principalmente como antitumorales. Debido a las similitudes entre el metabolismo de las células tumorales y tripanosomas, se puede aplicar este concepto para el tratamiento de la enfermedad de Chagas (citado en Sánchez-Delgado, et al., 1993).

El clotrimazol (CTZ) (figura 15), un derivado imidazólico con actividad contra varias especies de hongos patógenos, actinomicetos, bacterias gram positivas y ciertos anaerobios, mostró actividad contra *T. cruzi*, cuando se le adicionó un metal de transición (Rutenio) a la molécula. Actualmente se desconoce su modo de acción en *T. cruzi*.

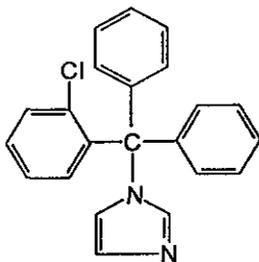


Figura 15. Estructura química del clotrimazol

“In vitro” el complejo $RuCl_2 (CTZ)_2$ causó una inhibición del 90% en la proliferación de epimastigotes en una concentración de $10^{-5} M$ y produjo lisis celular, mientras que el clotrimazol exhibió un modesto efecto en el índice de crecimiento a la misma concentración. La concentración que causó el 50% de inhibición del crecimiento (CE_{50}) con la adición de clotrimazol o su análogo metálico fue $3 \times 10^{-6} M$ y $10^{-7} M$ respectivamente. Los amastigotes en células Vero fueron más susceptibles con el complejo metálico. La erradicación del parásito se llevó a cabo en una concentración de $3 \times 10^{-7} M$ para el y $3 \times 10^{-8} M$ con el complejo metálico. Además el complejo metálico no mostró toxicidad en las células Vero en las concentraciones evaluadas (Sánchez-Delgado, et al., 1993).

Recientes estudios “in vitro” de nuevos compuestos organometálicos de Rodio (I) y (III) de fórmula estructural $[(Rh (I) (CO)_2(Cl)](L)]^0$ y $[Rh (III) (L)_n X_2]^+X^-$ respectivamente, exhibieron inhibición del crecimiento de epimastigotes de *T. cruzi*. Los

complejos de $R(I) L=5\text{-Cl-2-metil-benzotiazol}$ y el dímero $[(Rh_2)(CO)_4(Cl)_2]^0$ inhibieron totalmente el crecimiento de epimastigotes en dosis de $100 \mu\text{g/mL}$, pero fueron ineficaces a dosis más bajas. El complejo de $Rh(III) L_n=(2\text{-hidroxibenzotiazol})_4$; $X=Br$ en dosis de 10 y $100 \mu\text{g/mL}$ inhibió totalmente el crecimiento. El complejo de antimonio (III) de fórmula general $[(Sb(III)(L)_3]^0$ con el ligando $L=N,N\text{-morfolinditiocarbamato}$ inhibió el crecimiento de epimastigotes en concentraciones de 1 , 10 y $100 \mu\text{g/mL}$, después de 24 horas de incubación (Mesa-Valle, et al., 1993).

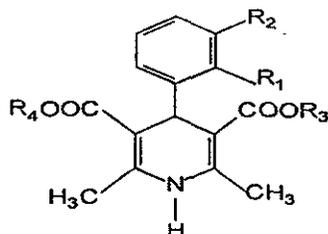
Los complejos $Os(III)\text{-}2,4\text{-dinitroimidazol ditiocarbamato}$, $Os(III)\text{-}4\text{-nitroimidazol ditiocarbamato}$, $Os(III)$ benzimidazol ditiocarbamato "in vitro", inhiben la síntesis de proteínas, DNA y RNA, así como también la actividad enzimática de la succinato deshidrogenasa, malato deshidrogenasa y piruvato cinasa (Castilla, et al., 1996). Estos compuestos metálicos "in vitro" indujeron altos porcentajes de índice de inhibición de epimastigotes de *T. cruzi* (cepa Maracay) y superaron un 70% de inhibición en $100 \mu\text{g/mL}/24$ horas. Sin embargo los tres compuestos mostraron moderada citotoxicidad en células Vero y macrófagos J774A.1 de ratón (Castilla, et al., 1996).

4.1.7.- 1,4-DIHIDRO-PIRIDINAS

T. cruzi tiene un complejo ciclo de vida involucrando fases funcionales y morfológicas diferentes que se adaptan a una variedad de condiciones impuestas por el ambiente del vector y del huésped mamífero. Mientras la fase amastigote de *T. cruzi* prolifera en un medio donde la concentración de calcio libre es muy baja (del orden de $0.1 \mu\text{M}$), las fases de tripomastigote y epimastigote encontrados en el vector, sobreviven en un medio donde la concentración de calcio libre es $10,000$ veces mayor (del orden de 1 mM). Estos cambios de calcio libre durante el ciclo de vida de este parásito, sugieren que la homeostasis del calcio debe ser eficiente para apoyar estos cambios (Moreno, et al., 1991; Docampo, 1993). Dos sistemas de transporte de calcio intracelular han sido descritos en *T. cruzi*: a) la captación de calcio por la mitocondria ocurre por un mecanismo electroforético. Tiene una alta capacidad y baja afinidad por el calcio y es capaz de amortiguar concentraciones de calcio externas de $0.6\text{-}0.7 \mu\text{M}$ y, b) la captación por el retículo endoplásmico. Tiene una baja capacidad y una alta afinidad por el calcio y es capaz de regular concentraciones de calcio externas de $0.05\text{-}1.0 \mu\text{M}$ (Docampo, 1993).

Recientemente se ha explorado la posibilidad que los medicamentos que interfieren con la homeostasis del parásito, por ejemplo, los antagonistas del canal del calcio podrían tener efectos en el crecimiento de cultivos de *T. cruzi*. Una serie de 6 derivados de nitro-aril 1,4-dihidro-piridinas (nifedipina, nitrendipina, nicardipina, nimodipina, nisoldipina, furnidipina) (Tabla 6), antagonistas del calcio, inhibieron el crecimiento celular y el índice de consumo de oxígeno de epimastigotes de *T. cruzi* (cepa Tulahuén) "in vitro" e "in vivo" (Núñez-Vergara, et al., 1997). Con el propósito de encontrar una posible explicación de estos efectos inhibitorios en *T. cruzi*, dos antagonistas de calcio, el verapamil y el diltiazem, no estructuralmente relacionados con las 1,4-dihidro-piridinas, se

Tabla 6. Estructura química de análogos de nitro-aril 1,4-dihidro-piridinas.



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Nifedipina	NO ₂	H	CH ₃	CH ₃
Nitrendipina	H	NO ₂	CH ₃	CH ₂ CH ₃
Nicardipina	H	NO ₂	CH ₃	CH ₂ CH ₂ NCH ₃ CH ₂ C ₆ H ₅
Nimodipina	H	NO ₂	CH(CH ₃) ₂	(CH ₂) ₂ OCH ₃
Nisoldipina	NO ₂	H	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂
Furnidipina	NO ₂	H	CH ₃	CH ₂ C ₄ H ₇ O

probaron en los mismos experimentos. Los resultados del efecto en el crecimiento de cultivos y el consumo de oxígeno, demostraron que el verapamil y el diltiazem, aun a una concentración de 1000 μ M no mostraron ningún efecto inhibitorio. Estos resultados indicaron que bajo estas condiciones experimentales, los efectos de los derivados de las 1,4-dihidro-piridinas no están relacionados directamente con una acción en la homeostasis de

calcio en el parásito. La nicardipina exhibió los efectos inhibitorios más potentes en el índice de crecimiento con respecto a los otros derivados. La concentración de nicardipina que inhibió el 50% del crecimiento del cultivo celular (I_{50}) fue de 70 μM . También este compuesto presentó el más alto índice de inhibición de consumo de oxígeno, la concentración de este compuesto requerida para inhibir el 50% de la respiración (I_{50}) fue de 26 μM "in vivo" (parásitos intactos) y 325 μM "in vitro" (en la mitocondria "in situ"). Se encontró una buena correlación lineal entre los efectos inhibitorios del crecimiento del cultivo celular y el índice de consumo de oxígeno. Las cepas LQ y el clon Dm 28c no mostraron diferencias en la sensibilidad a estos medicamentos en el crecimiento de cultivos y consumo de oxígeno, con respecto a los resultados obtenidos con la cepa Tulahuén.

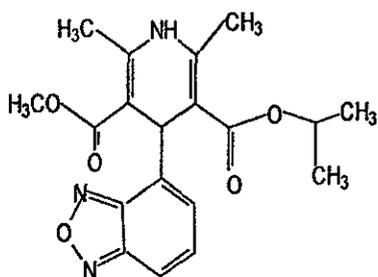


Figura 16. Estructura química de la isradipina

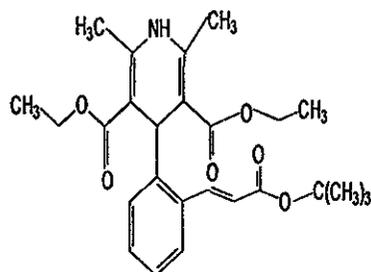


Figura 17. Estructura química de la lacidipina

La isradipina (figura 16) y la lacidipina (figura 17) dos nuevas 1,4-dihidro-piridinas antagonistas del canal del calcio, produjeron la inhibición del crecimiento de cultivos y el consumo de oxígeno en epimastigotes de *T. cruzi* (cepa Tulahuén), ambos "in vitro" (en la mitocondria "in situ") e "in vivo" (parásitos intactos). La isradipina inhibió un 66.3% el crecimiento de epimastigotes cuando se adicionó en una concentración de 30 μM al cultivo, sin embargo, la lacidipina a la misma concentración inhibió sólo el 29.9% del crecimiento. La I_{50} de la isradipina y lacidipina fueron 20.8 y 33.5 μM respectivamente. La I_{50} del nifurtímox y benznidazol fueron 20 y 40 μM respectivamente. En la inhibición del índice de consumo de oxígeno, la isradipina fue el derivado más potente "in vivo" (parásitos intactos). En cambio la lacidipina exhibió el efecto más potente en experimentos "in vitro" (en la mitocondria "in situ"). Para evaluar la posible relación entre la actividad

bloqueadora de los canales del calcio y los efectos de la isradipina y lacidipina aquí encontrados, el verapamil y el diltiazem se probaron en las mismas condiciones experimentales. El verapamil y el diltiazem no mostraron ninguna actividad inhibitoria en el crecimiento de cultivos y el consumo de oxígeno aun a concentraciones mayores de 100 μM . Estos resultados indicaron que los efectos tripanocidas por la isradipina y lacidipina no están relacionados con la alteración de la homeostasis del calcio. Los estudios en el efecto de la isradipina y lacidipina en diferentes cepas tales como LQ y el clon Dm 28c no mostraron diferencias en la susceptibilidad a estos medicamentos en el crecimiento de cultivos y consumo de oxígeno cuando se compararon con respecto a la cepa Tulahuén. (Núñez-Vergara, et al., 1998).

4.1.8.- GANGLIÓSIDOS

Los glicolípidos se distinguen por tener un residuo de carbohidrato polar hidrófilo en la cabeza de la molécula, generalmente D-glucosa o D-galactosa. Dos clases importantes de estos compuestos son los cerebrósidos y los gangliósidos (Avers, 1991).

Con el antecedente del efecto inhibitorio de los gangliósidos sobre la fosfolipasa A2 que juega un papel importante en el proceso de penetración de *T. cruzi* en las células huésped, se decidió investigar su efecto en el curso de infección de *T. cruzi*.

El tratamiento con gangliósidos totales de cerebro bovino (1 mg/kg durante cuatro semanas) disminuyó significativamente la parasitemia en modelo murino de miocarditis chagásica aguda (cepa Tulahuén). Ninguno de los controles sobrevivió después de 14 días posterior a la infección. Una supervivencia del 96% por un periodo de 30 días posterior a la infección se observó en los ratones tratados con gangliósidos o nifurtimox (25 mg/día). El análisis histológico del corazón de ratones tratados mostró zonas dispersas de infiltración mononuclear moderada y no se detectaron nidos de amastigotes, ni fibrosis. Los ratones no tratados presentaron alteraciones histopatológicas características de miocarditis aguda de Chagas. Estos resultados sugirieron que las dosis terapéuticas del nifurtimox y benznidazol, altamente tóxicas, podrían disminuirse significativamente si se administraron simultáneamente con gangliósidos (Luján, et al., 1993).

Bestetti (Bestetti, 1997c) sugirió que los gangliósidos pueden ser importantes en el tratamiento de la cardiomiopatía chagásica. Los pacientes con dilatación ventricular izquierda, aneurisma apical, arritmia ventricular y disfunción ventricular izquierda podrían beneficiarse con estos compuestos. Se observó un efecto benéfico con gangliósidos (10

mg/kg/día) en la historia natural de la enfermedad en modelo murino de miocarditis chagásica aguda, infectados con la cepa Colombiana. El estudio histológico mostró una disminución en la inflamación del miocardio. En un estudio clínico controlado en pacientes con la fase indeterminada y la forma de cardiopatía chagásica, el tratamiento con gangliósidos (40 mg/kg/día), mostró una mejoría de la función autonómica. Además, también se observó una disminución en la frecuencia de arritmias inducidas por hiperventilación y reflejo tusígeno (Bestetti, 1997c).

4.1.9.- HORMONAS

En estudios preliminares, se demostró la actividad del fenoxicarb (figura 18), un insecticida (modulador del crecimiento en insectos) y compuestos estructuralmente relacionados con hormonas juveniles de insectos contra la forma intracelular de *T. cruzi*, sin embargo, algunos de ellos fueron inactivos contra tripomastigotes (Schvartzapel, et al., 1997). Con el propósito de identificar compuestos más activos se sintetizaron y evaluaron "in vitro" una nueva serie de estos inhibidores antireplicativos de *T. cruzi*. Los derivados de isoprenoide 3-7-dimetilocta-2,6-dien-1-ilo-tetrahidro-2H-piran-2-ilo-éter (figura 19) y el 3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-ilo-tetrahidro-2H-piran-2-ilo-éter (figura 20) mostraron ser potentes inhibidores de la replicación de epimastigotes de *T. cruzi*. El primero fue el más activo y aun en concentraciones menores de 42 μ M mostró actividad (42% de inhibición).

