

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología –
PRIMERA CATEDRA



Microbiología I -General

SEMINARIO 8

Trypanosoma cruzi y
Leishmania spp.

Objetivos

- Conocer morfología de protozoarios kinetoplástidos para identificar sus estadíos en el ciclo biológico.
- Identificar semejanzas y diferencias entre *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania spp.*
- Relacionar la biología de estos parásitos, sus vectores y reservorios con su distribución geográfica y con transmisión.
- Analizar los mecanismos patogénicos y de evasión de la respuesta inmune asociados con persistencia parasitaria.

Contenidos

- Generalidades de los kinetoplástidos
- Distribución geográfica, ciclos biológico y de transmisión, invasión intracelular, respuesta inmune, mecanismos de evasión y acción patógena de *T.cruzi* y de *Leishmania spp*

Ubicación taxonómica

SUBREINO

PROTOZOA

PHYLUM

SARCOMASTIGOPHORA

CLASE

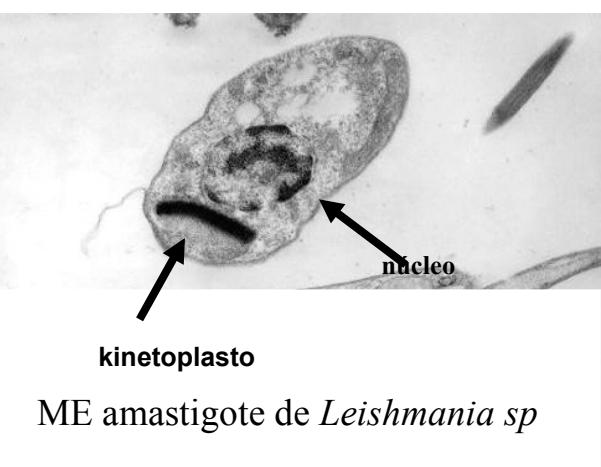
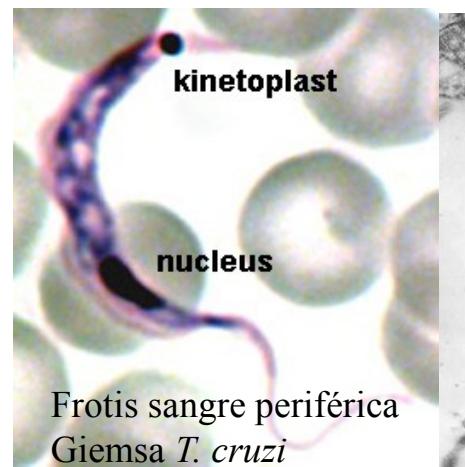
ZOOMASTIGOPHORA

ORDEN

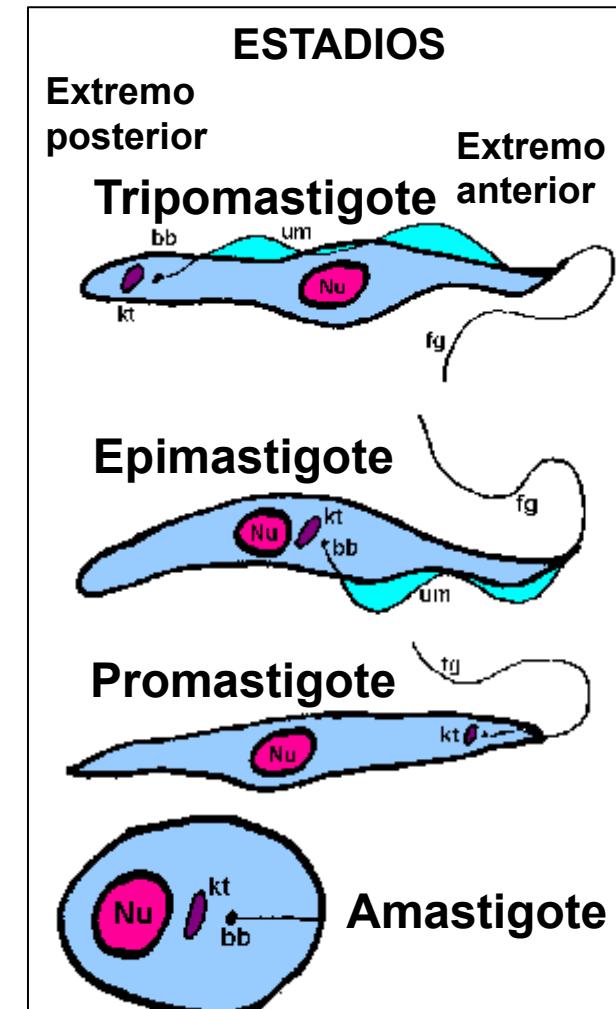
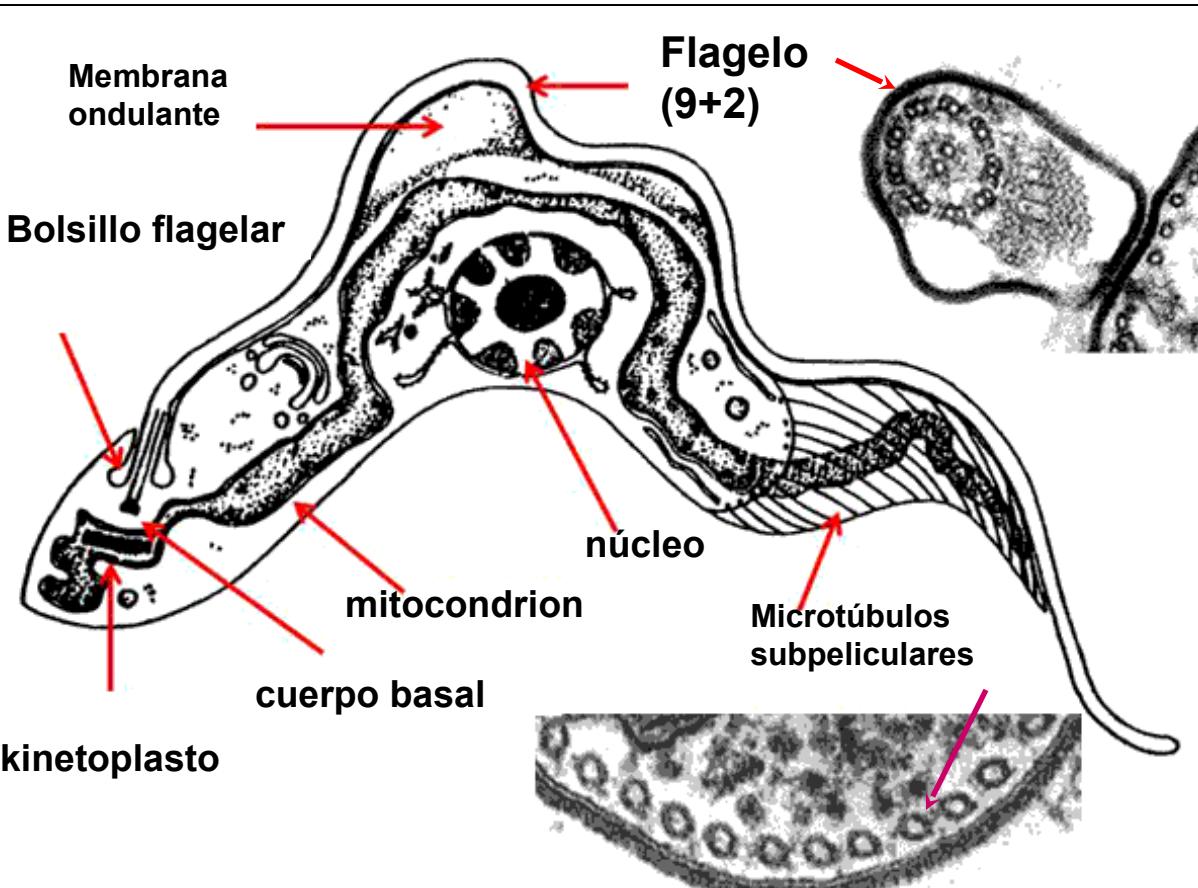
KINETOPLASTIDA

Trypanosoma cruzi, *Leishmania* spp. y Tripanosomas africanos causan **zoonosis vectoriales**

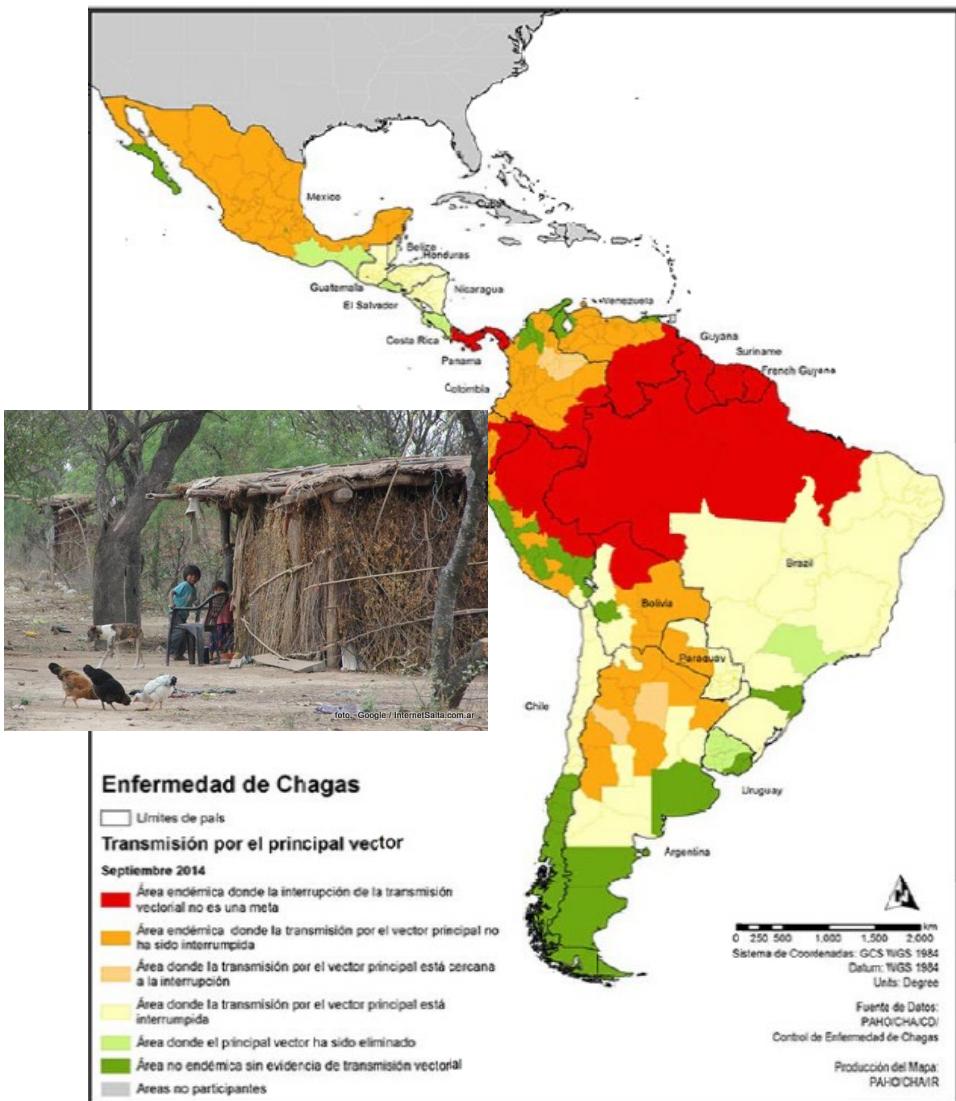
Kinetoplasto: estructura subcelular que contiene DNA mitocondrial empaquetado



- Diferentes **estadios morfológicos** asociados a diferentes etapas del ciclo de vida.
- **Flagelo único** presente en algunos estadios.
- Citoesqueleto compuesto de **microtúbulos subpeliculares** a lo largo del soma.
- Membrana plasmática rica en **GPI (glicosilfosfatidilinositol)** y **ergosterol**
- Multiplicación asexual por **fisión binaria**
- Nutrición por pinocitosis por el **bolsillo flagelar**



