



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

"EVASION INMUNOLOGICA

PRACTICADA POR LOS PARASITOS"

TRABAJO MONOGRAFICO

Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a

JUAN CUEVAS RODRIGUEZ



México, D.F.

2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 :

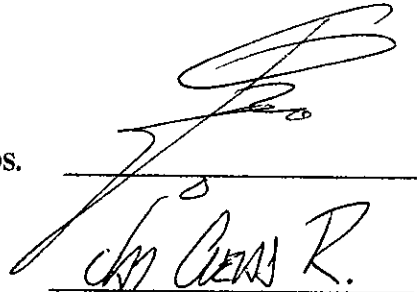
Presidente. : OSCAR VELASCO CASTREJON.
Vocal. : ABEL GUTIERREZ RAMOS.
Secretario. : ADRIANA GUADALUPE MEJIA CHAVEZ.
1er. Suplente. : NORMA ANGELICA CASTELLANOS CHAVEZ.
2do. Suplente. : MARCO ANTONIO BECERRIL FLORES.

Sitio donde se desarrollo el tema :

- Diversas bibliotecas de la U.N.A.M. (Fac. de Medicina, Fac de Veterinaria y Zootecnia , Instituto de Investigaciones Biomedicas, Instituto de Química, Instituto de Fisiología Celular).
- Bibliotecas de el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Centro Medico Nacional, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados de el I.P.N.

Asesor : Q.F.B. ABEL GUTIERREZ RAMOS.

Sustentante : JUAN CUEVAS RODRIGUEZ.



A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Juan Cuevas R.', is written over a horizontal line. The signature is stylized and cursive.

DEDICATORIA

Por su ejemplo de perseverancia, apoyo y sacrificio ; dedico esta Tesis a mi madre :

PETRA RODRIGUEZ MARTINEZ, quien me enseño a luchar mostrándome siempre el camino difícil, pero haciendo que el mío fuera fácil.

Por dejarme aprender de su forma de ser y por tener la sabiduría de colocar la semilla de su nobleza en el momento justo.

Gracias por todo, mamá, y aún más por creer en mí.

Agradecimientos

A la **“Universidad Nacional Autónoma de México”**, porque en ella descubrí la importancia de ser profesionalista, pero aún más la de ser humano.

Al **Q.F.B. ABEL GUTIERREZ RAMOS**, por encaminar e impulsar mis inquietudes profesionales, compartiendo un poco de su gran conocimiento.

A mi hermana **Nancy**, por el soporte técnico y apoyo en general.

A mi esposa **Rocío** por sus oraciones y su cariño.

A mis hijos **Izhar e Ivan**.

A mis hermanos **Angélica y Ulises**.

A mis compañeros y amigos de la **Facultad de Química**, porque juntos hemos vivido todo tipo de experiencias, con un principio común; la amistad.

Mi agradecimiento patente a todas las personas que contribuyeron en la realización de esta Tesis.

“EVASION INMUNOLOGICA PRACTICADA POR LOS PARASITOS”.

INDICE

I.- OBJETIVOS	1
II - INTRODUCCION	2
III - EVASION INMUNOLOGICA DE PROTOZOARIOS	4
1.- <i>Entamoeba histolytica</i>	4
A.- Generalidades	4
B.- Evasión de la respuesta inmune mediada por células	5
B.I.- Modulación de las funciones de los macrófagos	5
B.I.1.- Inhibición de las células presentadoras del antígeno	6
B.I.2.- Modulación de la producción de citocinas	7
B.I.3.- Regulación de las moléculas efectoras y de su actividad amebicida	8
B.2 - Modulación de las funciones de las células T	9
C.- El papel de las glicoproteínas amebianas	10
D.- Inducción de la resistencia al complemento	10
2 - <i>Trichomonas vaginalis</i>	12
A.- Generalidades	12
B.- Degradación de inmunoglobulinas humanas	13
C.- El hierro ; un regulador de la resistencia al complemento	14