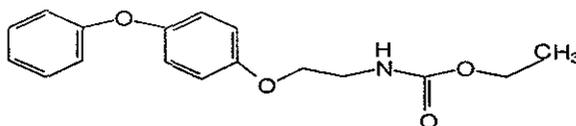


Figura 18. Estructura química del fenoxicarb

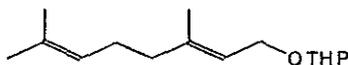


Figura 19. Estructura química del 3-7-dimetilocta-2,6-dien-1-ilo-tetrahidro-2H-piran-2-ilo-éter

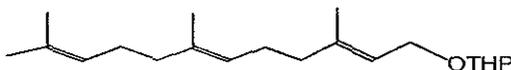


Figura 20. Estructura química del 3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-ilo-tetrahidro-2H-piran-2-ilo-éter

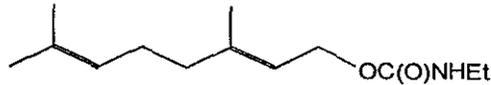


Figura 21. Estructura química del carbamato 3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-ilo- etilcarbamato

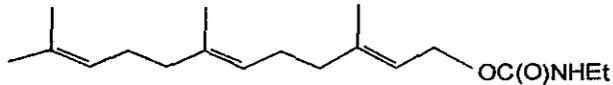


Figura 22. Estructura química del 3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-ilo-etilcarbamato

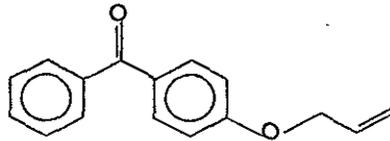


Figura 23. Estructura química del éter 4-benzoilfenil-2-propenilo

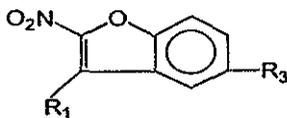
También los derivados de isoprenoide carbamato 3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-ilo-etilcarbamato (figura 21) y 3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-ilo-etilcarbamato (figura 22) fueron inhibidores activos, pero en menor grado que los derivados del éter tetrahidropiránilo. Considerando el alto índice de actividad observado en el compuesto éter 4-benzoilfenil-2-propenilo (figura 23), se señaló que una porción de éter alílico como extremo polar de estos inhibidores, es un grupo prometedor para el diseño de nuevos medicamentos (Schvartzapel, et al., 1997).

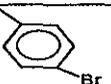
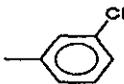
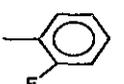
4.1.10.- NITROBENZOFURANOS

Con el objetivo de identificar especies químicas con índices terapéuticos más favorables que el nifurtímox, se evaluaron en el ratón una nueva serie de nitrobenzofuranos contra *T. cruzi* (Tabla 7). Se desconoce el mecanismo de acción de éstos, pero tal vez sea similar al de los nitrofuranos. A partir del desarrollo de 60 análogos de nitrobenzofuranos,

sólo 23 fueron efectivos en cuanto a su actividad supresora contra tripomastigotes de *T. cruzi* (cepa brasileña) en concentraciones de 0.8125-104 mg/kg/día.

Tabla 7. Estructura química de análogos de nitrobenzofuranos.



Compuesto	R ₁	R ₃
1	C ₆ H ₅	CH ₂ COOH
2		CH ₂ COOH
3		CH ₂ COOH
4		CH ₂ COOH

El compuesto más activo fue el 1 con los grupos R₁=fenilo y R₃ =carboxihidroxi, éste fue 1.6 veces más efectivo que el nifurtimox. En las dosis empleada no hubo evidencia de toxicidad. Los compuestos 2-4 con los grupos R₃=carboxihidroxi y R₁= 4-bromofenilo, 3-clorofenilo, 2-fluorofenilo respectivamente, fueron tan efectivos como el nifurtimox (Kinnamon, et al., 1998b).

4.1.11.- NUCLEÓSIDOS

El sinefungin, es un nucleósido natural que ha mostrado ser efectivo contra *Plasmodium falciparum* y varias especies de *Leishmania* y *Trypanosoma* "in vitro" e "in vivo". Ya que el sinefungin ha mostrado serios efectos secundarios "in vivo" en animales y en humanos, la preparación de sus análogos está tomando importancia para el desarrollo de nuevos compuestos. Parece que el mecanismo de acción del sinefungin (figura 24) y su análogo cíclico (figura 25) implica la inhibición de la síntesis de DNA.

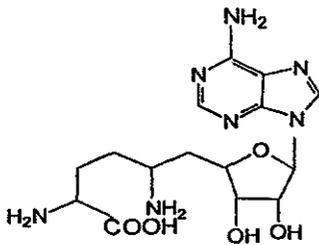


Figura 24. Estructura química del sinefungin

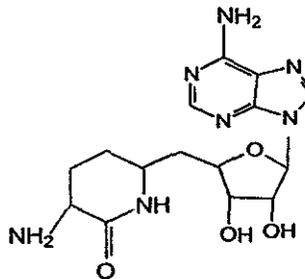


Figura 25. Estructura química del análogo cíclico del sinefungin

En los resultados obtenidos "in vitro" del efecto inhibitorio del sinefungin y su análogo cíclico sobre la multiplicación de 12 diferentes cepas de epimastigotes de *T. cruzi*, se observó una amplia variación (700-800 veces) en la sensibilidad a dichos medicamentos. Los valores de la concentración que causaron el 50% de inhibición del crecimiento (CE_{50}) fueron similares con el sinefungin y su análogo cíclico, 0.38 $\mu\text{g/mL}$ y 0.31 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. No se observó inhibición de la multiplicación de tripomastigotes en ninguna cepa con una concentración de 50 $\mu\text{g/mL}$ con ambos medicamentos. Además, se indujo resistencia parasitaria por la incubación prolongada con los medicamentos (Avila, et al., 1993).

4.1.12.- PIRIMIDINAS

Entre varios análogos de pirimidinas evaluados "in vitro" contra *T. cruzi*, el 3'-azido-3'-desoxi-timidina (zidovudina) (figura 26) inhibió el índice de infección y el crecimiento de amastigotes en células de HeLa, con concentraciones causando el 50% de inhibición del crecimiento (CI_{50}) de 0.5-1.0 μM .

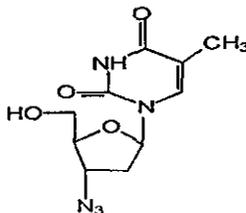


Figura 26. Estructura química de la zidovudina

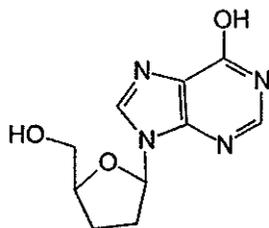


Figura 27. Estructura química de la 2',3'-didesoxi-inosina

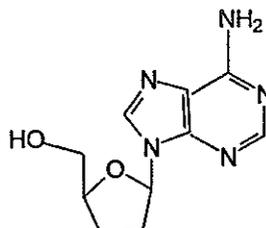


Figura 28. Estructura química de la 2',3'-didesoxi-adenosina.

Los agentes anti-VIH 2',3'-didesoxi-inosina (figura 27) y 2',3'-didesoxi-adenosina (figura 28) causaron una disminución en el crecimiento de amastigotes en células HeLa en concentraciones de 0.1-50 μM . En fibroblastos 3T3 de ratón, la zidovudina inhibió el índice de infección en las células huésped y la replicación de amastigotes con CI_{50} de 0.2-0.3 μM (Nakajima-Shimada, et al., 1996).

4.1.13.- POLIAMINAS

Los investigadores están interesados en los papeles que las poliaminas y su biosíntesis tienen lugar en las funciones de *T. cruzi* por dos razones principales: primero se ha demostrado que la infectividad de *T. cruzi* y su replicación se ve perjudicada cuando la producción de agmatina o putrescina es disminuida por inhibidores de DL- α -difluorometilarginina. En segundo lugar las poliaminas son conocidas por ser factores clave en la regulación del crecimiento en mamíferos y en varias especies de parásitos. Con reportes previos "in vitro" e "in vivo" de la actividad de derivados de poliaminas en varios protozoarios patógenos, por ejemplo *Leishmania donovani*, *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium berghei* (citado en Majumder y Kierszenbaum, 1993b) se decidió explorar el efecto de poliaminas N,N'-tiofen-sustituídas (MDL 28302 (figura 29) y MDL 29431 (figura 30)) y N,N'-bis(bencil) sustituídas (MDL 27695 (N,N'-bis(3-[(fenilmetil)amino]propil)-1,7-diamino-heptano y MDL 27699 (N,N'-bis(3-[p-sulfometil-fenilmetil)amino]propil)-1,8-diamino-octano) en la inhibición de la infectividad y multiplicación intracelular de *T. cruzi* "in vitro". Algunas modificaciones biomoleculares del MDL 28302 y MDL 29431 parecen ser requeridas para que sus actividades inhibitorias se

lleven a cabo, ya que los efectos de estos compuestos en la infectividad de *T. cruzi* fueron anulados por un inhibidor específico de la poliamino oxidasas. No hay información con respecto al posible mecanismo de acción de los análogos de poliaminas N,N-bis(bencil) sustituidas.

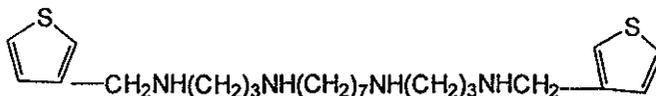


Figura 29. Estructura química del MDL 28302

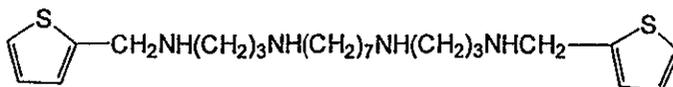


Figura 30. Estructura química del MDL 29431

Los cuatro análogos de poliaminas inhibieron significativamente la capacidad infectiva de *T. cruzi* en mioblastos de corazón de rata en una forma dependiente del tiempo. También inhibieron la replicación de amastigotes intracelulares en cultivos de mioblastos de corazón de rata (Majumder y Kierszenbaum, 1993a, b).

El 5'-{[(Z)-4-amino-2-butenil]metilamino}-5'-desoxiadenosina (MDL 73811), es un análogo descarboxilado de S-adenosil-L-metionina que inhibe específicamente e irreversiblemente la S-adenosil-L-metionina descarboxilasa. En cultivos de *T. cruzi* (cepa Tulahuén) y mioblastos de corazón de rata, el MDL 73811, en concentraciones de 10 ó 20 μ M, disminuyó la capacidad de *T. cruzi* para infectar y multiplicarse dentro de las células huésped (Yakubu, et al., 1993).

4.1.14.- N,N-DIMETIL-2-PROPEN-1-AMINAS

Varios derivados de 3-(4'-bromo[1,1-difenil]-4-ilo)-3-(4-X-fenil)-N,N-dimetil-2-propen-1-amina (figura 31) fueron evaluados "in vitro" para comparar su actividad en las tres diferentes formas morfológicas de *T. cruzi* y para correlacionar su actividad con la citotoxicidad en la línea celular V-79 de hámster.

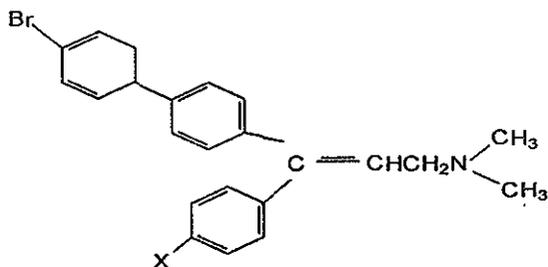


Figura 31. Estructura química del 3-(4'-bromo[1,1-difenil]-4-ilo)-3-(4-X-fenil)-N,N-dimetil-2-propen-1-amina.

En epimastigote y amastigote, la lisis completa del parásito ocurrió en dosis de 10-60 μM y en tripomastigotes en dosis de 40-200 μM , utilizando la cepa Y. La susceptibilidad en las diferentes formas morfológicas fue la siguiente: amastigotes > epimastigotes > tripomastigotes. Los compuestos (X=Br) y los no sustituidos (X=H) fueron los más activos contra tripomastigotes, su actividad en comparación con el nifurtimox fue 13 y 18 veces mayor respectivamente. En las formas proliferativas también se observó una mayor actividad con respecto al nifurtimox. Los resultados de citotoxicidad en la línea celular V-79 de hámster, mostraron que los derivados (X=Cl, Br, I), no sustituidos (X= H) y X=MeSO₂ fueron los menos tóxicos (De Conti, et al., 1996).

4.1.15.- PURINAS

4.1.15.a.- Alopurinol

El (4-hidroxipirazo [3,4-d] pirimidina); HPP (figura 32), es un análogo estructural de la purina hipoxantina. Está indicado para tratar la artritis gotosa crónica e hiperuricemia. El alopurinol y su metabolito primario, la aloxantina (oxipurinol), son inhibidores de la xantina oxidasa. Esta inhibición explica los principales efectos farmacológicos (Rodríguez-Carranza, 1995).