Enfermedad de Chagas: Agente causal *Trypanosoma cruzi*. zoonosis vectorial endémica en Argentina y Latinoamérica



HI: Vector triatomíneo (Vinchuca)

Figura 6. CICLO BIOLÓGICO DE TRIATOMINOS



Argentina: *Triatoma infestans* y otras especies de triatomíneos

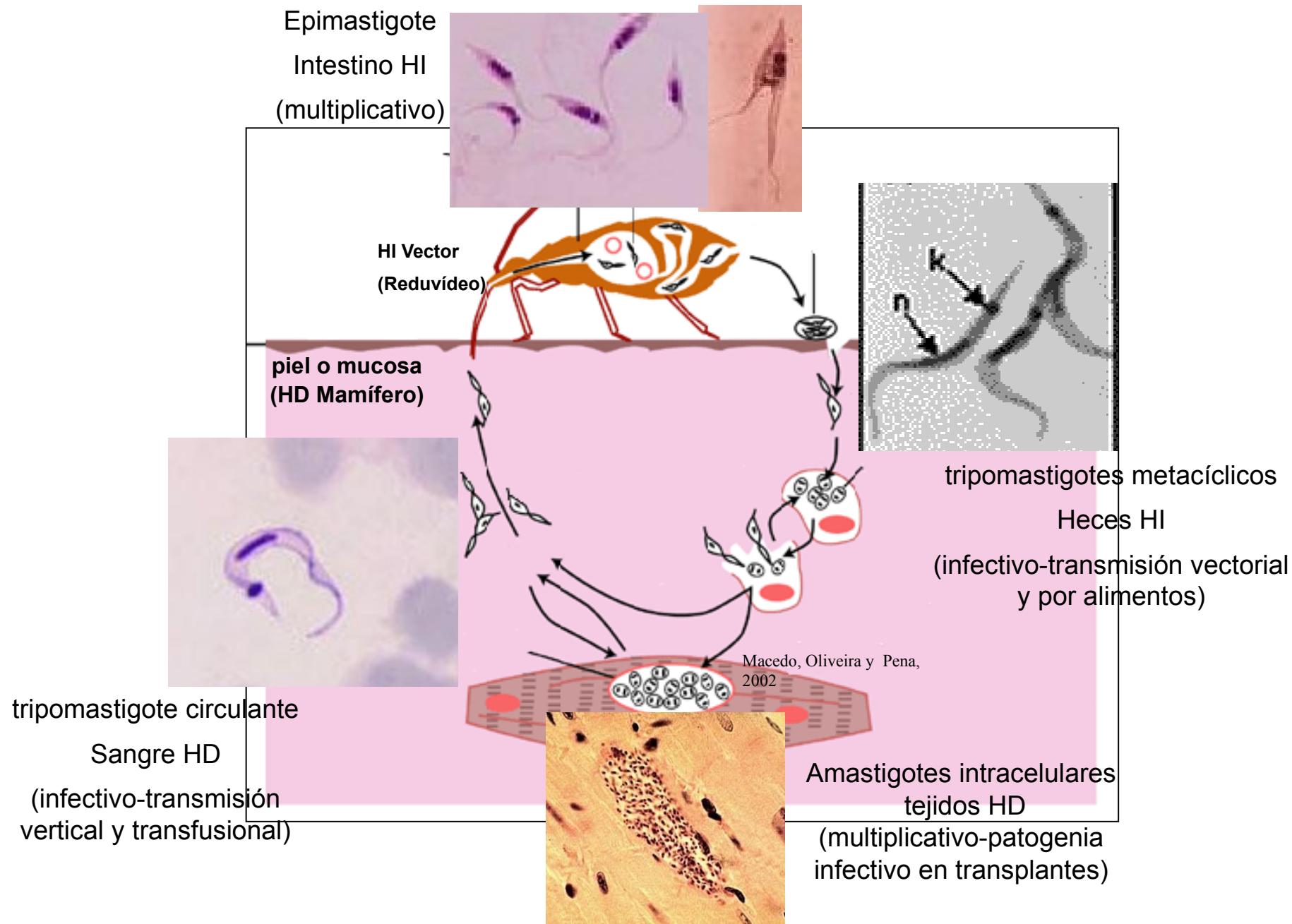
HD: Hombre y otros mamíferos ...en ciclo doméstico



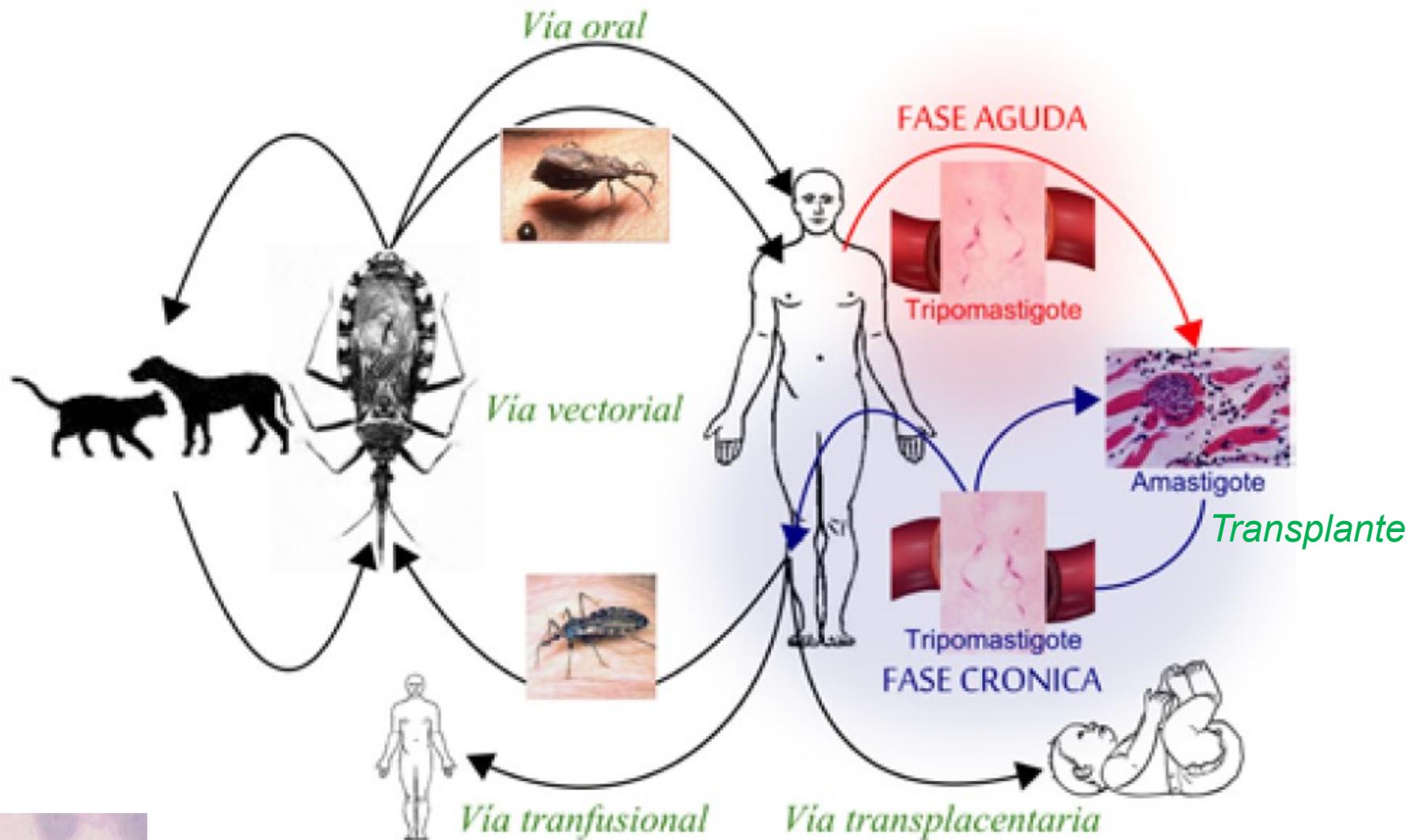
...en ciclo silvestre



Ciclo de vida de *T.cruzi*: dos hospederos- distintos estadios



Modos de transmisión de *Trypanosoma cruzi*



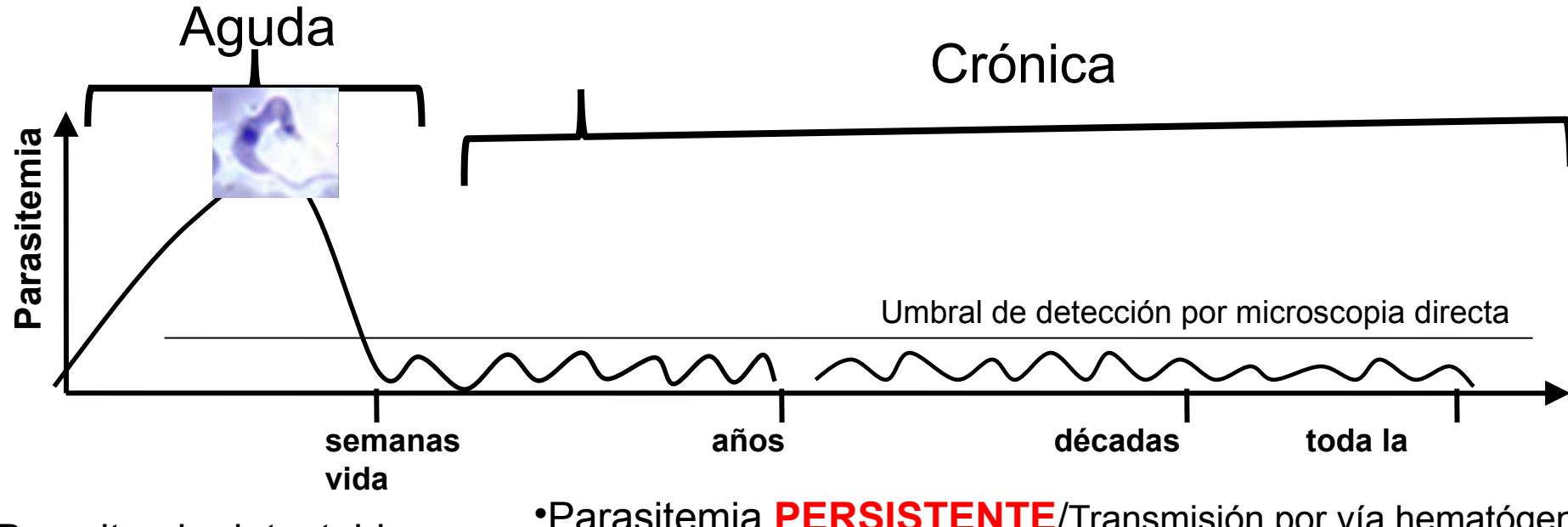
Accidentes de laboratorio

Tripomastigote

Uso de drogas endovenosas

Adaptada de Guía para Equipos de Salud SecrSalud 2018

Infección por *T. cruzi*, inmunidad y Enfermedad de Chagas



Parasitemia detectable

↓

Activación de la respuesta inmune

- Parasitemia **PERSISTENTE**/Transmisión por vía hematógena
 - Asintomática $\approx 70\%$ → *Control inmune*
 - Sintomática $\approx 30\%$ → *Inflamación inducida por parásito*

Con o sin síntomas



Formas clínicas

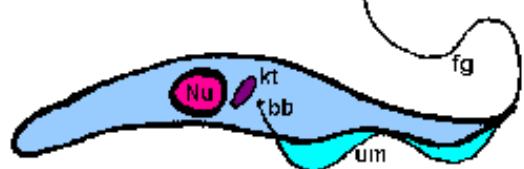
Cardíaca



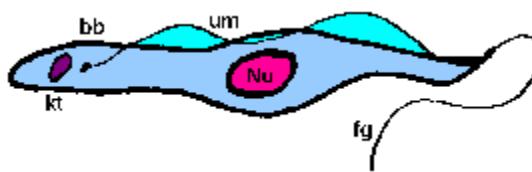
Digestiva



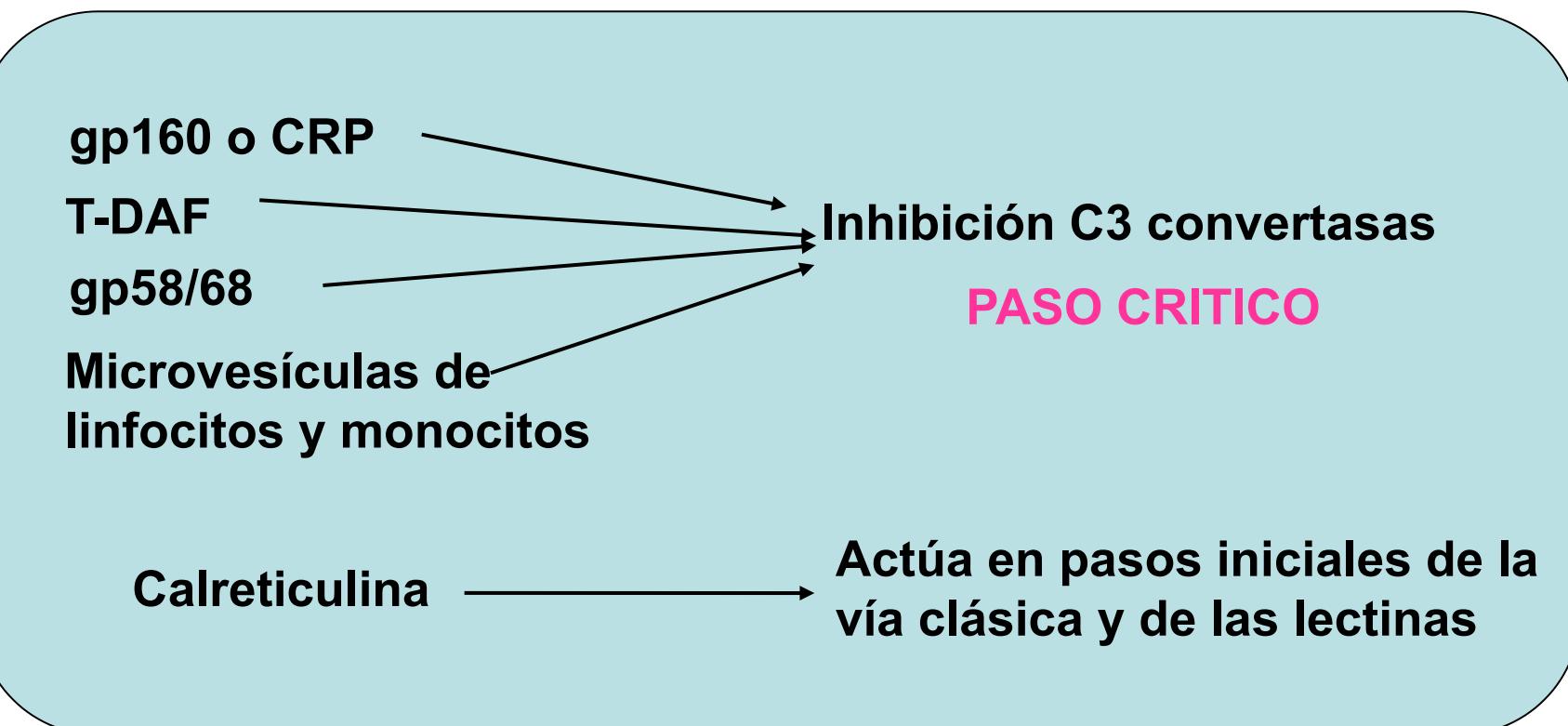
Resistencia a la lisis mediada por complemento



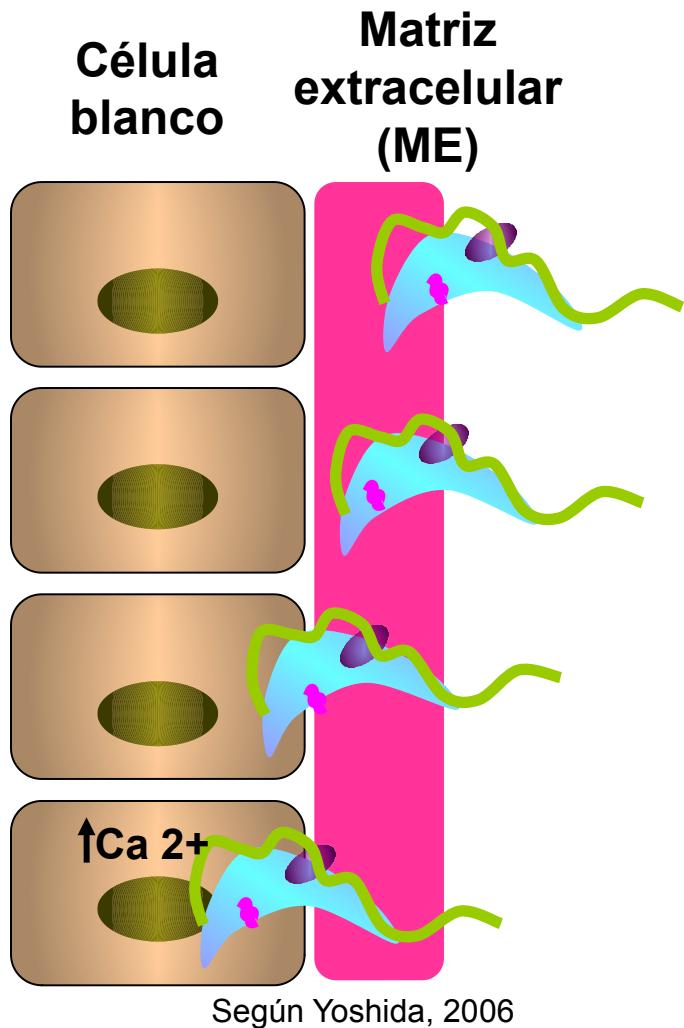
Epimastigote Sensible a la lisis por C¹¹



Los demás estadios resisten lisis directa por C¹¹ y pueden lisarse por Ac+ C¹¹



T.cruzi: interacción con la célula huésped



Adhesión a ME: moléculas parasitarias (p.ej. gp85/Transialidasa o penetrina) con afinidad por laminina, fibronectina o heparina.

Hidrólisis de colágeno/fibronectina de ME por enzimas como Tc80.

Adhesión a célula blanco (por ej. gp85, mucinas y/o transialidasa).

El parásito activa oligopeptidasa B y secreta la cruzipain: aumento del nivel de $\text{Ca}2+$ en la célula blanco facilitando el ingreso.

T.cruzi: invasión, establecimiento y diferenciación

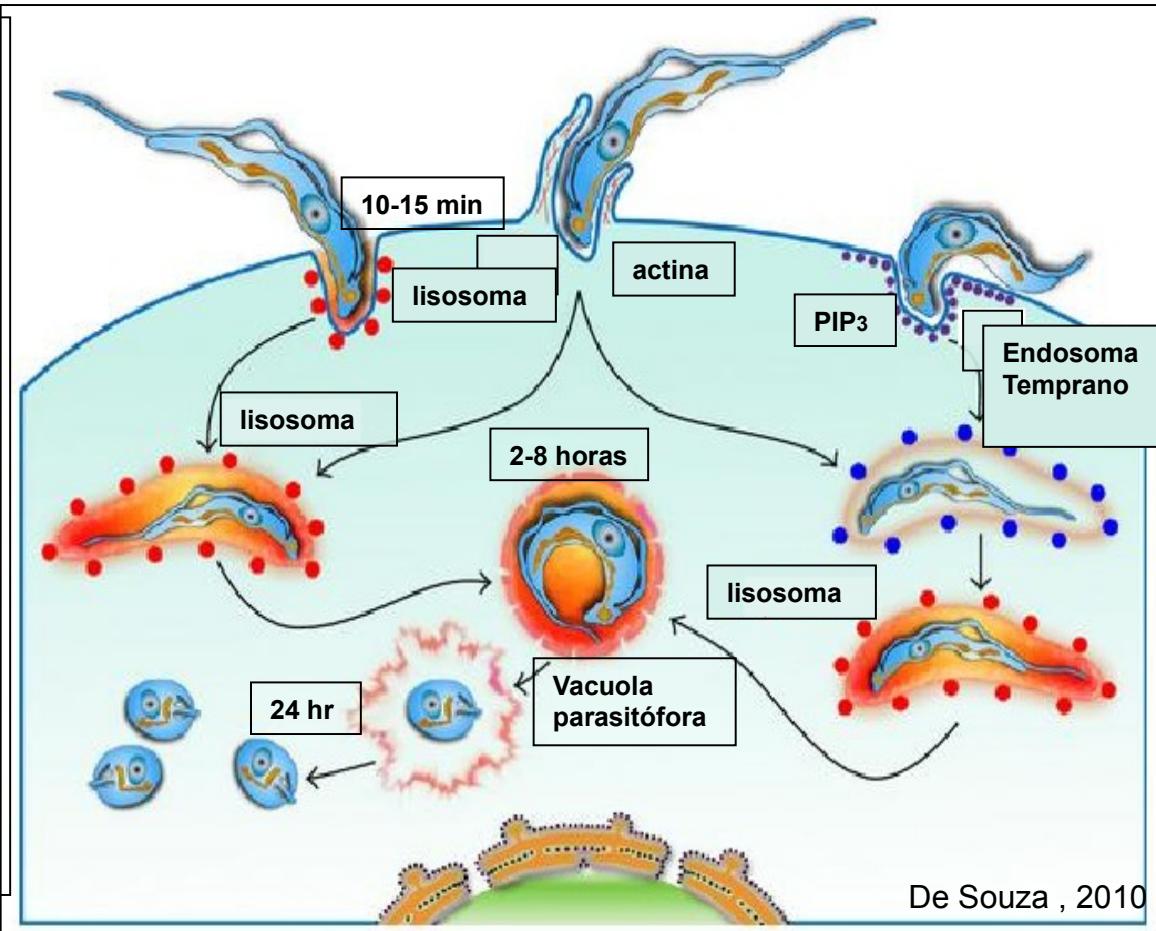
Invasión de células fagocíticas y no-fagocíticas.

1. Mec. no fagocíticos:

- Reclutamiento de lisosomas e internalización dependientes de Ca^{2+}
 - Invaginación de membranas con PIP_3 y posterior reclutamiento de endosomas tempranos

2. Fagocitosis o macropinocitosis

movilización de actina de la célula huésped.