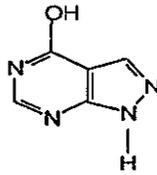


Figura 32. Estructura química del alopurinol

Todas las formas morfológicas de *T. cruzi* a través de una secuencia de reacciones metabólicas transforman el alopurinol a ribonucleósido monofostato (HPPR-MP); 4-aminopirazo [3,4-d] pirimidina (APP) ribonucleósido mono, di, y trifosfato (APPR-MP, APPR-DP y APPR-TP); este último es incorporado al RNA del parásito, inhibiendo la síntesis de RNAm. Estos análogos aminados son únicamente formados por el parásito y no por las células huésped (Marr y Docampo, 1986, Eakin, et al., 1997). Este compuesto es efectivo "in vitro" e "in vivo", con variaciones en la actividad antiparasitaria dependiente del tipo de cepa. Estas diferencias estuvieron asociadas con las ribonucleósido fosfotransferasas o nucleósido cinasas, en la habilidad del transporte del medicamento y en la acumulación de nucleótidos (de Castro, 1993a).

En un estudio reciente "in vitro", el alopurinol disminuyó el índice de infección de *T. cruzi* en células HeLa e inhibió la replicación de amastigotes, sin embargo, sobre tripomastigotes mostró un efecto letal pequeño (Aoki, et al., 1994; Nakajima-Shimada, et al., 1996).

El alopurinol no mostró actividad en pacientes en la fase aguda de la enfermedad tratados con dosis diarias de 20-30 mg/kg (de Castro, 1993a). En Argentina, en un estudio clínico para casos crónicos, el alopurinol en dosis de 600 o 900 mg/kg/día durante 60 días fue tan efectivo como el benznidazol y el nifurtimox en eliminar la parasitemia (por xenodiagnóstico) e inducir serología negativa (métodos serológicos convencionales), pero con una menor frecuencia de efectos secundarios (Gallerano, et al., 1990). de Castro (de Castro, 1993a) al revisar un gran número de compuestos contra *T. cruzi* en el período de 1980-1992, concluyó que la única posible alternativa al benznidazol y nifurtimox es el alopurinol, sin embargo la utilidad de este en pacientes infectados por *T. cruzi* requiere posteriores evaluaciones con estudios clínicos controlados antes de recomendar su uso. El

tratamiento de la enfermedad de Chagas crónica con alopurinol (8.5 mg/kg/día durante 60 días) en un informe preliminar en pacientes del área Metropolitana (zona hipoendémica) y de la región IV (zona hiperendémica) de Chile, con un seguimiento de doce meses, el xenodiagnóstico positivo previo al tratamiento se volvió negativo en el 80% de los pacientes, en cambio, sólo en el 7.1% de los pacientes con placebo, el xenodiagnóstico se volvió negativo. El electrocardiograma se normalizó en el 40% y 0% de los pacientes que recibieron alopurinol y placebo respectivamente. El alopurinol presentó pocos efectos secundarios. Se reportó exantema alérgico que cedió después de suspender el tratamiento, dolor abdominal y erupción cutánea. La tolerancia fue buena en el 97% de los pacientes (Apt, et al., 1994). Se publicaron recientemente los resultados del control del estudio anterior incluyendo una mayor casuística y determinación de anticuerpos líticos antes y después de la terapia. El control de los casos se mantuvo durante un periodo de cuatro años posterior al tratamiento. Los resultados negativos sucesivos en el xenodiagnóstico y/o lisis mediada por complemento durante el seguimiento, fueron considerados como criterio de cura parasitológica. El xenodiagnóstico positivo previo al tratamiento se volvió negativo en el 62% y 25% de los pacientes (con forma indeterminada o cardiopatía chagásica) del grupo del alopurinol y placebo respectivamente. Se observó cura parasitológica en el 44% de los pacientes del grupo de la forma indeterminada tratados con alopurinol. La serología con métodos convencionales persistió positiva sin variación durante los cuatro años de seguimiento, excepto en 9 casos en los cuales los resultados por hemaglutinación indirecta disminuyeron. El alopurinol fue bien tolerado por los pacientes (90.3%). Tres pacientes (1.6%) suspendieron el tratamiento debido a salpullido severo o síndrome de Stevens-Johnsons (Apt, et al., 1998).

El uso del alopurinol (600-900 mg/kg/día durante dos meses) en el tratamiento de la reactivación de la enfermedad de Chagas después del transplante de corazón, pareció ser seguro y efectivo. En los dos casos en estudio, el alopurinol mejoró la condición clínica e histopatológica y no hubo reactivación de la enfermedad en el tiempo de seguimiento (3 y 12 meses) aun con continua medicación inmunosupresiva. Uno de los pacientes desarrolló leucopenia moderada, que desapareció con la disminución de la dosis de la terapia inmunosupresiva. El otro paciente no presentó ningún efecto secundario (Almeida, et al., 1996). En un reciente reporte se confirmó nuevamente la eficacia del alopurinol para tratar la reactivación de la enfermedad de Chagas después del transplante de corazón (Tomimori-Yamashita, et al., 1997). También se ha descrito la reactivación de la

enfermedad de Chagas con manifestaciones dermatológicas después del trasplante de corazón. Estas lesiones desaparecieron después de dos meses de tratamiento con alopurinol en una dosis de 600 mg/kg/día (Tomimori-Yamashita, et al., 1997).

4.1.16.b.- Varios

"In vitro", los derivados de purinas 3'-desoxi-inosina (figura 33), 3'-desoxi-adenosina (figura 34) y 3'-desoxi-guanosina (figura 35) en concentraciones de 50 μM mostraron un índice de infección de *T. cruzi* en células HeLa de 18.2%, 17.3% y 27% respectivamente, mientras que el del alopurinol utilizado como control fue de 36.9%.

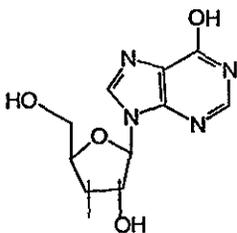


Figura 33. Estructura química de la 3'-desoxi-inosina

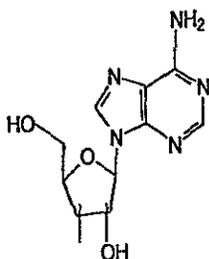


Figura 34. Estructura química de la 3'-desoxi-adenosina

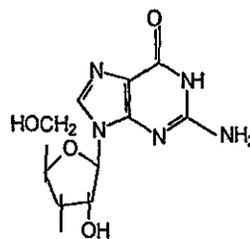


Figura 35. Estructura química de la 3'-desoxi-guanosina

Estos tres compuestos inhibieron el crecimiento de *T. cruzi* (medido por el número promedio de amastigotes por célula infectada) con concentraciones causando el 50% de inhibición del crecimiento (CI_{50}) de 10, 5 y 40 μM respectivamente, la CI_{50} para el alopurinol fue de 3 μM (Nakajima-Shimada, et al., 1996).

4.2.- CLASIFICACIÓN POR MECANISMO DE ACCIÓN

4.2.1.- AGENTES QUELANTES

La selección de agentes quelantes para su evaluación en el diseño de nuevos agentes quimioterapéuticos contra *T. cruzi*, obedece a razonamientos fundamentados en reportes previamente publicados de su actividad biológica y los factores estructurales que determinan su acceso a los sitios intracelulares (Singh, et al., 1997).

Con la actividad tripanocida de los agentes quelantes de Fe (III), 1-alquil-2-metil-3-hidroxi-4-piridona, se indicó que los análogos lipofílicos fueron generalmente más activos que los hidrofílicos. El mecanismo de acción de estos agentes quelantes parece involucrar el secuestro de Fe (III) de la superóxido dismutasa, ribonucleótido reductasa u oxidasas del parásito (Jones, et al., 1996; Rodríguez, et al., 1995). Con base a estos antecedentes, recientemente, se sintetizaron agentes quelantes de hierro (III) con un menor grado de carácter lipofílico. Los análogos de N-alquil-2-metil-3-hidroxipiridonas (1-bencil-2-metil-3-hidroxi-4-piridona (figura 36); 1-pentil-2-metil-3-hidroxi-4-piridona (figura 37)), N,N'-bis(o-hidroxibencil)-(\pm)trans-1,2-diaminociclohexano (figura 38), los análogos de N-alquil-2-etil-3-hidroxi-4-piridonas (1-pentil-2-etil-3-hidroxi-4-piridona (figura 39); 1-bencil-2-etil-3-hidroxi-4-piridona (figura 40)) en concentraciones de 100 μ M durante 72 horas de exposición mostraron altos índices de inhibición de crecimiento en epimastigotes de la cepa Y (57.6-69.0%). En la misma concentración, el benznidazol exhibió una inhibición del crecimiento del 72%.

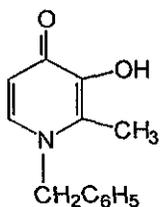


Figura 36. Estructura química del 1-bencil-2-metil-3-hidroxi-4-piridona

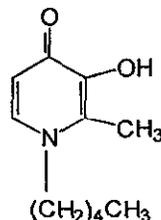


Figura 37. Estructura química del 1-pentil-2-metil-3-hidroxi-4-piridona

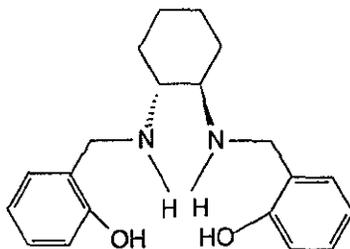


Figura 38. Estructura química del N,N'-bis(o-hidroxibencil)-(\pm)trans-1,2-diaminociclohexano

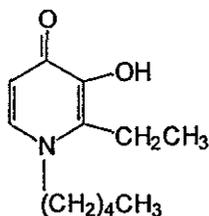


Figura 39. Estructura química del 1-pentil-2-etil-3-hidroxi-4-piridona

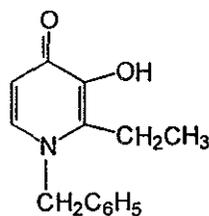


Figura 40. Estructura química del 1-bencil-2-etil-3-hidroxi-4-piridona

La adición de hierro exógeno disminuyó significativamente la actividad tripanocida de estos compuestos. El estudio de la relación estructura-actividad indicó que el aumento de actividad de algunos compuestos se debe a su incremento en la lipofilicidad, permitiéndoles su paso a través de la membrana celular de los epimastigotes (Singh, et al., 1997).

Otros agentes quelantes que también mostraron actividad contra epimastigotes en concentraciones de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ fueron N,N,N',N' -tetraquís(2-piridilmetil)etilendiamina (figura 41), dietilamina-N-carboditioato sódico (figura 42), piperidina-N-carboditioato sódico (figura 43) y varios de sus análogos (compuestos 1-4, tabla 8), un número de otros carboditioatos (o ditiocarbamatos) con grupos no polares en el grupo del nitrógeno (compuestos 5-8, tabla 9) y disulfuro de tetraetilouram (figura 45), profármaco de dietilamina-N-carboditioato sódico (figura 44) usado en el tratamiento del alcoholismo.

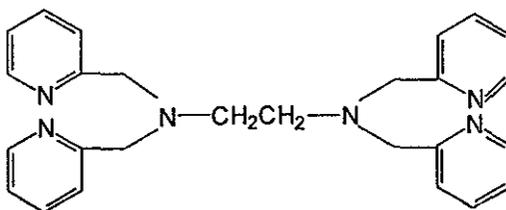


Figura 41. Estructura química del N,N,N',N' -tetraquís(2-piridilmetil)etilendiamina.

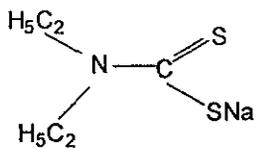


Figura 42. Estructura química del Dietilamina-N-carboditioato sódico

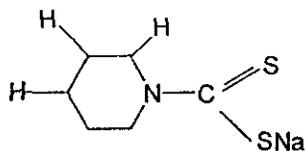
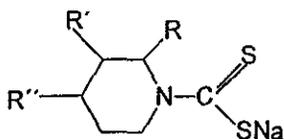


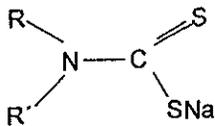
Figura 43. Estructura química del Piperidina-N-carboditioato sódico

Tabla 8. Estructura química de análogos de la piperidina-N-carboditioato sódico.



Compuesto	R	R'	R''
1	CH ₃	H	H
2	C ₂ H ₅	H	H
3	H	CH ₃	H
4	H	H	CH ₃

Tabla 9. Estructura química de análogos del carboditioato sódico.



Compuesto	R	R'
5	CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₃
6	CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃) ₂
7	(CH ₂) ₃ CH ₃	(CH ₂) ₃ CH ₃
8	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH(CH ₃) ₂

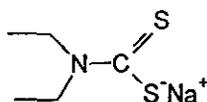


Figura 44. Estructura química de la dietilamina-N-carboditioato sódico

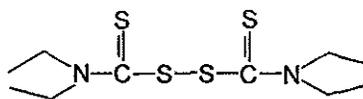


Figura 45. Estructura química del disulfuro de tetraetilthiouam

Se ha propuesto que el mecanismo de acción de estos compuestos tiene como fundamento la habilidad de interferir con el metabolismo metálico (de los metales esenciales hierro, cobre o zinc) en sitios intracelulares del parásito. Los resultados nuevamente indicaron que cierto grado de hidrofobicidad de la molécula quelante se correlaciona con el aumento de actividad tripanocida de estos compuestos (Rodríguez, et al., 1995).

En vista de los resultados preliminares de la evaluación del disulfuro de tetraetilthiouam (Disulfiram) y su metabolito dietilamina-N-carboditioato sódico (Rodríguez, et al., 1995) se revaluó su actividad y se comparó con el benznidazol. Ambos compuestos probaron ser efectivos contra las tres formas morfológicas de *T. cruzi*. El disulfuro de tetraetilthiouam (TETD) y dietilamina-N-carboditioato sódico (DECD) inhibieron el crecimiento de epimastigotes (cepa Y) en un 64.6% y 69.7% respectivamente, a una concentración de 50 µg/mL en una exposición de 72 horas. Ambos compuestos a la anterior concentración inhibieron el crecimiento de tripomastigotes en un 47.7% y 46.1% respectivamente. Sin embargo el benznidazol fue más efectivo contra esta forma morfológica con un 88.7% de inhibición en las mismas condiciones experimentales. El TETD, DECD y el benznidazol inhibieron las formas de amastigotes en fibroblastos 3T3 infectados en un 60% , 67% y 62% respectivamente (Lane, et al., 1996).