De Souza, 2010

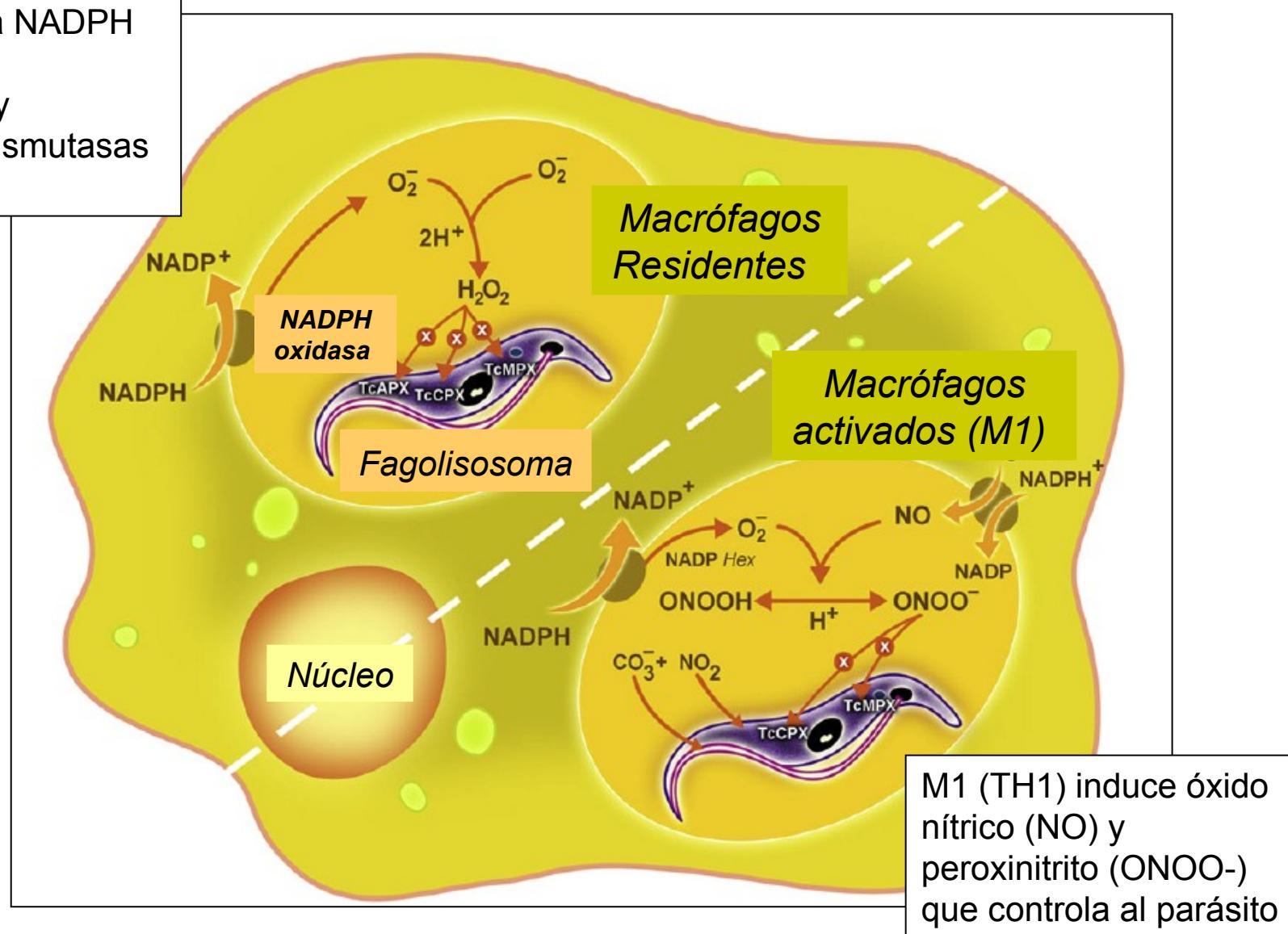
El tripomastigote se rodea de lisosomas formándose la **vacuola parasitófora** e inicia su diferenciación a amastigote

Desintegración de la vacuola, localización citoplasmática, multiplicación intracelular del amastigote

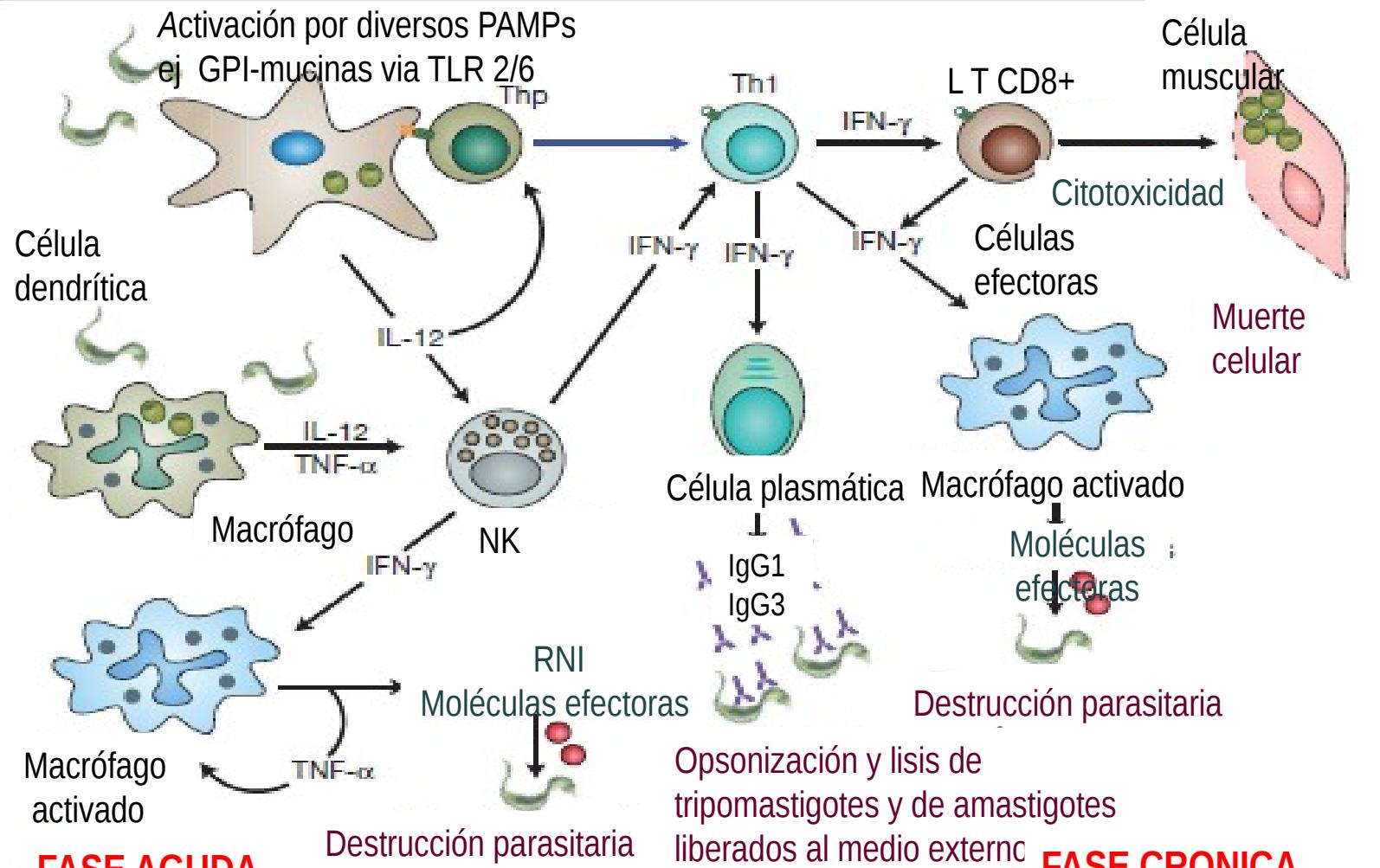
Diferenciación a tripomastigote y salida de célula huésped.

T.cruzi: evasión del metabolismo oxidativo

Evasión de la NADPH oxidasa por peroxidasas y superóxido dismutasas parasitarias



La respuesta inmune durante la infección por *T. cruzi*



Mecanismos de evasión de la respuesta inmune por *T. cruzi*

DISTRACCIÓN

HABITAT
INTRACELULAR

SHEDDING (Ac)

CAPPING (Ag-Ac)

ACTIVACION
POLICLONAL
de LT y LB

SIALILACIÓN
DE MUCINAS



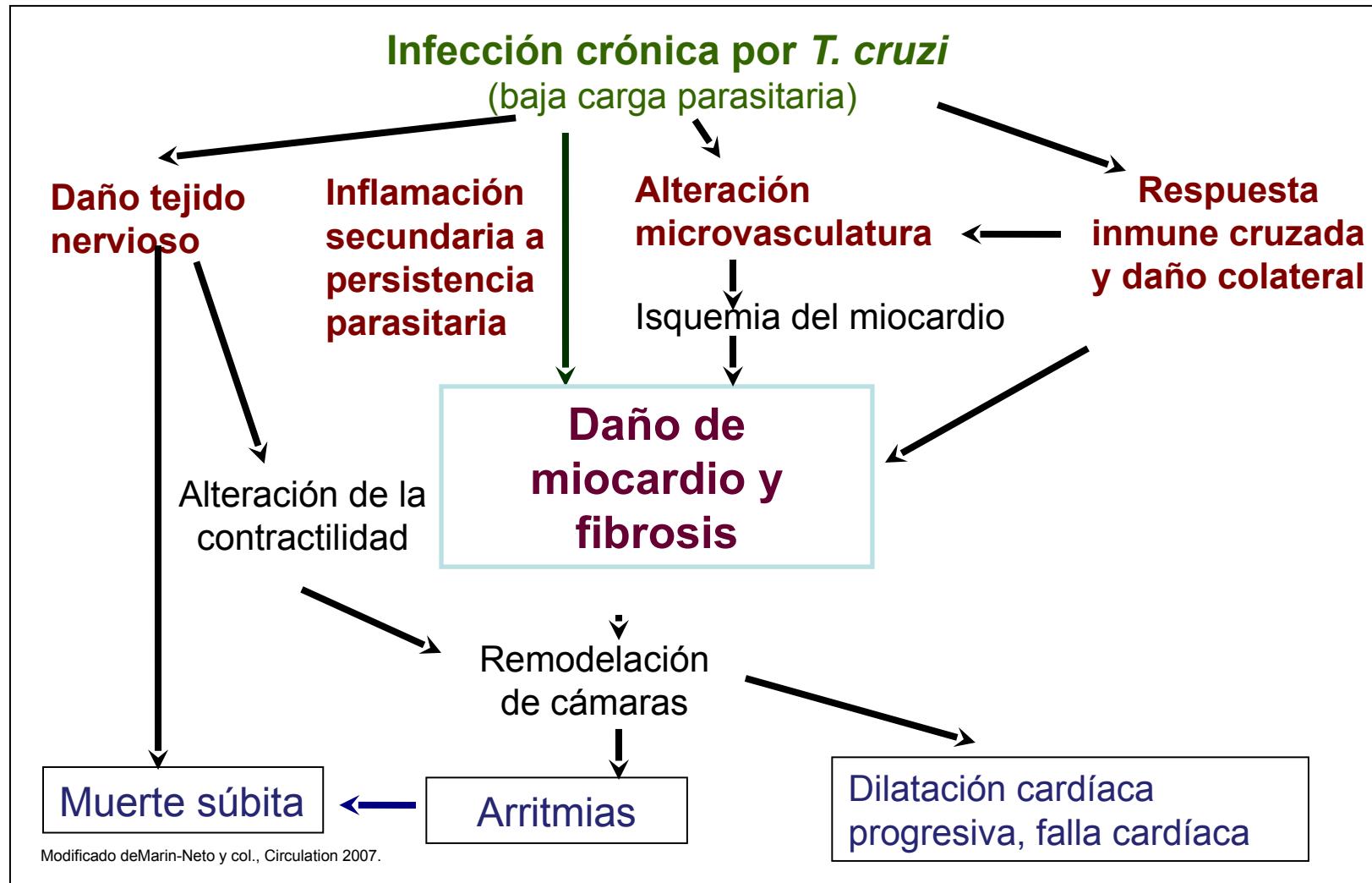
DESTRUCCIÓN

APOPTOSIS DE
TIMOCITOS

MODULACIÓN

INHIBICIÓN DE MHCII CD80
CD86 EN DENDRÍTICAS
INDUCCIÓN DE IL-10

La fisiopatogenia de la miocardiopatía chagásica crónica es multifactorial



Leishmaniasis: Agente causal *Leishmania* spp. zoonosis vectorial endémica en Argentina

Hospedero intermediario: ***Phlebotomus* spp** (Viejo Mundo)
***Lutzomyia* spp** (Nuevo Mundo)

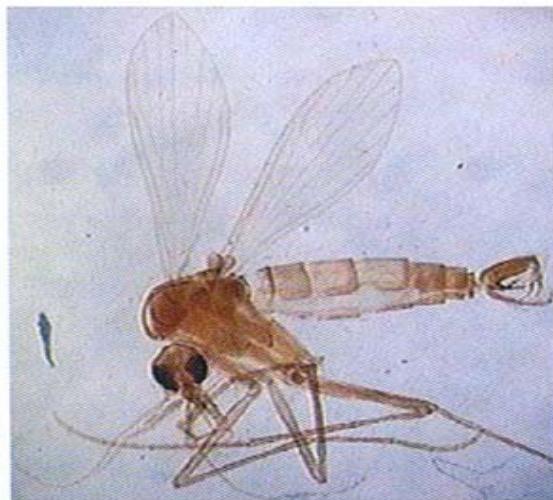
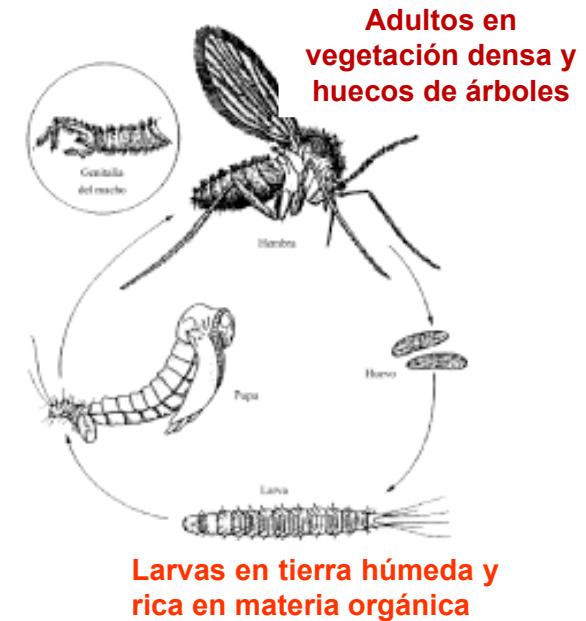
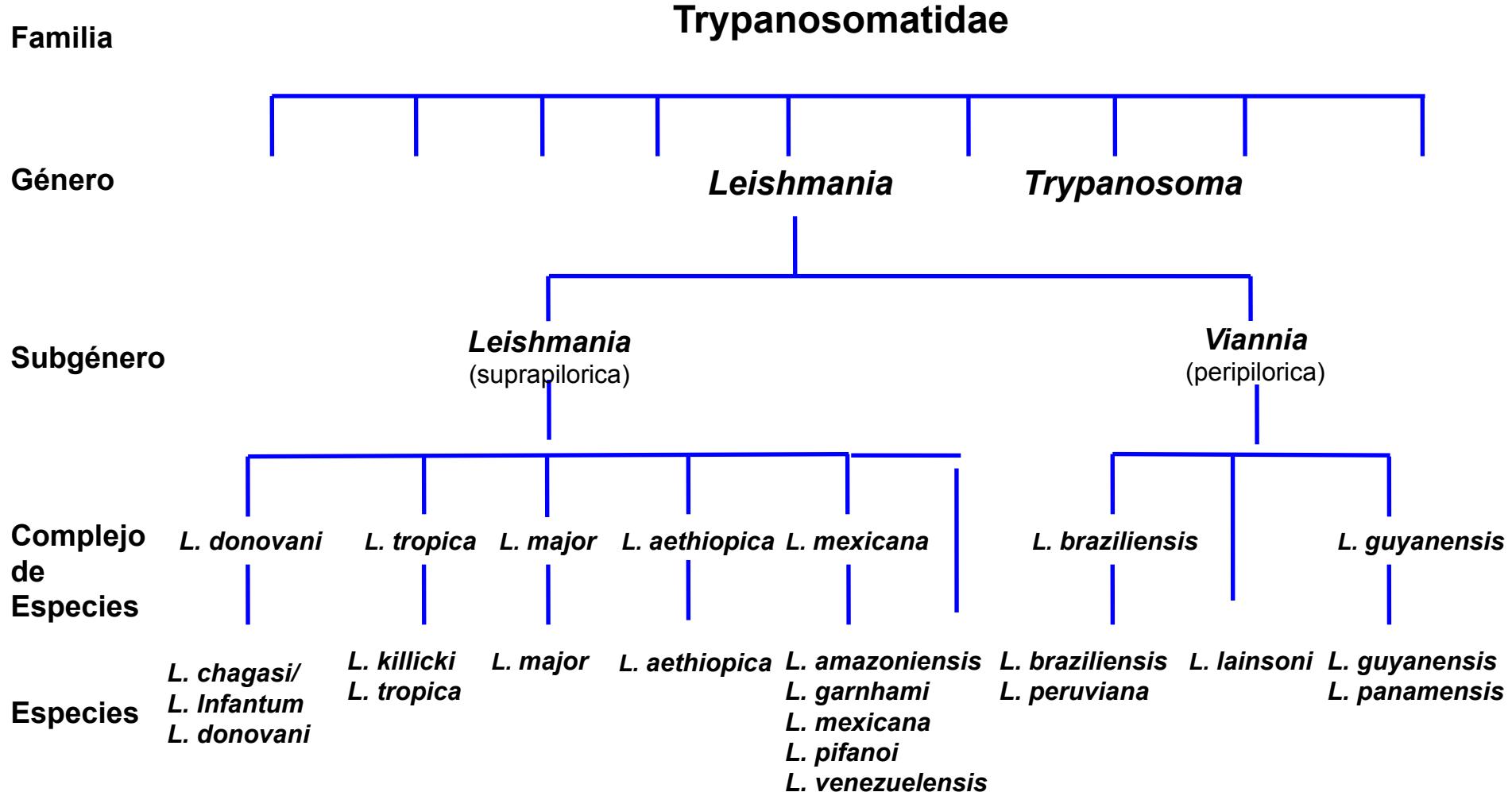


Figura 7. *Lutzomyia*



Hospedero definitivo: Hombre
Mamíferos domésticos y/o silvestres según especie
de *Leishmania*

Taxonomía del género *Leishmania*- Especies que afectan al humano



FORMAS CLÍNICAS

TEGUMENTARIA

L. CUTANEA
DIFUSA
(LCD)

L.
MUCOCUTANEA
(LMC)

L. CUTANEA
LOCALIZADA
(LCL)

VISCERAL



g



e

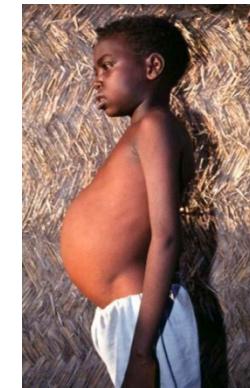


c

L. mexicana
L. amazoniensis

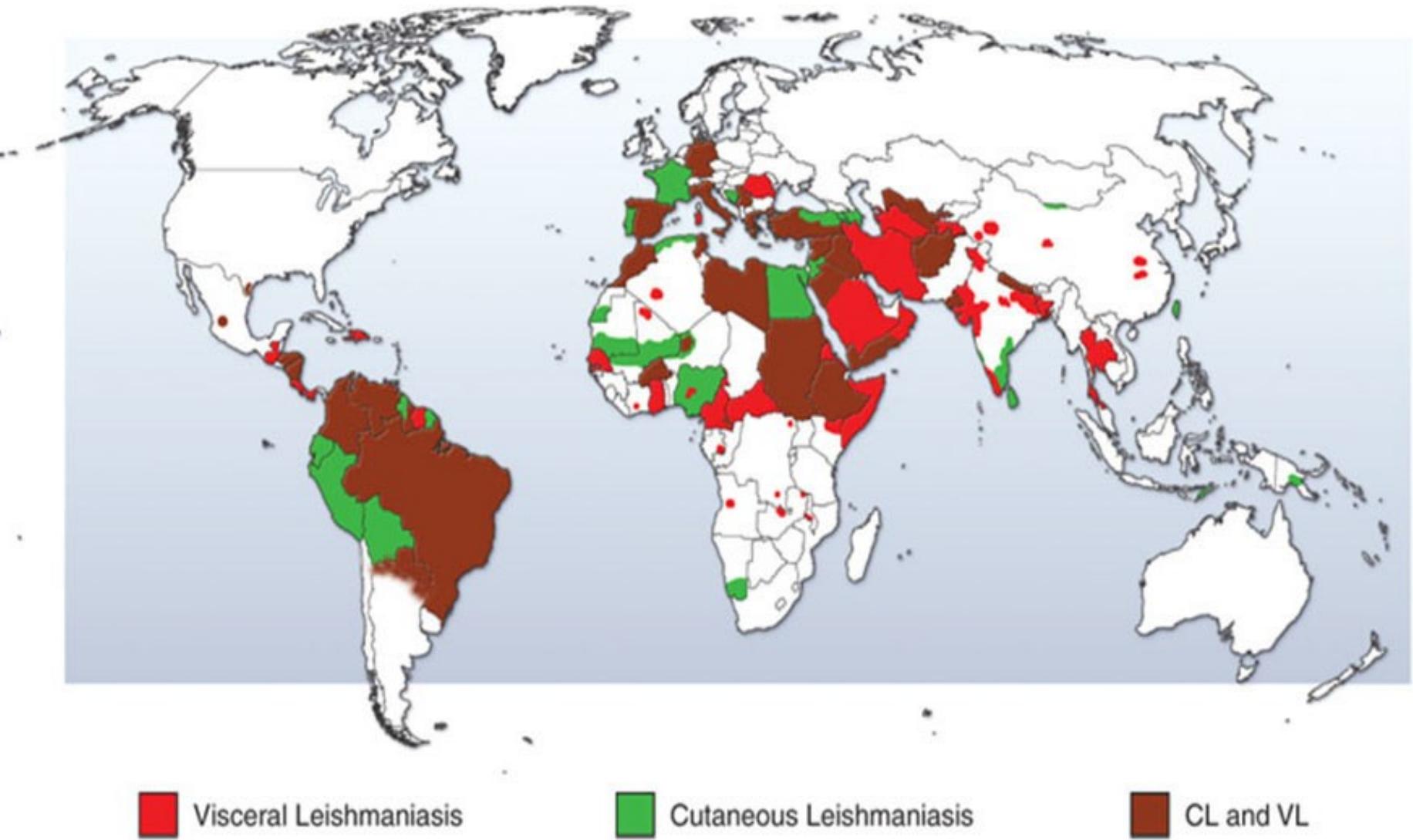
L. braziliensis
L. panamensis

*Especies de
subgéneros
Leishmania
y Viannia*



L. chagasi/
L. infantum
L. donovani

Distribución global de Leishmaniasis



Leishmaniasis en Argentina

	Leishmaniasis cutánea	Leishmaniasis visceral
Agentes etiológicos	<i>L. braziliensis</i> <i>L. amazonensis</i> <i>L. guyanensis</i> <i>L. panamensis</i>	<i>L. infantum / L. chagasi</i>
Vectores	<i>Lutzomyia neivai</i> y <i>L. whitmani</i>	<i>Lutzomyia longipalpis</i>
Reservorios	Roedores, comadrejas, mamíferos silvestres	Perro doméstico urbano
Transmisión	Principalmente ciclos silvestres y peridomésticos.	Epidémica y urbana. La infección puede adquirirse por compartir jeringas y por transfusión sanguínea.