4.2.2.- INHIBIDORES DE LA BIOSÍNTESIS DE FOSFOLÍPIDOS

Se encontró que el ajoeno, un compuesto antiplaquetario derivado del ajo el cual exhibe propiedades antifúngicas, fue un efectivo agente antiproliferativo contra epimastigotes y amastigotes de *T. cruzi*. La inhibición del crecimiento se correlacionó con la disminución de fosfatidilcolina con un concomitante aumento en los niveles de fosfatidil-etanol-amina, mientras que el contenido total de fosfolípidos no cambió. El

contenido de ácidos grasos de la fracción fosfolipídica también se alteró, aumentando la relación de ácidos grasos saturados a no saturados (Urbina, 1997).

4.2.3.- INHIBIDORES DE $\Delta^{24(25)}$ ESTEROL METIL TRANSFERASAS

El ergosterol difiere del colesterol (esterol predominante en mamíferos) por la presencia de un grupo metilo 24 y dobles enlaces en la posición 7 y 22. Las tres reacciones enzimáticas que introducen el grupo 24 metilo extra y el doble enlace en la posición 22 del ergosterol no tienen contraparte en la biosíntesis de esteroides de mamíferos y pueden ser consideradas como blancos para el desarrollo de nuevos agentes antiparasitarios (Docampo y Schmuñis, 1997).

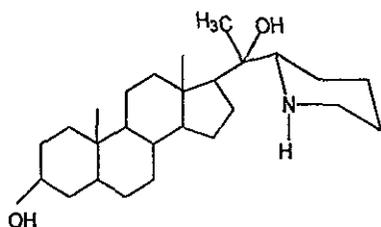


Figura 46. Estructura química del 22,26-azaesterol

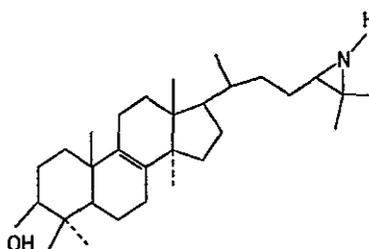


Figura 47. Estructura química del 24(R,S),25-epiminolanoesterol

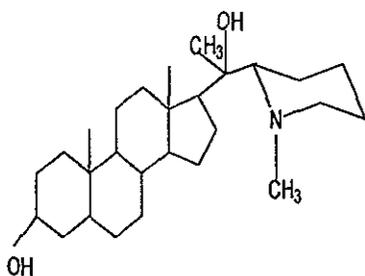


Figura 48. Estructura química del N-metil-22,26-azaesterol

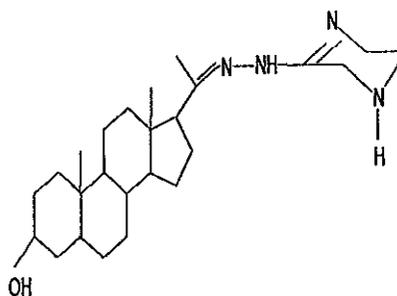


Figura 49. Estructura química de la 20-hidrazona-imidazol-2-ilo-5 α -pregnan-3 β -ol

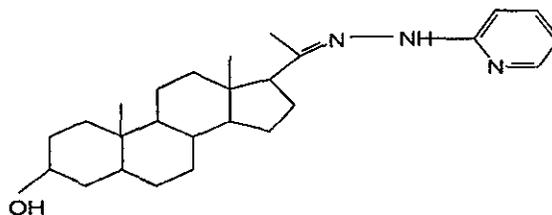


Figura 50. Estructura química de la
20-hidrazona-piridin-2-ilo-5 α -pregnan-3 β -ol

Se ha encontrado que el 22,26-azaesterol (AZA, figura 46) un análogo de colestanol y 24 (R,S),25-epimínolanoesterol (EIL, figura 47), dos inhibidores de $\Delta^{24(25)}$ esterol metil transferasa, son potentes agentes antiproliferativos de *T. cruzi* "in vitro" e "in vivo" en modelo murino. "In vitro" sobre epimastigotes causaron inhibición del crecimiento, pérdida de la viabilidad y lisis celular en concentraciones de 10 μ M y 6 μ M para AZA y EIL respectivamente. En todos los casos la acción antiproliferativa estuvo asociada con la desaparición completa de ergosterol y análogos 24-etil y la acumulación de esteroides 24-desalquilados. Contra amastigotes cultivados en células Vero, el AZA y el EIL erradicaron el parásito en una dosis de 100 nM y 300 nM respectivamente. "In vivo" en modelo murino de la enfermedad de Chagas, la administración de AZA (50 mg/kg/día) en 43 dosis permitieron la supervivencia en el 100% de los ratones. La supervivencia se correlacionó con un 90% de la disminución de parásitos circulantes en los animales tratados (Urbina, et al., 1996b).

"In vitro" los efectos del AZA y el IEL en la inhibición del crecimiento e inducción de lisis celular fueron potenciados por la combinación simultánea de los epimastigotes con inhibidores de esterol C-14 desmetilasa, tales como ketoconazol o el SDZ 89, 485. "In vivo" en modelo murino, los efectos antiparasitarios del azaesterol en eliminar la parasitemia o en aumentar los niveles de supervivencia fueron potenciados en tratamientos combinados con ketoconazol. En ningún caso se observaron efectos tóxicos del azaesterol solo o en combinación con ketoconazol en animales no infectados o infectados (Urbina, et al., 1996b).

Con la síntesis de nuevos análogos de esteroides N-metil-22,26-azaesterol (figura 48), 20-hidrazona-imidazol (figura 49), 20-hidrazona-piridinil-2-ilo-5 α -pregnan-3 β -ol (figura

50) se establecieron algunas correlaciones de la estructura con la actividad farmacológica. El derivado N-metil 22,26--azaesterol fue menos activo contra epimastigotes con respecto al 22,26 azaesterol y estuvo asociado con una menor actividad en la inhibición de $\Delta^{24(25)}$ esterol metil transferasa. Los dos derivados de hidrazona fueron más activos que el 22,26 azaesterol contra epimastigotes como inhibidores de $\Delta^{24(25)}$ esterol metil transferasas. Estos resultados indicaron que la sustitución de N-alquilo disminuyó la actividad probablemente debido a efectos estéricos, pero una larga cadena lateral con carga positiva deslocalizada mejoró tanto la acción inhibitoria como la selectividad (Urbina, 1997).

4.2.4.- INHIBIDORES DE PROTEASAS DE CISTEÍNA

Recientemente, diversos estudios con inhibidores de proteasas de cisteína han sugerido que la cruzaina (cruzipaina o gp57/51), que presenta la mayor actividad proteolítica en *T. cruzi* podría actuar en la interacción huésped-parásito y jugar un papel importante en su diferenciación, principalmente en la transformación de las formas intracelulares (Harth, et al., 1993; Engel, et al., 1998).

Con la finalidad de identificar la función de esta enzima en el ciclo de vida del parásito y su potencial como blanco para el diseño de nuevos medicamentos, una nueva generación de derivados de fluorometilcetonas (FMC), inhibidores de proteasas de cisteína se han sintetizado y evaluado en infecciones de *T. cruzi* en células mamífero "in vitro". Los derivados Z-Fenilalanina-Alanina-FMC y Z-Fenilalanina-Arginina-FMC fueron excelentes inhibidores de la actividad de la proteasa de cisteína purificada, 100% de inhibición se obtuvo cuando la proteasa de cisteína fue preincubada con 66 nM de Z-Fenilalanina-Alanina-FMC y 6.6 nM de Z-Fenilalanina-Arginina-FMC. Los dos inhibidores fueron efectivos, principalmente en la inhibición de la replicación de amastigotes y la posterior transformación a tripomastigotes en células Vero. Tentativamente se ha propuesto que la degradación de proteínas intracelulares en algunas fases de *T. cruzi* y en la transformación del parásito es mediado por esta proteasa. Una toxicidad mínima fue observada en las concentraciones inhibitorias necesarias para interrumpir el ciclo del parásito. La eficacia de estos inhibidores en puntos claves de la infección del parásito, aportó nueva información sobre la función de la proteasa de cisteína y también sugirió la importancia de esta enzima como un blanco potencial para el diseño de nuevos fármacos (Harth, et al., 1993).

El tratamiento de epimastigotes con Mu-F-hF-VSP_h (morfolincarbonil-fenilalanina-homofenilalanina-vinilfenilsulfona) y Mu-F-hF-FMC (morfolincarbonil-fenilalanina-homofenilalanina-fluometilcetona), inhibidores de proteasas de cisteína, en concentraciones de 5-50 μ M detuvieron la actividad de la cruzaina después de dos horas de tratamiento, sin embargo, la inhibición del crecimiento y la muerte de los epimastigotes (cepa Y) ocurrió después de 48 horas de haberse iniciado el mismo. El tratamiento con estos inhibidores produjo importantes alteraciones en la localización de la cruzaina de los epimastigotes e indujo alteraciones morfológicas mayores en la membrana nuclear, retículo endoplásmico y en el complejo de Golgi (Engel, et al., 1998).

4.2.5.- INHIBIDORES DE TOPOISOMERASA I

Las DNA topoisomerasas son atractivos blancos en la quimioterapia, no sólo porque son esenciales en la síntesis de ácidos nucleicos, sino también porque son sitios de acción molecular de numerosos agentes antibacterianos y antitumorales en uso clínico, tales como fluoroquinolonas, epotosido y camptotecina (Bodley y Shapiro, 1995).

En un estudio para investigar si la inhibición de la topoisomerasa de tipo I, podría tener efectos moleculares y citotóxicos en *T. cruzi*, se utilizó camptotecina (figura 51), un alcaloide anticancerígeno (Inhibidor de topoisomerasa I en eucariotes), con una estructura pentacíclica.

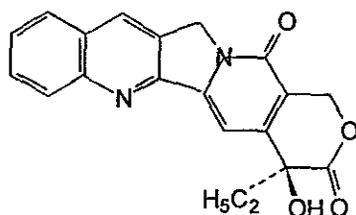


Figura 51. Estructura química de la camptotecina

El tratamiento con camptotecina promovió la formación de aductos de proteínas-DNA nuclear. Esto confirió evidencia, de que los tripanosomas tienen topoisomerasas I sensibles a la camptotecina. También se encontró que la camptotecina atrapa complejos

proteína-DNA minicircular, indicando la existencia de una topoisomerasa mitocondrial I en cinetoplastidos. Estos efectos moleculares fueron letales para las células de *T. cruzi* "in vitro", la concentración a la cual murieron el 50% de las células de *T. cruzi* (CE_{50}) fue 1.6 μ M (Bodley y Shapiro, 1995).

4.3.- CLASIFICACIÓN POR USO TERAPÉUTICO

4.3.1.- ANTICANCERÍGENOS

Con el antecedente que las principales diferencias bioquímicas entre las células de mamíferos y *T. rhodesiense* (Tripanosomiasis africana) aplican igualmente para *T. cruzi*, se realizó una evaluación de un gran número de compuestos anticancerígenos que han mostrado actividad supresiva contra *T. rhodesiense* (citado en Kinnamon, et al., 1998a).

De 76 compuestos anticancerígenos probados en modelo murino, se encontraron únicamente cinco compuestos con actividad contra tripomastigotes de *T. cruzi* en dosis de 0.185 -104 mg/kg/día. El más efectivo fue la cicloheximida (figura 52), la cual mostró ser seis veces más efectiva que el medicamento nifurtimox.

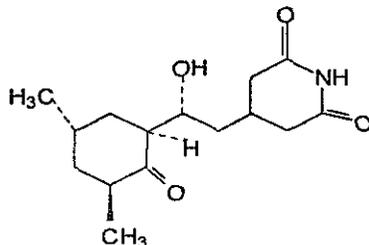


Figura 52. Estructura química de la cicloheximida

La cicloheximida es un antibiótico inhibidor de la síntesis de proteínas. Se desconoce exactamente como ocurre esta inhibición (Kinnamon, et al., 1998a).

En la búsqueda de nuevos compuestos para el tratamiento de Leishmaniasis y Tripanosomiasis, un grupo de isofosfolípidos alquilados se identificó con actividad contra Leishmania. Los isofosfolípidos alquilados se han desarrollado como agentes anticancerígenos y se han evaluado en modelos tumorales y de leucemia. Diversos

isofosfolípidos alquilados han reportado actividad contra *L. donovani* en cultivos y en animales experimentales (Croft, et al., 1996). En la evaluación de la actividad de edelfosina (figura 53), limofosina (figura 54) miltefosina (figura 55) y SRI 62-834 (figura 56), cuatro alquilisofosfolípidos anticancerígenos se probaron contra *T. cruzi* (cepa Y), "in vitro" todos los compuestos fueron activos contra amastigotes en macrófagos de peritoneo de ratón.

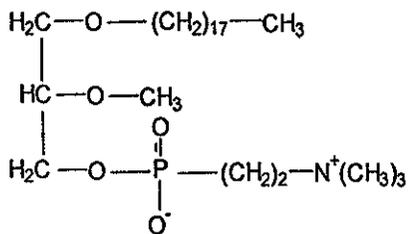


Figura 53. Estructura química de la edelfosina

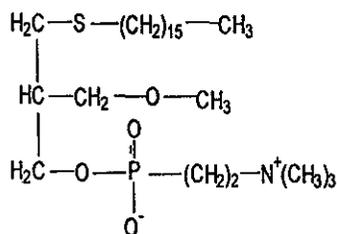


Figura 54. Estructura química de la limofosina

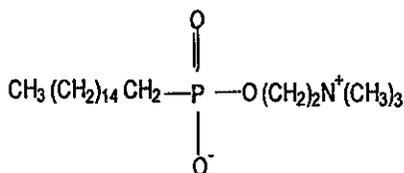


Figura 55. Estructura química de la miltefosina

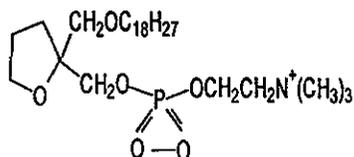


Figura 56. Estructura química del SRI 62-834

La concentración de estos compuestos requerida para inhibir el 50% de la proporción de macrófagos infectados (DE_{50}) fue 0.1 - 1.5 μM . La limofosina y miltefosina fueron los compuestos más activos, la DE_{50} de la limofosina y miltefosina fueron respectivamente 0.2 y 0.5 μM . La DE_{50} del nifurtimox fue de 2.7 μM . "In vivo", en ratones, la limofosina, miltefosina y edelfosina tuvieron actividad supresiva contra tripomastigotes de las cepa Y, y Tuluahuén, en cambio, la edelfosina mostró actividad únicamente contra la cepa Tuluahuén (Croft, et al., 1996).

V. DISEÑO DE INHIBIDORES DE ENZIMAS.

La estrategia general para el diseño de medicamentos en base a su estructura se basa en la premisa de que ciertas enzimas o receptores del parásito pueden ser blancos selectivos durante la infección del huésped. Esta selectividad puede deberse a vías metabólicas únicas presentes en el parásito, la interacción del medicamento en sitios susceptibles en las enzimas del parásito, o la habilidad para diseñar ligandos específicos y selectivos que se unan al sitio activo del receptor o enzima del parásito sin afectar a proteínas homólogas del huésped. Esta estrategia, representa un nueva perspectiva en la quimioterapia de infecciones parasitarias, alejándose de la vía clásica (descubrimiento de medicamentos al azar o a partir de síntesis química, por su habilidad de matar al parásito en cultivos) en la búsqueda de nuevos medicamentos. Esta estrategia emplea la combinación de nueva tecnología de biología molecular, cristalografía radiográfica y modelos computacionales y bioquímicos, aportando una estrategia tanto efectiva como costeable para la identificación de nuevos agentes antiparasitarios (McKerrow, et al., 1995). El primer paso, siempre es la determinación de la estructura tridimensional del blanco o del complejo blanco-inhibidor. Entonces, por medio de modelos computacionales, pueden proponerse inhibidores del blanco o modificaciones de éstos últimos. Estas moléculas son sintetizadas y evaluadas, y si demuestran ser prometedoras, se mejoran posteriormente (Schirmer, et al., 1995).

Las enzimas blanco cruzipaina, hipoxantina fosforibosil transferasa reductasa y tripanotión reductasa de *Trypanosoma cruzi* han sido utilizadas como modelo para el diseño de fármacos contra la enfermedad de Chagas.

5.1.- CRUZIPAINA

La cruzipaina una proteasa de cisteína, que ha demostrado ser la responsable de la mayor actividad proteolítica en *T. cruzi*, es crítica para el desarrollo y supervivencia del parásito en las células huésped, convirtiéndose esta enzima en un blanco potencial para el diseño de fármacos antitripanocidas. Con la estructura cristalizada de cruzaina con el inhibidor de proteasas de cisteína, Z-Fenilalanina-Alanina-Fluorometilcetona, se describieron las interacciones entre el sitio activo de la proteasa y el inhibidor. Esta información será de gran valor para el diseño de inhibidores y terapéuticos en un futuro próximo (McGrath, et al., 1995).

5.2.- TRIPANOTIÓN REDUCTASA

El glutatión realiza varias funciones de protección celular incluyendo aquellas contra radicales libres y derivados de oxígeno. En el curso de esta acción el disulfuro glutatión (GSSG) es formado por la glutatión reductasa (GR). Los tripanosomas no contienen GR, pero tienen una enzima análoga, la tripanotión reductasa (TR) y su sustrato es el disulfuro de tripanotión, T[S]₂. La TR del parásito, difiere de la GR del huésped, en procesar T[S]₂ pero no disulfuro de glutatión (GSSG). A diferencia la GR del huésped no procesa T[S]₂. Esta mutua exclusividad por el sustrato indica que el diseño selectivo de ligandos sería posible, haciendo a TR un importante blanco potencial para el diseño contra enfermedades antiparasitarias como leishmaniasis o tripanosomiasis. Este principio fue utilizado recientemente para el diseño de una familia de inhibidores tricíclicos de tripanotión reductasa, las fenotilazinas, bien conocidas como fármacos antidepresivos. Los estudios clínicos de estos compuestos demostraron que son inhibidores reversibles de tripanotión reductasa de *T. cruzi*, competitivos con tripanotión como sustrato y no competitivos con NADPH (Chan, et al., 1998).

También se elucidó la estructura tridimensional del complejo tripanotión reductasa y mecaprína (un inhibidor competitivo de TR que no afecta a la GR), mostrándose por primera vez las interacciones atómicas entre la TR y el ligando inhibitorio. Esta estructura forma la base para el diseño de nuevos inhibidores de *T. cruzi* con el objetivo de obtener fármacos más selectivos contra la enfermedad de Chagas (Jacoby, et al., 1996).

5.3.- HIPOXANTINA FOSFORIBOSIL TRANSFERASA

Los parásitos protozoarios, incluyendo *T. cruzi*, dependen únicamente de las vías de recuperación para la síntesis de nucleótidos de purinas. En cambio, en humanos y otros mamíferos, los nucleótidos de purina son sintetizados a través de reacciones de síntesis de novo y también a través de reacciones de recuperación. Esta ruta permite la reutilización de bases de purinas y nucleósidos derivados de la degradación de ácidos nucleicos o nucleótidos. Los tripanosomas transforman las bases de guanina e hipoxantina a IMP (monofosfato de inosina) y GMP (monofosfato de guanosina) respectivamente, por medio de una simple enzima, la hipoxantina fosforibosil transferasa (HPRT). Además, estudios en suero de humano indicaron que la base de purina disponible más abundante para el parásito en la vía de recuperación es la hipoxantina, por lo tanto, la HPRT juega un papel importante en los metabolitos de recuperación y en la supervivencia de los tripanosomas

en el huésped mamífero. Estas diferencias metabólicas en la síntesis de nucleótidos de purinas, hacen a la enzima hipoxantina fosforibosil transferasa de *T. cruzi*, un blanco potencial para el diseño de nuevos fármacos. En estudios preliminares, las condiciones de cristalización para la HPRT y la difracción con rayos X ya han sido reportados. Estos datos permitirán en posteriores estudios la mejor comprensión de las interacciones entre la HPRT y sus inhibidores, para aumentar su selectividad contra la enzima del parásito (Eakin, et al., 1997).

VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS

El medicamento ideal para el tratamiento contra las infecciones por *T. cruzi* debería ser: a) selectivo y potente, tanto contra los amastigotes intracelulares como para los tripomastigotes extracelulares; b) de acción rápida y completa; c) efectivo para impedir la evolución de las formas agudas e indeterminadas de la infección; d) carecer de efectos secundarios, y e) no causar resistencia parasitaria. La farmacodinamia del medicamento debe alcanzar concentraciones efectivas tripanocidas del medicamento en plasma sanguíneo, fluidos biológicos y tejidos. Su modo de acción debe ser estable y, de preferencia, efectivo por vía oral (López-Antuñano, 1997).

El benznidazol y el nifurtímox, únicos medicamentos actualmente en uso para el tratamiento clínico de la enfermedad de Chagas, están muy lejos del medicamento ideal para el tratamiento de la enfermedad, por la necesidad de esquemas terapéuticos prolongados (30-120 días); la ocurrencia de efectos secundarios, por ejemplo, en humanos el efecto secundario más importante es la polineuropatía periférica, cuando es severa puede proporcionar incapacidad para caminar y los síntomas pueden permanecer por varios meses después de la suspensión del tratamiento, otros efectos secundarios, son dermatitis, pérdida de peso, leucopenia y granulocitopenia, náusea, vómito e insomnio; así como por su efectividad principalmente en la fase aguda o reciente de la infección. Ambos, eliminan los síntomas, acortando el curso de la infección y la mortalidad en la fase aguda de la enfermedad, pero sólo proporcionan curación, tanto desde el punto de vista parasitológico como serológico aproximadamente en el 60% de los pacientes tratados y no previenen la fase crónica (de Castro, 1993a; Jernigan y Pearson, 1993; Coura, 1996). Sin embargo hay un consenso, que todos los pacientes deben tratarse en la fase aguda de la infección independientemente del mecanismo de transmisión (Fragata Filho, et al., 1995). Además, ambos medicamentos se han asociado con neoplasias malignas en modelos murinos y con la inducción de aumento de aberraciones cromosómicas en linfocitos periféricos de niños tratados (de Castro, 1993a; Teixeira, et al., 1994). El benznidazol recientemente se ha asociado con una alta incidencia de neoplasias malignas en pacientes chagásicos sometidos a trasplante de corazón (Bocchi, et al., 1994). A pesar de que los efectos mutagénicos y carcinogénicos no han sido reportados constantemente (Bestetti, 1997a, b), hay que tener en mente estos reportes cuando se administren los medicamentos, pero también, que la mortalidad en los pacientes no tratados en la fase aguda es del 2-8% (de Castro, 1993a).

Diversos estudios clínicos se han realizado empleando el nifurtimox y benznidazol en casos crónicos de la enfermedad. Sin embargo, la evaluación de la eficacia del tratamiento y su comparación con estudios preliminares es compleja debido a la diversidad de los siguientes factores en estudio: población de pacientes, dosis, duración del tratamiento, tiempos de seguimiento, métodos de control y falta de un criterio específico de curación. Además, el tratamiento en la fase crónica ha dado lugar a controversias con respecto a su eficacia para modificar el curso clínico de la infección y porque una proporción considerable de tales pacientes permanecen infectados. No está claro si al eliminar al parásito sería de utilidad, porque la patogénesis de las lesiones cardíacas y gastrointestinales puede tener una base autoinmune que no dependa de la persistencia de la infección del parásito. Sin embargo, evidencias recientes en modelos animales y en estudios clínicos han demostrado la importancia fundamental del parásito y el efecto benéfico del tratamiento etiológico en la fase crónica. Se han reportado regresión de las lesiones inflamatorias del corazón, vejiga y músculo esquelético en ratones tratados con benznidazol o nifurtimox comparados con no tratados (Segura, et al., 1994). Los pacientes observados después del tratamiento presentaron pocos cambios electrocardiográficos y una baja frecuencia de deterioro en su condición clínica con respecto a pacientes no tratados (Viotti, et al., 1994; Fragata Filho, et al., 1995; Coura, et al., 1997). Sin embargo, estos resultados son hipotéticos ya que la mayoría de ellos no fueron investigados bajo estudios clínicos controlados. Con respecto al efecto del tratamiento en la parasitemia, ésta disminuye o en algunas ocasiones se ha observado erradicación de la misma (12.5%-98%) (Fragata Filho, et al., 1995; Coura, et al., 1997). En pocas ocasiones, se produce seroconversión negativa por métodos convencionales (Fragata Filho, et al., 1995). Ha sido tema de discusión si esto se debe a la ineficacia de los medicamentos o a la existencia de antígenos comunes a *T. cruzi* y a las células huésped. Recientemente se ha demostrado que la serología convencional no es satisfactoria como criterio de curación en pacientes chagásicos con infección aguda y crónica (Galvao, et al., 1993). Actualmente, se acepta la desaparición de anticuerpos líticos en la forma de lisis mediada por el complemento, como parámetro de apoyo en el criterio de curación (Apt, et al., 1998).

La seguridad y eficacia del benznidazol en niños con infección crónica temprana, justifican la recomendación del tratamiento en niños seropositivos como una política de salud pública (de Andrade, et al., 1996).

En cuanto a los estudios comparativos del benznidazol y nifurtímox en la fase crónica de la enfermedad, el primero ha mostrado ser más efectivo en eliminar la parasitemia, así como también, en producir una menor frecuencia y severidad de efectos secundarios (Levi, et al., 1996; Coura, et al., 1997).

Como ya se han descrito variaciones en cuanto a la susceptibilidad de diferentes cepas del parásito al nifurtímox y al benznidazol en infecciones experimentales en modelos animales y en humanos en países de Sudamérica (Andrade, et al., 1996; Marreto y Andrade, 1994), es importante considerar la evaluación de la prevalencia de los diversos tipos de cepas y su respuesta a los medicamentos disponibles en las diferentes áreas geográficas de nuestro país, antes de recomendar alguna indicación terapéutica, porque un gran número de pacientes permanecen refractarios al tratamiento (de Castro, 1993a).

El tratamiento del benznidazol y nifurtímox en la infección congénita chagásica es bien tolerado y hasta el momento los resultados negativos de la parasitemia y las reacciones serológicas indican su efectividad (Arcavi, et al., 1993; Streiger, et al., 1995).

Aunque el benznidazol ha sido efectivo en disminuir la parasitemia y mejorar la condición clínica en pacientes con reactivación de la enfermedad de Chagas e infectados con el Virus de Inmunodeficiencia Humana, en cuestión de días o pocos meses mueren de otras causas no relacionadas con la enfermedad de Chagas. En algunos casos el estudio post-mortem han mostrado ausencia de evidencia de infección de *T. cruzi* en el cerebro y en miocardio. Estos resultados indican la necesidad de un diagnóstico temprano y el tratamiento inmediato para mejorar el pronóstico del índice de supervivencia de estos pacientes (Nishioka, et al., 1993; Ferreira, et al., 1997).