Leishmania spp: Ciclo biológico

Estadios en la mosca de los arenales

- 1 La mosca se alimenta de sangre (inyecta el estadio promastigote en la piel)

Se dividen en el intestino medio y migran a la probóscide

8



Estadios en el humano

- 2 Los promastigotes son fagocitados por macrófagos

HD

3 Los promastigotes se transforman en amastigotes dentro de los macrófagos

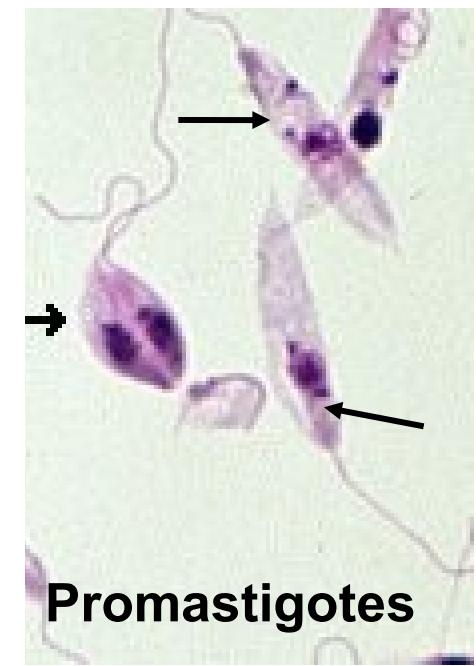
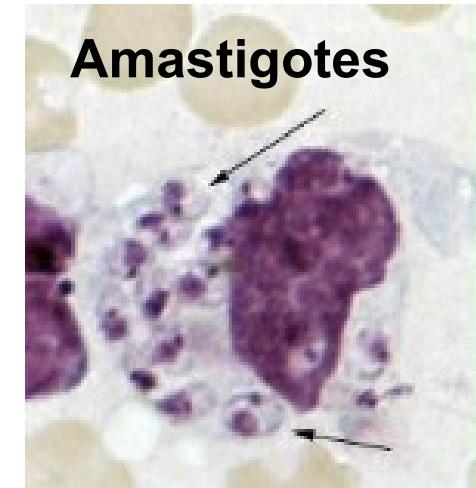


- 4 Los amastigotes se multiplican en las células (incluyendo a los macrófagos) de varios tejidos



<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>

Amastigotes



i = Estadio infectante

d = Estadio diagnóstico

Moléculas de *Leishmania* spp asociadas a virulencia

Proteofosfoglicano (PPG)

Glicoproteína de superficie/ secretada
- Modulación de Macrófagos
- Depleción de componentes del Complemento

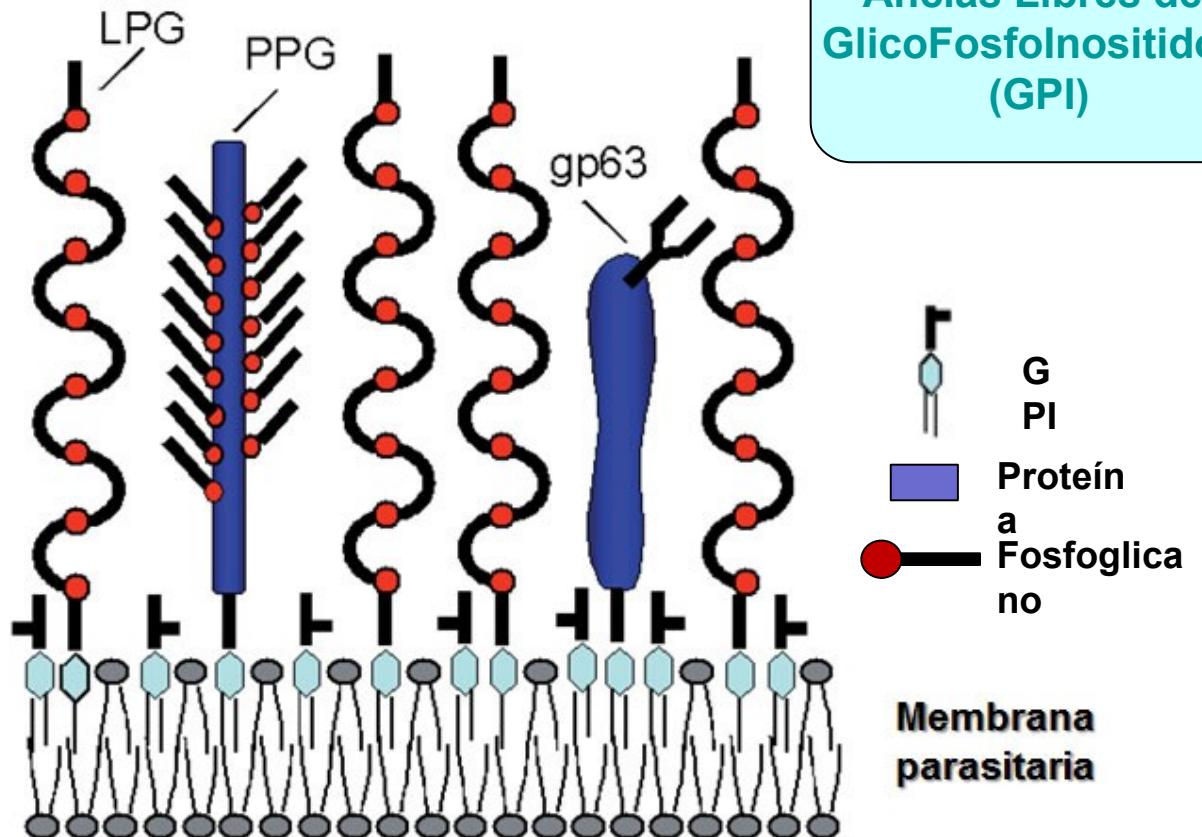
MSP o gp63

Glicoproteína con actividad metaloproteasa y anclaje GPI
- Evasión de la lisis por complemento y células NK
- Resistencia a péptidos microbicidas

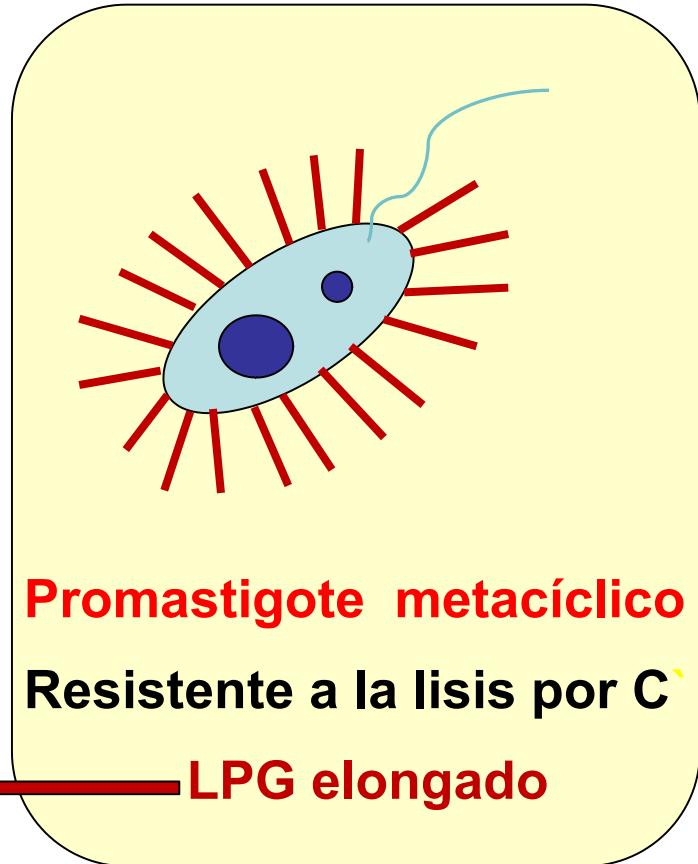
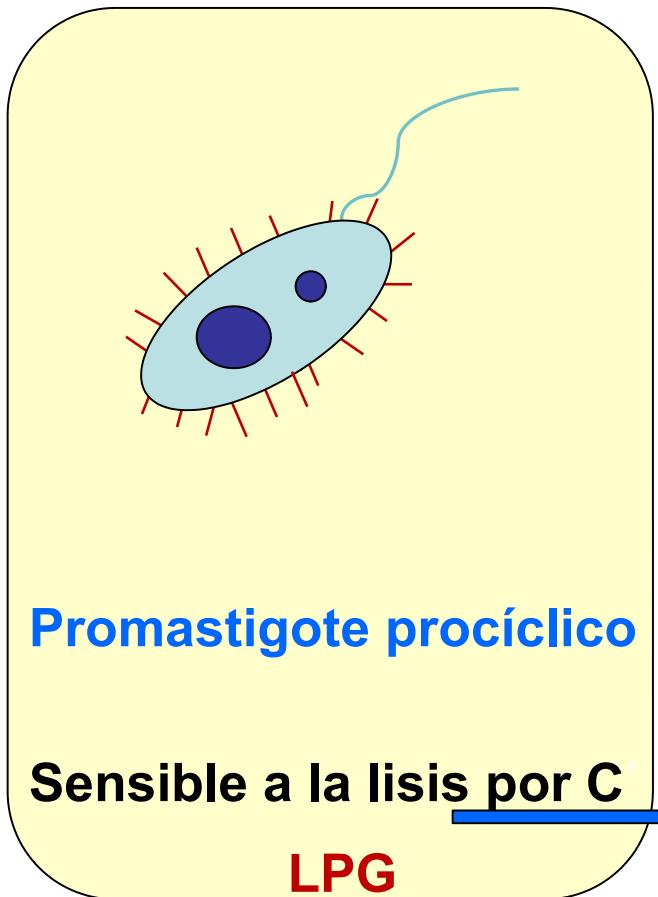
LipoFosfoGlicano (LPG)

Glicolípido con anclaje GPI
hiperglicosilado

Anclas Libres de GlicoFosfolinosítidos (GPI)



LPG y resistencia a la lisis mediada por complemento



Diferenciación
(en el vector)

Resistencia a la lisis mediada por complemento

Promastigote metacíclico

Expresión de **LPG elongado** —→ Inhibición de la inserción del complejo C5b-C9 del complemento

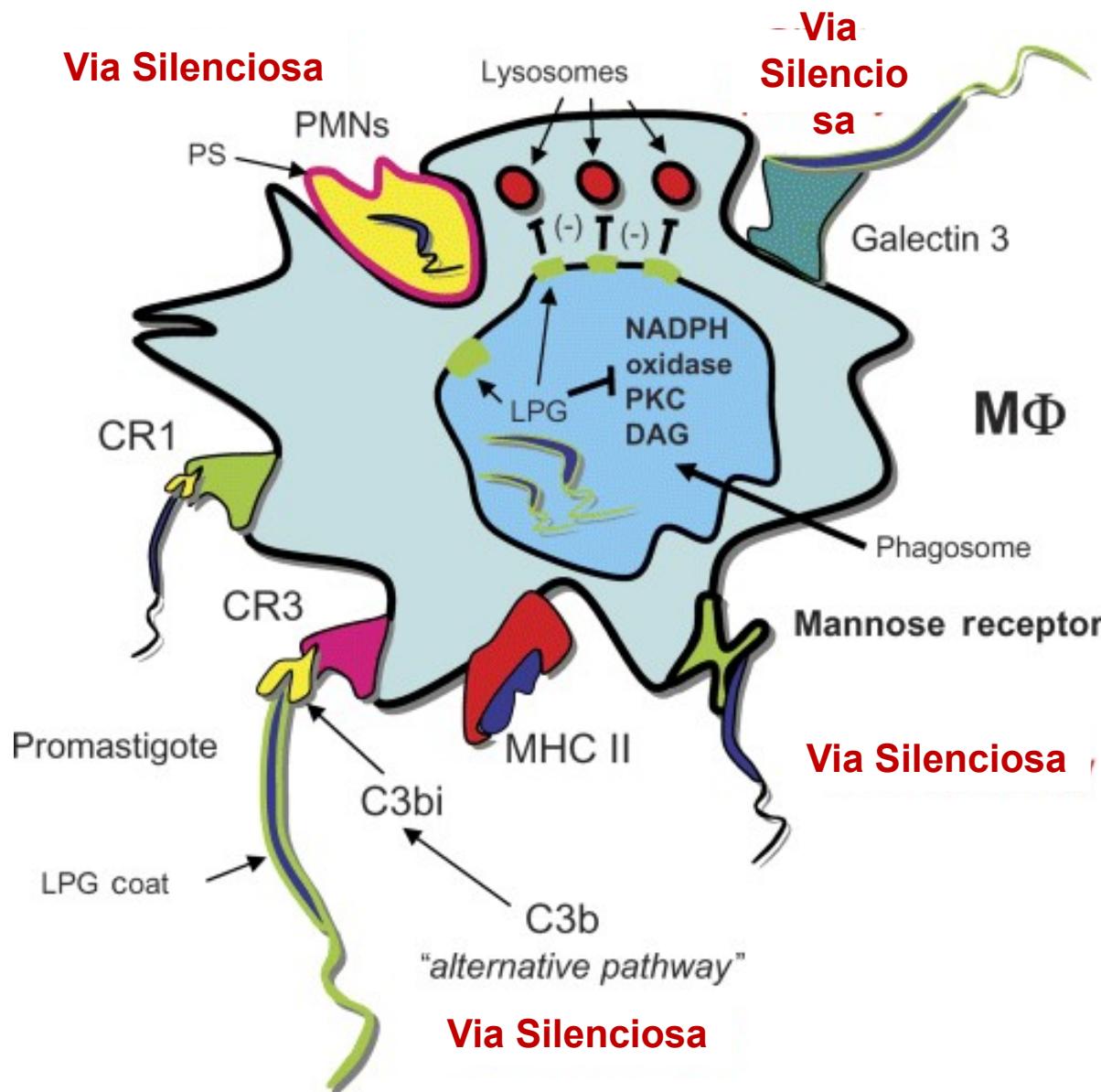
Aumento de **gp63** —→ Clivaje de C3b a iC3b (forma inactiva)