El uso del benznidazol como tratamiento profiláctico en el período preoperatorio al trasplante de corazón, en pacientes con cardiopatía chagásica no ha mostrado resultados consistentes en la prevención de la reactivación por *T. cruzi*. Sin embargo, en todos los pacientes los episodios de reactivación de la enfermedad fueron eliminados exitosamente con benznidazol (Bocchi, et al., 1993; de Carvalho, et al., 1996). Se requieren posteriores evaluaciones para establecer su utilidad como profiláctico en el tratamiento preoperatorio y confirmar su utilidad en el período postoperatorio.

Como la quimioterapia actual para el tratamiento de la enfermedad de Chagas no es completamente satisfactoria, se ha continuado la investigación para el desarrollo de medicamentos alternativos.

Al respecto se han evaluado clínicamente diversos medicamentos que ya están en el mercado indicados para el tratamiento de otras enfermedades no relacionadas con la enfermedad de Chagas y con conocida actividad contra *T. cruzi* por estudios previos. Actualmente, hay mayores avances en el tratamiento de la infección crónica por *T. cruzi*, con el estudio clínico aleatorio controlado del alopurinol, un antigotoso, y el itraconazol, un antimicótico. Los pacientes observados durante un periodo de cuatro años, tratados con alopurinol o itraconazol mostraron muy pocos efectos secundarios con respecto al benznidazol y nifurtimox. Tuvieron altos índices de curación parasitológica con respecto al grupo del placebo y produjeron mejoría en las evaluaciones del electrocardiograma. Con estos resultados, los autores recomiendan el alopurinol o el itraconazol para el tratamiento de los pacientes con enfermedad de Chagas crónica (Apt, et al., 1998). Sin embargo, el alopurinol no mostró actividad en el tratamiento de pacientes en la fase aguda de la enfermedad (de Castro, 1993a). Con respecto al itraconazol no hay reportes de estudios preliminares en esta fase de la enfermedad.

El primer reporte del alopurinol para tratar la reactivación de la enfermedad de Chagas después del trasplante de corazón, mostró ser seguro, efectivo en mejorar la condición clínica e histológica y en prevenir recurrencia de la enfermedad. Se necesitan evaluaciones adicionales para confirmar el efecto de este medicamento en el tratamiento de la reactivación de la enfermedad de Chagas (Almeida, et al., 1996).

La ventaja del desarrollo de medicamentos indicados para otras enfermedades, garantiza la disposición de información farmacológica, toxicológica y tolerancia de éstos en humanos, los cuales son factores de gran importancia para disminuir los costos del desarrollo de medicamentos para esta enfermedad.

Otros compuestos que se han propuesto en el tratamiento de pacientes con cardiopatía chagásica, son los gangliósidos, ya que han mostrado un efecto benéfico contra la infección por *T. cruzi* y en la miocarditis chagásica aguda en animales de experimentación, y en pacientes con enfermedad de Chagas crónica y disfunción autónoma, mejoría de la función autonómica y disminución de la frecuencia de arritmias. Aunque faltan por realizarse estudios clínicos aleatorios controlados deben realizarse para confirmar su eficacia en el tratamiento de la enfermedad de Chagas (Bestetti, 1997c).

También un gran número de compuestos han sido estudiados "in vitro" o en animales de experimentación. Las estrategias de investigación para la búsqueda de nuevos medicamentos fueron principalmente modificación molecular y detección selectiva de

medicamentos desarrollados para otras enfermedades, o la detección selectiva dirigida racionalmente en la alteración de vías metabólicas del parásito. En esta revisión los compuestos fueron probados principalmente en términos de inhibición del crecimiento de epimastigotes. Sin embargo, en términos terapéuticos es más importante probar el potencial de los medicamentos en la forma de tripomastigote y amastigote, las cuales son las formas que se encuentran en el huésped mamífero (de Castro, 1993a; Rodríguez, et al., 1995). En un menor número de compuestos se probó su efecto en la capacidad de inhibición del crecimiento de epimastigotes, invasión celular del huésped y multiplicación intracelular de *T. cruzi* (Majumder y Kierszenbaum, 1993a, b; Yakubu, et al., 1993, de Castro, 1993b).

Entre las drogas potencialmente susceptibles de ser probadas en seres humanos con alguna probabilidad de éxito se destacan dos derivados de azoles antifúngicos, el D0870 y el SCH 56592. Ambos mostraron efectos similares en prolongar el periodo de supervivencia e inducir altos índices de cura parasitológica en modelos murinos experimentales, tanto en la fase aguda de la enfermedad como en la crónica. En cambio con los medicamentos de referencia ketoconazol y/o nifurtimox no se observaron efectos curativos. Los resultados indican que estos dos compuestos podrían ser útiles en el tratamiento de la enfermedad de Chagas en humanos (Urbina, et al., 1996a; Urbina, et al., 1998).

La evaluación adicional de los compuestos más activos de los análogos de 8-amino-quinolinas es justificable por los resultados contra *T. cruzi* en ratones. Estos mostraron ser más efectivos que el nifurtimox y la primaquina, 13-14 y 3.5-4 veces, respectivamente (Kinnamon, et al., 1996, 1997).

Aunque en esta revisión se describieron los compuestos experimentales que mostraron actividad contra *T. cruzi* "in vitro", cabe destacar los análogos de poliaminas y agentes quelantes por los alentadores resultados previo. Algunos agentes quelantes de Fe (III), mostraron mayor o similar efectividad que el benznidazol contra epimastigotes y amastigotes (Jones, et al., 1996; Lane, et al., 1996; Singh, et al., 1997). En relación a los derivados de poliaminas, estos cumplieron los dos criterios más importantes para considerarlos como agentes potenciales quimioterapéuticos: inhiben la invasión de la célula huésped y la replicación intracelular por *T. cruzi* (Majumder y Kierszenbaum, 1993a, b; Yakubu, et al., 1993).

Los agentes quelantes, son un ejemplo de los compuestos cuyo desarrollo han obedecido a razonamientos fundamentados en el conocimiento adquirido de la relación estructura-actividad farmacológica y a la interferencia selectiva del metabolismo (metálico) del parásito. Reafirmando la utilidad potencial de estas estrategias para el desarrollo de nuevos medicamentos.

Debido principalmente a la falta de incentivo económico, la Industria Farmacéutica ha tenido un limitado interés en el desarrollo de nuevos agentes antichagásicos, así la investigación de agentes que exhiben actividad contra *T. cruzi*, aunque desarrollados para el tratamiento de otras enfermedades ha sido alentador. Entre los compuestos que han sido desarrollados en base a esta estrategia se encontró la cicloheximida, un agente anticancerígeno que mostró ser seis veces más efectivo que el nifurtimox (Kinnamon, et al., 1998).

Otra estrategia en la búsqueda de nuevos medicamentos contra enfermedades producidas por parásitos consiste en el "diseño de inhibidores de enzimas del parásito en base a su estructura tridimensional" e involucra el estudio de la identificación de moléculas clave para la supervivencia del patógeno (en base a: vías metabólicas únicas presentes en el parásito, o bien, si los parásitos tienen las mismas enzimas que el ser humano, se explotan las pequeñas diferencias entre éstas), la determinación de la estructura tridimensional para la identificación de residuos de ataque y el diseño computacional para la obtención de medicamentos que tengan como blanco el sitio que ya se tiene identificado. La importancia de esta estrategia es que tiene como finalidad el diseño de medicamentos que maten al parásito sin afectar al paciente, y además, si este mismo residuo de ataque lo comparten otros parásitos, varias enfermedades se pueden tratar con un simple agente terapéutico.

VII. CONCLUSIONES

Hay evidencias recientes que ha demostrado el efecto benéfico del benznidazol y nifurtimox en la fase crónica de la enfermedad de Chagas. Ambos medicamentos proporcionan mejoría clínica y prevención del progreso hacia la cardiomiopatía. En infecciones experimentales han mostrado regresión de las lesiones histopatológicas, sin embargo en pacientes con cardiomiopatía chagásica no se ha establecido todavía este beneficio.

Independientemente de las dudas del tratamiento sobre la acción real del parásito, o si la enfermedad es predominantemente autoinmune, es importante realizar la revisión de estudios preliminares y la reevaluación de los dos únicos medicamentos disponibles para esta enfermedad. Sin embargo, también hay que tener presente la importancia de la existencia del tratamiento sintomático de las consecuencias y complicaciones ocasionadas por esta enfermedad para incrementar la vida útil de los pacientes.

Aunque el benznidazol ha mostrado ser efectivo para el tratamiento de la reactivación de la enfermedad de Chagas por inmunosupresión, en pacientes infectados con el Síndrome de Inmunodeficiencia Humana o sometidos a transplantes de órganos, faltan por realizarse estudios controlados y aleatorios para confirmar su valor terapéutico en estos casos.

La evaluación de la eficacia del tratamiento tripanocida es difícil por los diferentes grupos de edad, tipos de casos y métodos de control en estudio, así como también lo es la evaluación de la respuesta parasitológica, serológica y clínica. Deben establecerse criterios específicos de cura para definir los efectos de la quimioterapia contra la enfermedad de Chagas en las fase indeterminada y crónica de la enfermedad.

Un importante avance en el tratamiento de la fase crónica de la enfermedad se ha presentado con los resultados clínicos del alopurinol y el itraconazol. Ambos muestran buena tolerancia, pero no producen porcentajes del cien por ciento de cura parasitológica y normalización del electrocardiograma. Además, no tienen ningún papel en el tratamiento contra la fase aguda de la enfermedad.

Con los reportes alentadores recientes del D0870 y el SCH 56592 en animales de experimentación, se sugiere su uso para estudios clínicos en un futuro próximo.

En base a los resultados clínicos y en fase experimental reportados hasta la fecha, el nifurtimox y el benznidazol aunque no son considerados como agentes ideales, continúan

siendo los mejores medicamentos para el tratamiento de la enfermedad de Chagas, particularmente en la fase aguda y en la infección crónica reciente.

Por la inexistencia de información del tratamiento de esta enfermedad en nuestro país y con los antecedentes de los resultados clínicos de países de Sudamérica, hay que estimular la reflexión para la evaluación clínica de los dos únicos medicamentos disponibles en las diferentes áreas geográficas de la República de Mexicana.

Aun falta por desarrollarse un agente quimioterapéutico contra las infecciones producidas por *T. cruzi* que cumpla con las características ideales de un medicamento tripanocida. El diagnóstico oportuno y la quimioterapia efectiva son de gran importancia para la prevención de la morbilidad y mortalidad para el control de la enfermedad.

Se recomienda en un futuro la revisión de estudios con inmunoterapia como una opción para incrementar la eficacia de la quimioterapia de las infecciones producidas por *T. cruzi*, así como también el estudio de productos naturales.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Almeida D.R., Carvalho A.C., Branco J.N., Pereira A.P., Correa L., Vianna P.V., Buffolo E., Martínez E.E. 1996. Chagas' disease reactivation after heart transplantation: efficacy of allopurinol treatment. J. Heart. Lung. Transplant. 15: 988-992.
2. Andrade S.G., Magalhaes J.B., Pontes A.L. 1985. Evaluation of chemotherapy with benznidazole and nifurtimox in mice infected with *Trypanosoma cruzi* strains of different types. Bull. World. Health. Org. 63: 721-726.
3. Andrade S.G., Rassi A., Magalhaes J.B., Ferioli Filho F., Luquetti A.O. 1992. Specific chemotherapy of Chagas' disease: a comparison between the response in patients and experimental animal inoculated with the same strains. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 86: 624-626.
4. Aoki T., Nakajima-Shimada J., Hirota Y. 1994. Quantitative determination of *Trypanosoma cruzi* growth inside host cells in vitro and effect of allopurinol. Adv. Exp. Med. Biol. 370: 499-502.
5. Apt W., Aguilera X., Arribada A., Perez C., Miranda C., Zulantay I., Apt P., Cortes P., Rodriguez J. 1994. [Treatment of chronic human Chagas disease with itraconazole and allopurinol. Preliminary report]. Tratamiento de la enfermedad de Chagas humana crónica con itraconazol y alopurinol. Informe preliminar. Rev. Med. Chil. 122: 420-427.
6. Apt W., Aguilera X., Arribada A., Perez C., Miranda C., Sánchez G., Zulantay I., Cortés P., Rodriguez J., Juri D. 1998. Treatment of chronic Chagas' disease with itraconazole and allopurinol. Am. J. Med. Hyg. 59: 133-138.
7. Arcavi M., Orfus G., Griemberg G. 1993. [Incidence of Chagas infection in pregnant women and newborn infants in a non-endemic area]. Incidencia de la infección chagásica en embarazadas y en recién nacidos en área no endémica. Medicina (Buenos Aires). 53: 217-222.
8. Avers Charlotte J. 1991. Biología celular. Grupo Editorial Iberoamericana. México. Segunda edición.
9. Avila J.L., Avila A., Polegre A. 1993. Inhibitory effects of sinefungin and its cyclic analog on the multiplication of *Trypanosoma cruzi* isolates. Am. J. Trop. Med. Hyg. 48: 112-119.

10. Bestetti R.B. 1997a. Heart transplantation as a treatment for patients with end-stage Chagas' heart disease [letter]. *Circulation*. 96: 2744-2745.
11. Bestetti R.B. 1997b. Should benznidazol be used in chronic Chagas' disease? [letter; comment]. *Lancet*. 349: 653.
12. Bestetti R.B. 1997c. Gangliosides in Chagas' heart disease: a potential treatment for a disease without treatment [letter]. *Cardiology*. 88: 305-307.
13. Bocchi E.A., Belloti G., Uip D., Higuchi M.L., Fiorelli A., Stolf N., Jatene A., Pileggi F. 1993. Long-term follow-up after heart transplantation in Chagas' disease. *Transplant. Proc.* 25: 1329-1330.
14. Bocchi E.A., Higuchi M.L., Fiorelli A., Bacal F., Viera M., Stolf N., Wip D., Selloti G., Jatene A., Pileggi F. 1994. Higher incidence of malignant neoplasms after heart transplantation for treatment of Chagas' heart disease. *Eur. Heart. J.* 15: 179.
15. Bodley A.L. and Shapiro T.A. 1995. Molecular and cytotoxic effects of camptothecin, a topoisomerase I inhibitor, on Trypanosomes and Leishmania. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92: 3726-3730.
16. Brener Z., Cancado J.R., Galvao L.M., da Luz Z.M., Filardi L. de S., Pereira M.E., Santos L.M., Cancado C.B. 1993. An experimental and clinical assay with ketoconazole in the treatment of Chagas' disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 88: 149-153.
17. Budavari S., O'Neil M.J., Smith A., Heckelman P.e., Kinneary J.F. 1996. The Merck Index. An Encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. Division of Merck & Co. U.S.A. Twelfth Edition.
18. Canto-Cavalheiro M.M., Echevarria A., Araujo C.A., Bravo M.F., Santos L.H., Jansen A.M., Leon L.L. 1997. The potential effects of new synthetic drugs against *Leishmania amazonensis* and *Trypanosoma cruzi*. *Microbios.* 90: 51-60.
19. Castilla J.J., Mesa-Valle C.M., Sanchez-Moreno M., Arnedo T., Rosales M.J., Mascaró C., Craciunescu D., Osuna A. 1996. In vitro activity and biochemical effectiveness of new organometallic complexes of osmium (III) against *Leishmania donovani* and *Trypanosoma cruzi*. *Arzneimittelforschung.* 46: 990-996.
20. Chagas C. 1909. Nova Tripanosomíaze Humana. Estudo sobre lo morfolojia o ciclo evolutivo de *Schizotripanum cruzi* gen; n. Sp. Aente etiologico de nova entidade morbida do men. *Mem Inst. Oswaldo Cruz.* 1: 159-218.

21. Chan C., Yin H., Garforth J., Mckle J.H., Jaouhari R., Speers P., Douglas K.T., Rock P.J., Yardley V., Croft S.L., Fairlamb A.H. 1998. Phenothiazine inhibitors of trypanothione reductase as potential antitrypanosomal and antileishmanial drugs. *J. Med. Chem.* 41: 148-156.
22. Chung M.C., Gonçcalves M.F., Coll W., Ferrerla E.I., Miranda M.T. 1997. Synthesis and in vitro evaluation of potential antichagasic dipeptide prodrugs of primaquine. *J. Pharm. Sci.* 86: 1127-1131.
23. Coura J.R. 1996. [Current prospects of specific treatment of Chagas' disease]. Perspectivas actuales del tratamiento específico de la enfermedad de Chagas. *Bol. Chil. Parasitol.* 51: 69-73.
24. Coura J.R., de Abreu L.L., Willcox H.P., Petana W. 1997. [Comparative controlled study on the use of benznidazole, nifurtimox, and placebo, in the chronic form of Chagas' disease, in a field area with interrupted transmission. I. Preliminary evaluation]. Estudo comparativo controlado com emprego de benznidazole, nifurtimox e placebo, na forma crônica da doença de Chagas; em uma área de campo com transmissão interrompida. I. Avaliação preliminar. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 30: 139-44.
25. Croft S.L., Snowdon D., Yardley V. 1996. The activities of four anticancer alkyllysophospholipids against *Leishmania donovani*, *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma brucei*. *J. Antimicrob. Chemother.* 38: 1041-1047.
26. da Silva E.F., Oliveira A.L., Siefer M.W., Gazetta M.L. 1995. Perfil demográfico e situação de trabalho de portadores da doença de Chagas. *Arq. Bras. Cardiol.* 65: 43-46.
27. de Andrade A.L., Zicker F., de Oliveira R.M., Almeida Silva S., Luquetti A., Travassos L.R., Almeida I.C., Andrade S.S., Andrade de J.G., Martelli C.M. 1996. Randomized trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *Lancet.* 348: 1407-1413.
28. de Carvalho V.B., Souza E.F., Vila J.H., da Silva J.P., Caiado M.R., Araujo S.R., Macruz R., Zerbini E.J.. 1996. Heart transplantation in Chagas' disease. 10 years after the initial experience [see comments]. *Circulation.* 94: 1815-1817.
29. de Castro S.L. 1993a. The challenge of Chagas' disease chemotherapy: an update of drugs assayed against *Trypanosoma cruzi*. *Acta. Trop.* 53: 83-98.

30. de Castro S.L. 1993b. Differential effect of amphotericin B on the three evolutive stages of *Trypanosoma cruzi* and on the host cell-parasite interaction. Braz. J. Med. Biol. Res. 26: 1219-1229.
31. De Conti R., Rita R.M., de Souza E.M., Melo P.S., Haun M., de Castro S.L., Duran N. 1996. In vitro trypanocidal activities of a novel series of N',N-dimethyl-2-propen-1-amine derivative. Microbios. 85: 83-87.
32. Docampo R. 1993. Calcium homeostasis in *Trypanosoma cruzi*. Biol Res. 26: 189-196.
33. Docampo R. and Schmuñis G.A. 1997. Sterol Biosynthesis Inhibitors: potential chemotherapeutics against Chagas' disease. Parasitol. Today. 13: 129-130.
34. Dutra W.O., Profeta da Luz Z.M., Cancado J.R., Perelra M.E., Brígido-Núñez R.M., Galvao L.M., Colley D.G., Brener Z., Gazinelli G., Carvalho-Parra J.F. 1996. Influence of parasite presence on the immunologic profile of peripheral blood mononuclear cells from chagasic patients after specific drug therapy. Parasite. Immunol. 18: 579-585.
35. Eakin A.E., Guerra A., Focia P.J., Torres-Martínez J., Craig S.P. III. 1997. Hypoxanthine phosphoribosyltransferase from *Trypanosoma cruzi* as a target for structure-based inhibitor design: crystallization and inhibition studies with purine analogs. Antimicrob. Agents. Chemother. 41: 1686-1692.
36. Engel J.C., Doyle P.S., Palmer J., Hsieh I., Bainton D.F. 1998. Cysteine protease inhibitors alter Golgi complex ultrastructure and function in *Trypanosoma cruzi*. J. Cell. Sci. 111: 597-606.
37. Ferrelra M.S., Nishioka S. de A., Silvestre M.T.A., Borges A.S., Nunes-Araújo F.R., Rocha A. 1997. Reactivation of Chagas' disease in patients with AIDS: report of three new cases and review of the literature. Clin. Infect. Dis. 25: 1397-1400.
38. Flores-Vieira C.L and Antunes Barreira A. 1997. Experimental benzimidazole encephalopathy: I. Clinical-neurological alterations. J. Neurol. Sci. 150: 3-11.
39. Fragata Filho A.A., da Silva M.A., Boalain E. 1995. Ethiological treatment of acute and chronic Chagas' heart disease. Rev. Paul. Med. 113: 867-872.
40. Fragata Filho A.A., Luquetti A.O., Prata A., Rassi A., Gontijo E., Ferrelra H. De O., Cancado J.R., Coura J.R., Andrade S.G., Macedo V., Neto V.A., de Oliverira

- W., Brener Z. 1997. Etiological treatment for Chagas' disease. *Parasitol. Today*. 13: 127-128.
41. Freilij H. and Altcheh J. 1995. Congenital Chagas' disease: diagnostic and clinical aspects. *Clin. Infect. Dis.* 21: 551-555.
 42. Gallerano R.H., Marr J.J., Rosa R.R. 1990. Therapeutic efficacy of allopurinol in patients with chronic Chagas' disease. *Am. J. Med. Hyg.* 43: 159-166.
 43. Gaíva L.M., Nunes R.M., Cancado J.R., Brener Z., Krettl A.U. 1993. Lityc antibody as a means of assessing cure after treatment of Chagas' disease: a 10 years follow-up study. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 87: 220-223.
 44. Gamage S.A., Figgitt D.P., Wojcik S.J., Ralph R.K., Ransijn A., Manuel J., Yardley V., Snowdon D., Croft S.L., Denny W.A. 1997. Structure-activity relationships for the antileishmanial and antitrypanosomal activities of 1'-substituted 9-anilinoacridines. *J. Med. Chem.* 40: 2634-2642.
 45. Goodman and Gilman. 1996. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Mc. Graw-Hill. Interamericana. México. Novena edición.
 46. Gorla N.B., Ledesma O.S., Barbieri G., Larripa I.B. 1988. Assesment of cytogenetic damage in chagasic children treated with benznidazole. *Mut. Res.* 206: 212-220.
 47. Gorla N.B., Ledesma O.S., Barbieri G., Larripa I.B. 1989. Thirteenfold increase of chromosomal aberrations non-randomly distributed in chagasic children treated with nifurtimox. *Mut. Res.* 224: 263-267.
 48. Harth G., Andrews N., Mills A.A., Engel J.C., Smith R., Mckerrow J.H. 1993. Peptide-fluoromethyl ketones arrest intracellular replication and intercellular transmission of *Trypanosoma cruzi*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 58: 17-24.
 49. Jacoby E.M., Schlichting I., Lantwin C.B., Kabsch W., Krauth-Siegel R.L. 1996. Crystal structure of the *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase. Mecaprine-complex. *Proteins.* 24: 73-80.
 50. Jardim E. and Takayanagui O.M. 1994. Chagasic meningoencephalitis with detection of *Trypanosoma cruzi* in the cerebrospinal fluid of an immunodepressed patient. *J. Trop. Med. Hyg.* 97: 367-370.
 51. Jernigan J.A. and Pearson R.D. 1993. Chemotherapy of leishmaniasis, Chagas' disease and African trypanosomiasis. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 6: 794-802.

52. Jones M.M., Singh P.K., Lane J.E., Rodrigues R.R., Nasset A., Suarez C.C., Bogitsh B.J., Carter C.E. 1996. Inhibition of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes in vitro by iron chelating agents. *Arzneimittelforschung*. 46: 1158-1162.
53. Kinnamon K.E., Poon B.T., Hanson W.L., Waits V.B. 1996. Primaquine analogues that are potent anti-*Trypanosoma cruzi* agents in a mouse model. *Ann. Trop. Med. Parasitol*. 90: 467-474.
54. Kinnamon K.E., Poon B.T., Hanson W.L., Waits V.B. 1997. Evidence that certain 8-aminoquinolines are potentially effective drugs against Chagas' disease. *Ann. Trop. Med. Parasitol*. 91: 147-152.
55. Kinnamon K.E., Poon B.T., Hanson W.L., Waits V.B. 1998a. Activity of anticancer compounds against *Trypanosoma cruzi*-infected mice. *Am. J. Med. Hyg.* 58: 804-806.
56. Kinnamon K.E., Poon B.T., Hanson W.L., Waits V.B. 1998b. *Trypanosoma cruzi*: a novel chemical class (nitrobenzofurans) active against mice (*Mus musculus*). *Exp. Parasitol*. 89: 251-256.
57. Kirchhoff L.V. 1993a. Chagas' disease. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 7: 487-502.
58. Kirchhoff L.V. 1993b. American trypanosomiasis (Chagas' disease) - A tropical disease now in The United States. *N. Engl. J. Med.* 329: 639-644.
59. Kirchhoff L.V. 1994. American trypanosomiasis (Chagas' disease) and African trypanosomiasis (sleeping sickness). *Current. Opinion. Infect. Dis.* 7: 542-546.
60. Kirchhoff L.V. 1996. American trypanosomiasis (Chagas' disease). *Gastroenterol. Clin. North. Am.* 25: 517-533.
61. Lane J.E., Ribeiro-Rodrigues R., Suarez C.C., Bogitsh B.J., Jones M.M., Singh P.K., Carter C.E. 1996. In vitro trypanocidal activity of tetraethylthiuram disulfide and sodium diethylamine-N-carbodithioate on *Trypanosoma cruzi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 55: 263-266.
62. Leguilzamón M.S., Russomando G., Luquetti A., Rassi A., Almirón M., González-Cappa S.M., Frasch A.C.C., Campetella O. 1997. Long-lasting antibodies detected by a trans-sialidase inhibition assay of sera from parasite-free-serologically cured Chagasic patients. *J. Infect. Dis.* 175: 1272-1275.
63. Levi G.C., Lobo I.M., Kallas E.G., Amato Neto V. 1996. Etiological drug treatment of human infection by *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao. Paulo.* 38: 35-38.

64. López-Antuñano F.J. 1997. [The chemotherapy of infections produced by *Trypanosoma cruzi*]. Quimioterapia de las infecciones producidas por *Trypanosoma cruzi*. Salud Publica Mex. 39: 463-471.
65. Lowichick A. and Siegel J.D. 1995. Parasitic infections of the central nervous system in children. Part I. Congenital infections and meningoencephalitis. J. Child. Neurol. 10: 4-17.
66. Luján H.D., Paglini P., Fretes R., Fernández A., Fidelio G.D., Bronia D.H. 1993. Effect of gangliosides on *Trypanosoma cruzi* infection in mice. Life Sci. 53: PL69-PL-73.
67. Magalhaes J.B. and Andrade S.G. 1994. Investigation on the possibility of spontaneous cure of mice infected with different strains of *Trypanozoma cruzi*. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 36: 481- 484
68. Majumder S. A. and Kierszenbaum F. 1993a. Inhibition of host cell invasion and intracellular replication of *Trypanosoma cruzi* by N',N'-bis(benzyl)-substituted polyamine analogs. Antimicrob. Agents. Chemother. 37: 2235-2238.
69. Majumder S. B. and Kierszenbaum F. 1993b. N'N'-thiophene-substituted polyamine analogs inhibit mammalian host cell invasion and intracellular multiplication of *Trypanosoma cruzi*. Mol. Biochem. Parasitol. 60: 321-239.
70. Maldonado R.A., Molina J., Payares G., Urbina J.A. 1993. Experimental chemotherapy with combinations of ergosterol biosynthesis inhibitors in murine models of Chagas' disease. Antimicrob. Agents. Chemother. 37: 1353-1359.
71. Marr J.J. and Docampo R. 1986. Chemotherapy for Chagas' disease: a perspective of current therapy and considerations for future research. Rev. Infect. Dis. 8: 884-903.
72. Marretto J.P. and Andrade S.G. 1994. Biochemical behavior of *Trypanosoma cruzi* strains isolated from mice submitted to specific chemotherapy. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 27: 209-215.
73. Marshall E. 1995. A deadly parasite spurs up to- the- minute biology [news]. Science. 267: 811-812.
74. Maya J.D., Repetto Y., Agosin M., Ojeda J.M., Tellez R., Gaule C., Morello A. 1997. Effects of nifurtimox and benznidazole upon glutathione and trypanothione in epimastigote, trypomastigote and amastigote forms of *Trypanosoma cruzi*. Mol. Biochem. Parasitol. 86: 101-106.