Inhibe lisis por complemento....pero promueve opsonización y fagocitosis por macrófagos vía CR1 y CR3

Proteinquinasas —→ Fosforilación de C3, C5, C9

Inhibe activación de vías clásica y alternativa del complemento

El promastigote es fagocitado por el macrófago por mecanismos de entrada “silenciosos”

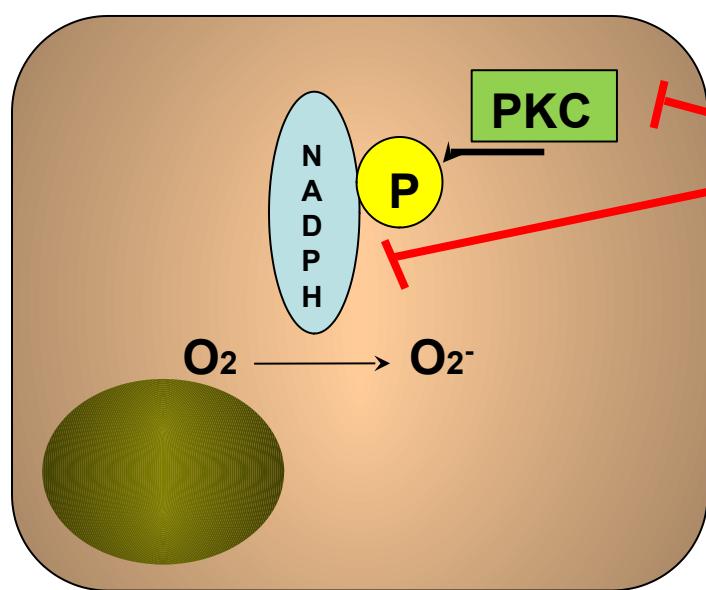


1. Vía CR3 y CR1
2. Vía receptores de manosa
3. Galectina 3
4. PMN apoptóticos (caballo de Troya)

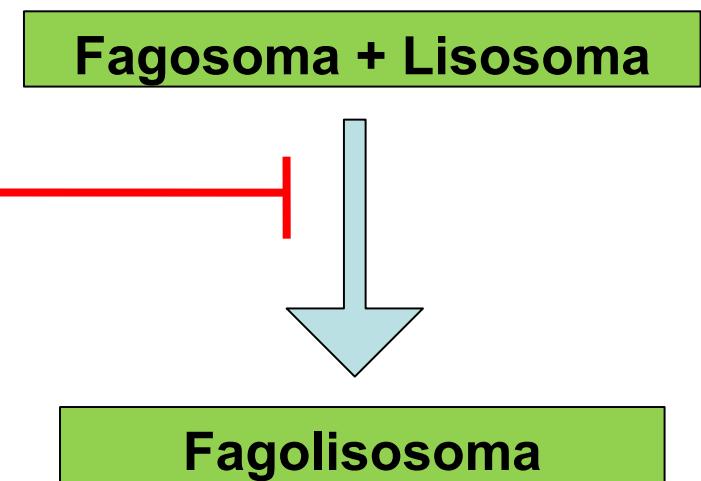
No promueven el estallido respiratorio

Inhibición de la respuesta innata en macrófagos por el LPG de promastigotes de *Leishmania* spp

Inhibición del metabolismo de O₂ y señales intracelulares



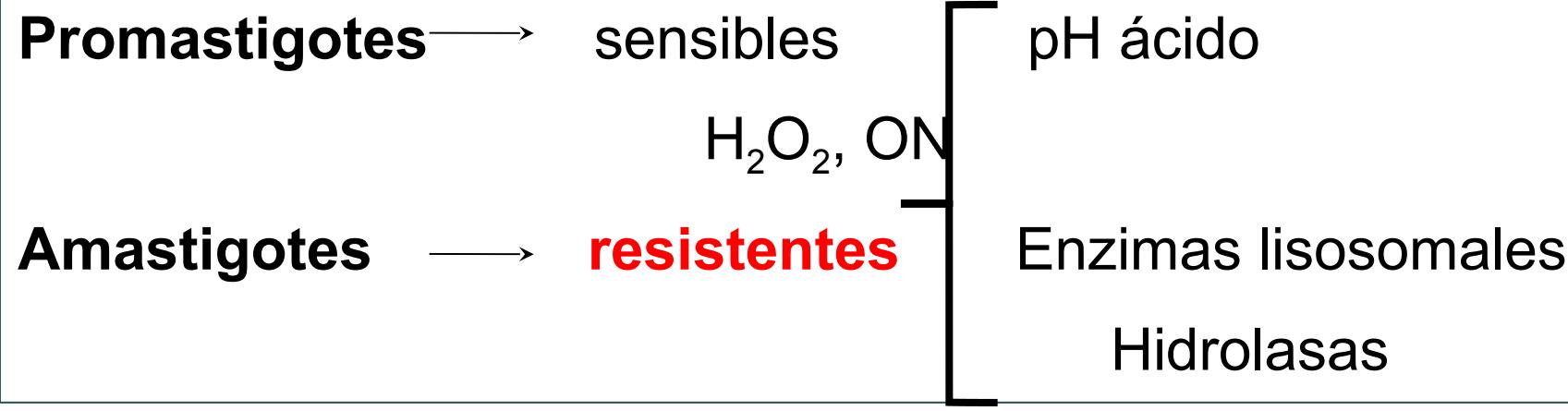
Retraso en la maduración del fagolisosoma



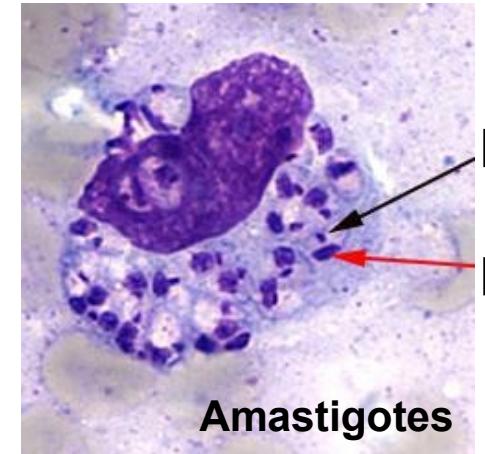
La expresión de LPG es elevada en el promastigote y se encuentra disminuida en el amastigote

Sobreviviendo dentro del fagolisosoma

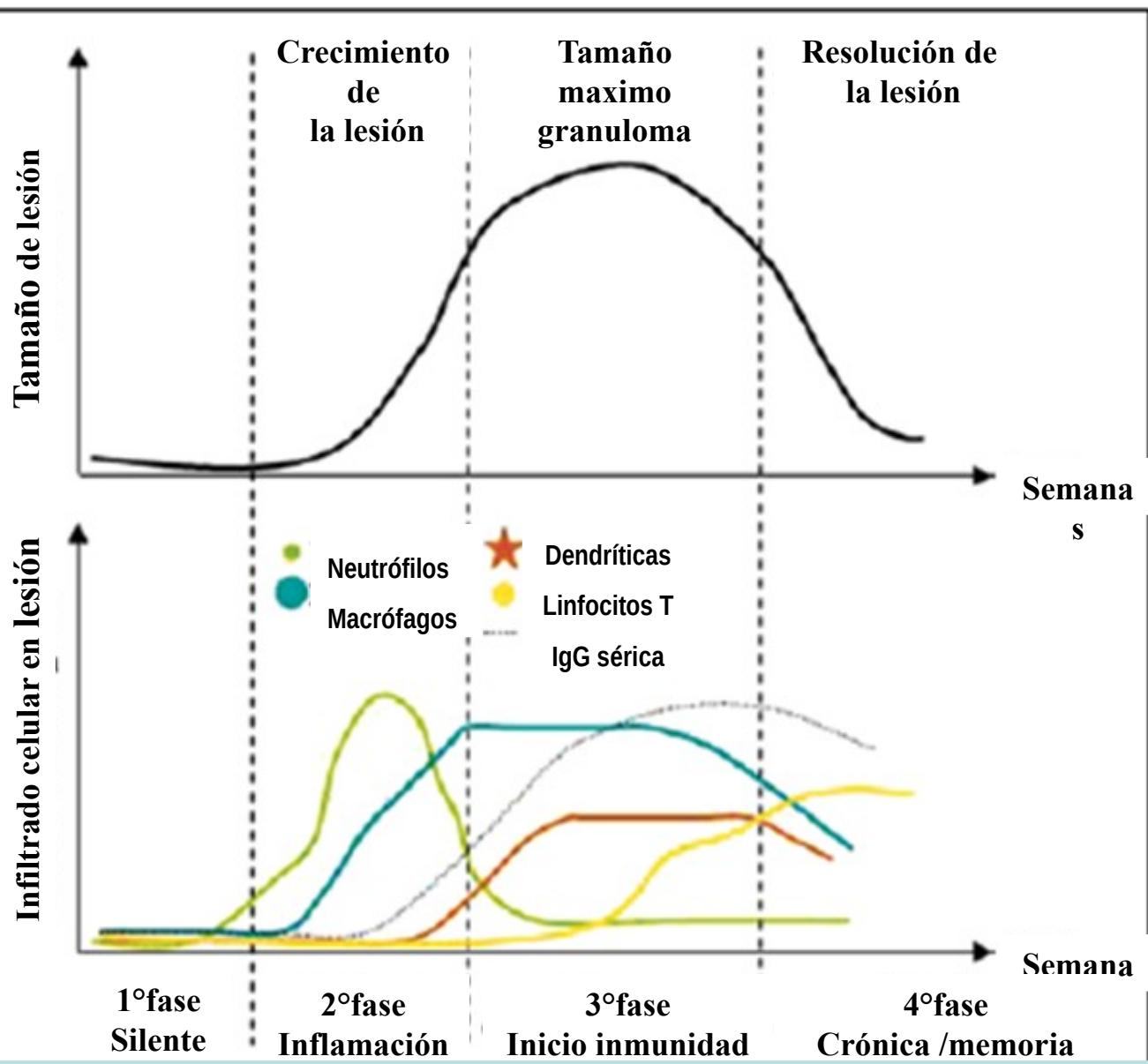
Diferenciación promastigotes a amastigotes



El amastigote es acidofílico y sobrevive dentro de la vacuola parasitófora en macrófagos infectados