75. McGrath M.E., Eakin A.E., Engel J.C., McKerrow J.H., Craik C.S., Fletterick R.J. 1995. The crystal structure of cruzipain: a therapeutic target for Chagas' disease. *J. Mol. Biol.* 247: 251-259.
76. McKerrow J.H., McGrath M.E., Engel J.C. 1995. The cysteine protease of *Trypanosoma cruzi* as a model for antiparasite drug design. *Parasitol. Today.* 11: 279-282.
77. Mesa-Valle C.M., Moraleda-Lindez V., Craciunescu D., Alonso M.P., Osuna A. 1993. In vitro action of new organometallic compounds against Trypanosomatidae protozoa. *Arzneimittelforschung.* 43: 1010-1013.
78. Milel J., Mautner B., Storino R., Sanchez J.A., Ferrans V.J. 1992. Does Chagas' disease exist as an undiagnosed form of cardiomyopathy in the United States?. *Am. Heart. J.* 123: 1732-1735.
79. Morello A., Lipchenca I., Cassels B.K., Spelsky H., Aldunate J., Repetto Y. 1994. Trypanocidal effect of boldine and related alkaloids upon several strains of *Trypanosoma cruzi*. *Comp. Biochem. Physiol. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* 107: 367-371.
80. Murta S.M. and Romanha A.J. 1998. In vivo selection of a population of *Trypanosoma cruzi* and clones resistant to benzidazole. *Parasitology.* 116: 165-171.
81. Murta S.M., Gazzinelli T., Brener Z., Romanha A.J. 1998. Molecular characterization of susceptible and naturally resistant strains of *Trypanosoma cruzi* to benzidazole and nifurtimox. *Mol. Biochem. Parasitol.* 93: 203-214.
82. Nakajima-Shimada J., Hirota Y., Aoki T. 1996. Inhibition of *Trypanosoma cruzi* growth in mammalian cells by purine and pyrimidine analogs. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 40: 2455-2458.
83. Nishioka S. de A., Ferrelra M.S., Rocha A., Burgarelli M.K., Silva A.M., Duarte M.I.S., Schmitt F.C. 1993. Reactivation of Chagas' disease successfully treated with benzidazole in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 88: 493-496.
84. Núñez-Vergara L.J., Squella J.A., Bollo-Dragnic S., Morello A., Repetto Y., Alduante J., Letelier M.E. 1997. Nitro aryl 1,4-dihydropyridine derivatives: effects on *Trypanosoma cruzi*. *Comp. Biochem. Physiol. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* 118: 105-111.

85. Núñez-Vergara L.J., Squella J.A., Bollo-Dragnic S., Marin-Catalan R., Pino L., Diaz-Araya G., Letelier M.E. 1998. Isradipine and lacidipine: effects in vivo and in vitro on *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Gen. Pharmacol.* 30: 85-87.
86. Okumura M., Mester M., Iriya K., Amato Neto V., Gama-Rodrigues J. 1994. Effects of immunosuppression and benznidazole on *Trypanosoma cruzi* parasitism during experimental acute Chagas' disease. *Transplant. Proc.* 26: 1587-1589.
87. OMS. 1986. Epidemiología y control de la tripanosomiasis: Informe de un Comité de expertos de la OMS. Serie Informes Técnicos. 811: Ginebra. 101 páginas.
88. Prata A. 1994. Chagas' disease. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 8: 61-76.
89. Repetto Y., Opazo E., Maya J.D., Agosin M., Morello A. 1996. Glutathione and trypanothione in several strains of *Trypanosoma cruzi*: effect of drugs. *Comp. Biochem. Physiol.* 115: 281-285.
90. Reyes P.A. 1993. Chagas' disease in North America. *Am. Heart. J.* 126: 1496.
91. Rocha A., Meneses A.C., Silva A.M., Ferreira M.S., Nishloka S. de A., Burgarelli M.K.N., Almeida E., Turcato J.R., Metzke K., Reis E. 1994. Pathology of patients with Chagas' disease and Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 50: 261-268.
92. Rodríguez-Carranza R. 1995. *Vademécum Académico de Medicamentos*. McGraw Hill Interamericana. México. Segunda Edición.
93. Rodrigues R.R., Lane J.E., Carter C.E., Bogitsh B.J., Singh P.K., Zimmerman L.J., Mofenda J.J., Jones M.M.. 1995. Chelating agent inhibition of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes in vitro. *J. Inorg. Biochem.* 60: 277-288.
94. Rossi M.A. and Bestetti R.B. 1995. The Challenge of chagasic cardiomyopathy. *Cardiology.* 86: 1-7.
95. Sánchez-Delgado R.A., Lazard K., Rincón L., Urbina J.A. 1993. Toward a novel metal-bases chemotherapy against tropical diseases. 1. Enhancement of the efficacy of clotrimazole against *Trypanosoma cruzi* by complexation to ruthenium in $\text{RuCl}_2(\text{clotrimazole})_2$. *J. Med. Chem.* 36: 2041-2043.
96. Santos S.J., Takahashi C.S., Natarajan A.T. 1994. Cytogenetic effects of the antichagasic benznidazole on human cells in vitro. *Mut. Res.* 320: 305-314.
97. Sartori A.M., Lopes M.H., Caramelli B., Duarte M.I.S., da S. Pinto P.L., Amato Neto V., Shikanai-Yasuda M.A. 1995. Simultaneous occurrence of acute myocarditis

- and reactivated Chagas' disease in a patient with AIDS. *Clin. Infect. Dis.* 21: 1297-1299.
98. Sartori A.M., Shikanai-Yasuda M.A., Amato Neto V., Lopes M.H. 1998. Follow-up of 18 patients with human immunodeficiency virus infection and chronic Chagas' disease, with reactivation of Chagas' disease causing cardiac disease in three patients. 1998. *Clin. Infect Dis.* 26: 177-179.
 99. Schirmer R.H., Müller J.G., Krauth-Siegel R.L. 1995. Disulfide-reductase inhibitors as chemotherapeutic agents: The design of drugs for Trypanosomiasis and Malaria. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 34: 141-154.
 100. Schmuñis G.A. 1991. *Trypanosoma cruzi*, the etiological agent of Chagas' disease status in the blood supply in endemic and nonendemic countries. *Transfusion.* 31: 547-557.
 101. Schvartzapel A. J., Zhong L., Docampo R., Rodriguez J.B., Gros E.G. 1997. Design, synthesis, and biological evaluation of new growth inhibitors of *Trypanosoma cruzi* (epimastigotes). *J. Med. Chem.* 40: 2314-2322.
 102. Segura M.A., Molina de Raspi E., Basombrio M.A. 1994. Reversibility of muscle and heart lesions in chronic, *Trypanosoma cruzi* infected mice after late trypanocidal treatment. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 89: 213-216.
 103. Singh P.K., Jones M.M., Lane J.E., Nessel A., Zimmerman L.J., Ribeiro-Rodrigues R., Richter A., Stenger M.R., Carter C.E. 1997. Synthesis and in vitro trypanocidal activity of some novel iron chelating agents. *Arzneimittelforschung.* 47: 311-315.
 104. Solari A., Saavedra H., Sepulveda C., Oddo D., Acuna G., Labarca J., Munoz S., Cuny G., Brengues C., Veas F., Bryan R.T. 1993. Successful treatment of *Trypanosoma cruzi* encephalitis in a patient with hemophilia and AIDS. *Clin. Infect. Dis.* 16: 255-259.
 105. Souza S.C., Takahashi C.S., Da Silva J.S. 1991. Evaluation of the mutagenic potential of the antichagasic drug Rochagan in healthy and chagasic rodents. *Mut. Res.* 259: 139-145.
 106. Strelger M., Fabbro D., del Barco M., Beltramino R., Bovero N. 1995. [Congenital Chagas disease in the city of Santa Fe. Diagnosis and treatment]. Chagas congénito en la ciudad de Santa Fe. Diagnóstico y tratamiento. *Medicina (Buenos Aires).* 55: 125-132.

107. Tanowitz H.B., Kirchhoff L.V., Simon D., Morris S.A., Weiss L.M., Wittner M. 1992. Chagas' disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 5: 400-419.
108. Tay Z., Lara A., Velasco C., Gutiérrez Q. 1995. Tripanosomiasis. *Parasitología Médica*. Méndez Editores. México. Quinta edición. 109-133.
109. Teixeira A.R., Calixto M.A., Teixeira M.L. 1994. Chagas' disease: carcinogenic activity of the antitrypanosomal nitroarenes. *Mut. Res.* 305: 189-196.
110. Tomimori-Yamashita J., Deps P.D., Almeida D.R., Enokihara M.M., De Seixas M.T., Freymuller E. 1997. Cutaneous manifestation of Chagas' disease after heart transplantation: successful treatment with allopurinol. *Br. J. Dermatol.* 137: 626-630.
111. UNDP/World Bank WHO. 1997. Chagas' disease. 112-123. Special programme for research & training in tropical diseases. TDR: progress 1995-1996. Thirteen Programme Report. Geneva. WHO.
112. Urbina J.A., Lazardí K., Marchan E., Visbal G., Aguirre T., Piras M.M., Piras P., Maldonado R.A., Payares G., de Souza W. 1993. Mevinolin (Lovastatin) potentiates the antiproliferative effects of ketoconazole and terbinafine against *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. In vitro and in vivo studies. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 37: 580-591.
113. Urbina J.A., Payares G., Molina J., Sanoja C., Liendo A., Lazardí K., Piras M.M., Piras R., Perez N., Wincker P., Ryley J.F. 1996a. Cure of short-and long experimental Chagas' disease using D0870. *Science.* 273: 969-971.
114. Urbina J.A., Vivas J., Lazardí K., Molina J., Payares G., Piras M.M., Piras R. 1996b. Antiproliferative effects of $\Delta^{24(25)}$ -sterol methyl transferase inhibitors on *Trypanosoma cruzi*: in vitro and in vivo studies. *Chemotherapy.* 42: 294-307.
115. Urbina J.A. 1997. Lipid biosynthesis pathways as chemotherapeutic targets in kinetoplastid parasites. *Parasitology.* 114: S91-S99.
116. Urbina J.A., Payares G., Contreras L.M., Liendo A., Sanoja C., Molina J., Piras M., Piras R., Perez N., Wincker P., Loebenberg D. 1998. Antiproliferative effects and mechanism of action of SCH 56592 against *Trypanosoma cruzi*: In vitro and in vivo studies. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 42: 1771-1777.
117. Van Voorhis W.C. 1990. Therapy and prophylaxis of systemic protozoan infections. *Drugs.* 40: 176-202.

118. Velasco-Castrejón O., Guzmán B., Cruz R.J., López O., González D. 1991. La enfermedad de Chagas. Publicación Técnica del Indre #8. Dirección General de Epidemiología. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos.
119. Velasco-Castrejón O. 1992. La enfermedad de Chagas en México. *Infectología*. 12: 783-791.
120. Velasco-Castrejón O., Valdespino J.L., Tapia-Conyer R., Salvatierra B., Guzmán-Bracho C., Magos C., Llausaás A., Gutiérrez G., Sepúlveda J. 1992. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México. *Salud Pública Mex*. 34: 186-196.
121. Velasco-Castrejón O., Guzmán B., Ibañez B. 1994. Enfermedad de Chagas. En: *Enfermedades Tropicales en México. Diagnóstico, Tratamiento y Distribución Geográfica*. Valdespino G., Velasco Castrejón Escobar G., del Río Z., Ibañez B., Magos L. 1994. Enfermedad de Chagas. INDRE. 279-292.
122. Viotti R., Vigliano C., Armentl H., Segura E. 1994. Treatment of chronic Chagas' disease with benznidazole: clinical and serologic evolution in patients with long-term follow-up. *Am. Heart. J.* 127: 151-162.
123. Wendel S. and Gongaza A.L. 1993. Chagas' disease and blood transfusion: a new world problem?. *Vox Sang.* 64: 1-12.
124. Yakubu M.A., Majumder S., Kierszenbaum F. 1993. Inhibition of S-adenosyl-L-methionine (Adomet) decarboxylase by the decarboxylated Adomet analog 5'-[(z)-4-amino-2-butenyl]methylamino)-5'-deoxyadenosine (MDL 73811) decreases the capacities of *Trypanosoma cruzi* to infect and multiply within a mammalian host cell. *J. Parasitol.* 79: 525-532.
125. Yamada H., Tsuda T., Watanabe T., Ohashi M., Murakami K., Mochizuki H. 1993. In vitro and In vivo antifungal activities of D0870., a new triazol agent. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 37: 2412-2417.
126. Zhang Y., Bond C.S., Bailey S., Cunningham M.L., Fairlamb A.H., Hunter W.N. 1996. The crystal structure of trypanothione reductase from the human pathogen *Trypanosoma cruzi* at 2.3 Å resolution. *Protein. Sci.* 5: 52-61.