Leishmaniosis cutánea – Respuesta inmune

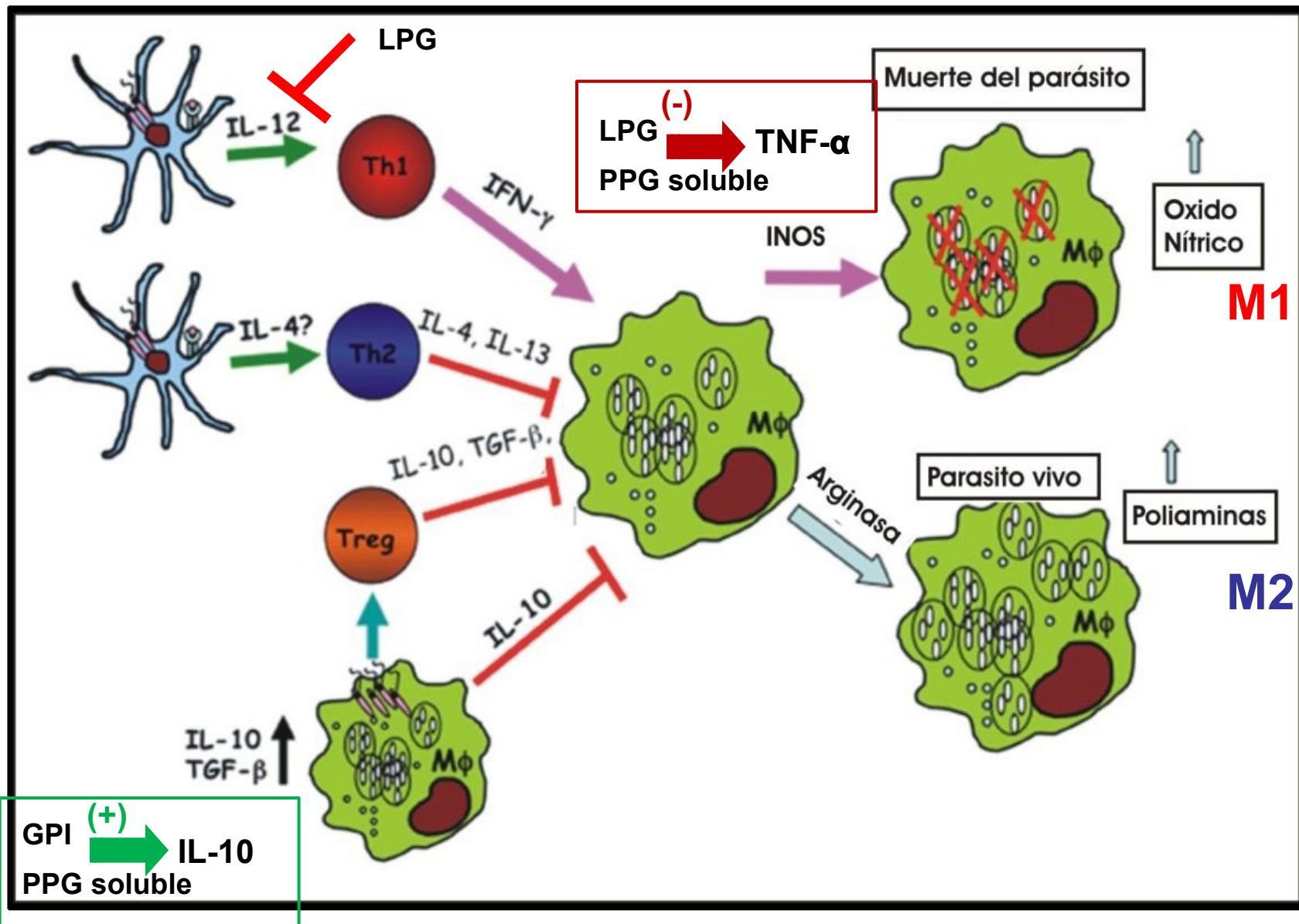


Tamaño de lesión
(Respuesta a la presencia y multiplicación del parásito)

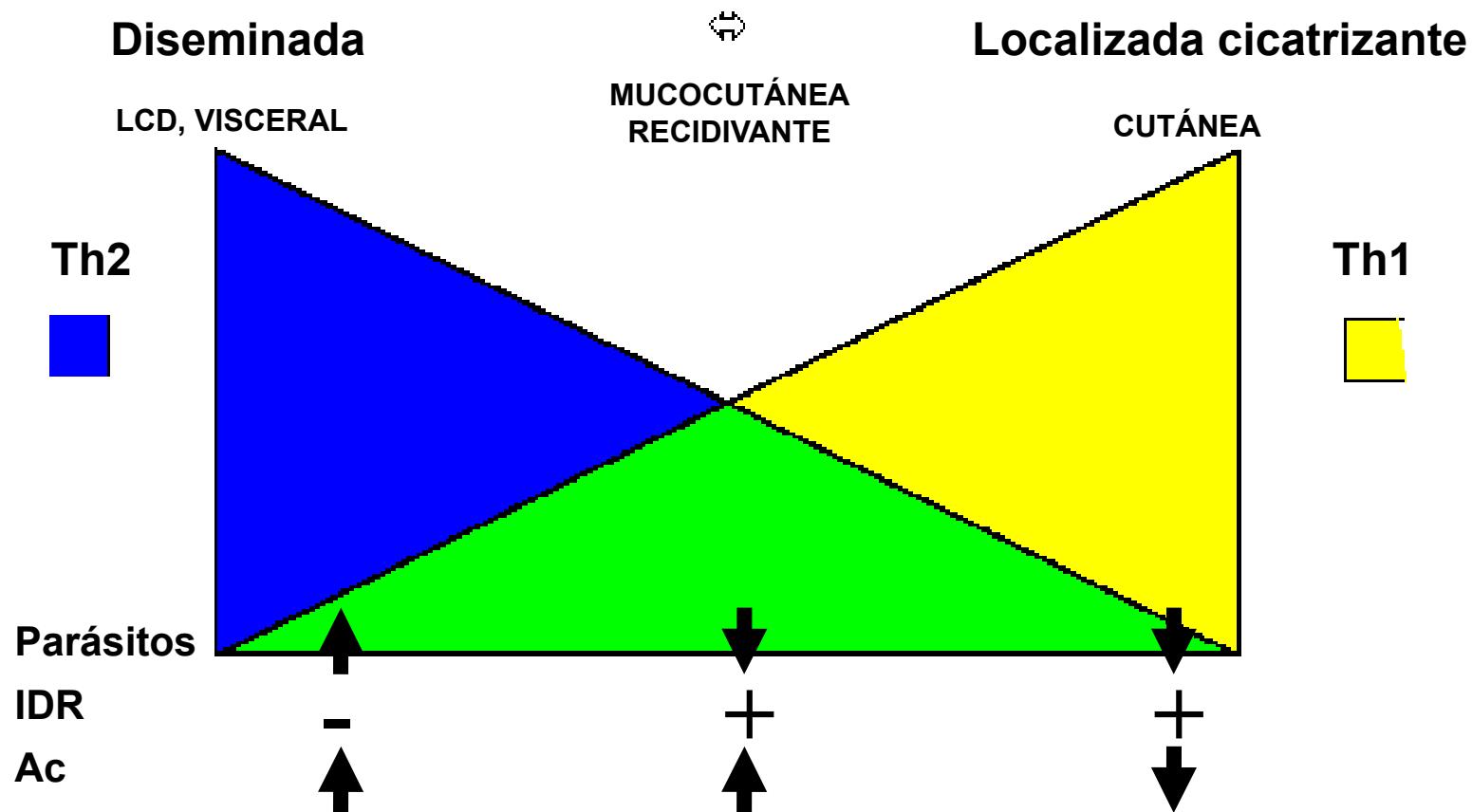
Respuesta TH1

La resolución de la lesión cutánea coincide con la activación de las células T

Modulación y regulación de la respuesta inmune



Desviación de la respuesta inmune



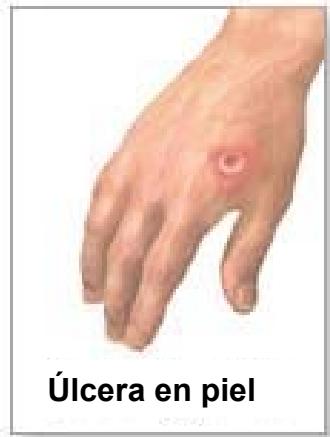
Leishmaniosis visceral

Agentes etiológicos: *L. chagasi*, *L. infantum*, *L. donovani*

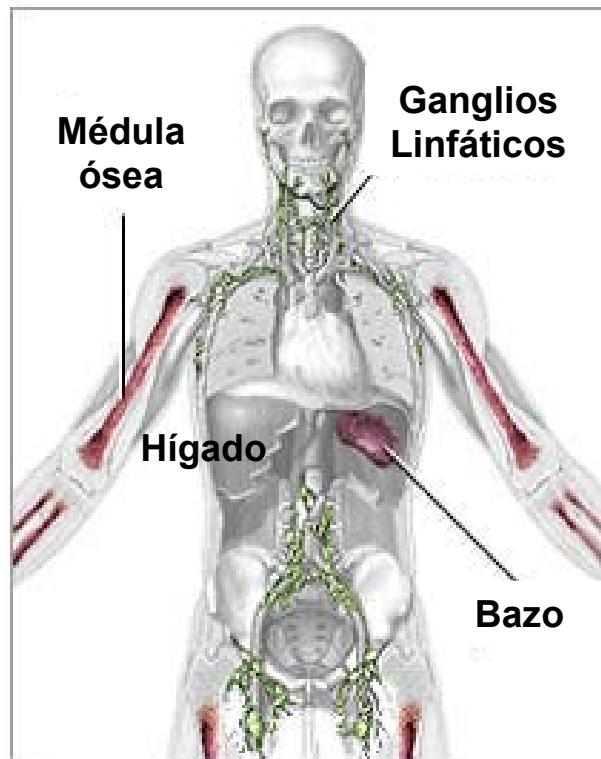
Las especies de *Leishmania* que causan la forma **VISCERAL** se diseminan sistémicamente para propagarse en los **MACRÓFAGOS** de los **ÓRGANOS INTERNOS** (a diferencia de las formas cutáneas que residen en macrófagos de la piel y ganglios).



Flebotomo



Úlcera en piel



Leishmaniosis visceral

Principales causas del aumento de su incidencia:

- migraciones humanas junto a los reservorios (perros infectados)
- falta de medidas de control
- co-infección con VIH

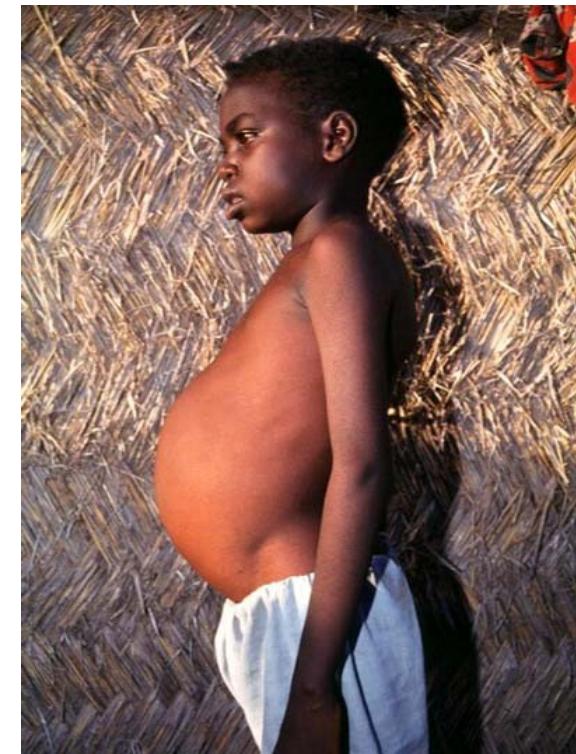
Por su **ALTA LETALIDAD** es fundamental realizar oportunamente el diagnóstico y tratamiento

Hepatoesplenomegalia
Ascitis

Aplasia de medula ósea
(anemia y plaquetopenia)

Hipergamaglobulineamia (IgG)

IDR negativa



CONCLUSIONES

- *T. cruzi* y *Leishmania* spp. se transmiten por vectores y poseen reservorios animales vertebrados; estos parásitos poseen además mecanismos de transmisión no vectoriales
- La respuesta inmune de perfil TH1 interviene en el control de la infección por ambos parásitos sin eliminarlos
- La evasión de la respuesta inmune permite la persistencia parasitaria resultando en infecciones crónicas
- La persistencia parasitaria favorece la transmisión al vector y se relaciona con el desarrollo de la patología