3.- <i>Leishmania sp</i>	15
A.- Generalidades	15
B.- Protección contra los productos anti-leishmania del organismo huésped	16
B.1.- Durante la invasión de las células huésped	16
B.2.- Evasión del sistema del complemento	17
B.3.- Mecanismos de supervivencia en el fagosoma y fagolisosoma	18
C.- Inhibición de las síntesis de moléculas anti-leishmania	19
D.- Modulación de las citocinas y células T	20
D.1.- Modulación de la producción de citocinas	20
D.2 - Alteración de la diferenciación de las células T	21
4.- <i>Trypanosoma cruzi</i>	23
A.- Generalidades	23
B.- Regulación de las citocinas	25
B.1.- El papel protector de las citocinas	25
B.2.- Inhibición de TNF α e IL-12	26
C.- Inhibición de la función efectora de los Linfocitos T Citotóxicos (LTC)	27
C.1.- Moléculas efectoras de los Linfocitos T Citotóxicos (LTC)	27
C.2.- Resistencia al poro transmembranal formado por la proteína 70 kDa Ca ⁺⁺ de los Linfocitos T Citotóxicos (LTC)	28
D.- Evasión de las moléculas efectoras del suero (Ig's y complemento)	29
E.- Variación antigénica	30

5.- <i>Plasmodium sp</i> -----	32
A.- Generalidades -----	32
B.- Evasión de la respuesta inmune -----	33
B.1.- Inmunodiversión -----	33
B.1.1.- Prevención -----	33
B.1.2.- Variación antigenica -----	34
B.1.3.- Reacciones cruzadas de los epítopes -----	35
B.2.- Tolerancia (Inmunodiversión) o Mimetismo (Inmunomodulación) -----	36
B.3.- Inmunomodulación -----	36
B.3.1.- Regulación de la función efectora de los macrófagos -----	36
 IV.- EVASION INMUNE DE HELMINTOS -----	 38
A - Generalidades -----	38
B.- Evasión de la respuesta inmune -----	39
B.1.- Inmunodiversión -----	39
B.1.1.- Encapsulación -----	39
B.1.2.- Variación antigenica -----	40
B.1.3.- La muda -----	40
B.1.4.- Producción de proteinasas -----	41
B.2.- Inmunomodulación -----	42
B.2.1.- Supresión de las células T y B -----	42
B.2.2.- Modulación de las citocinas -----	44
B.2.3.- El mimetismo -----	45
B.2.4.- Citocinas como factor de crecimiento -----	46

V.- DISCUSION	48
VI.- CONCLUSIONES	51
VII.- BIBLIOGRAFIA	59

I.- OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL:

El objetivo principal de esta monografía es realizar el análisis y la interpretación de los trabajos de investigación más recientes, realizados en una parte de el área de la Inmunoparasitología (la Evasión Inmune).

OBJETIVOS PARTICULARES:

A.- Explicar y poner de manifiesto los mecanismos a los cuales pueden recurrir los diferentes parásitos para evadir la respuesta inmunológica de el huésped.

B.- Estudiar los mecanismos que hacen posible que muchos parásitos encuentren los medios de persistir por periodos prolongados y aún de crecer y reproducirse en sus huéspedes inmunocompetentes.

C.- Valorar el efecto de estos mecanismos, en la elaboración de vacunas contra las principales infecciones parasitarias.

II.- INTRODUCCION.

Las enfermedades parasitarias son de gran importancia por varias razones: la primera es que son muy frecuentes y en consecuencia una parte muy numerosa de la población mundial se encuentra infectada; desde el punto de vista de daño, las parasitosis presentan una enorme gama de posibilidades que van desde cursar asintomáticas, hasta casos fatales; también la localización de los parásitos en el huésped humano es muy variable desde parásitos que no van mas allá del extracto corneo hasta localizaciones viscerales a nivel prácticamente de todo el organismo. Por otro lado, por sus implicaciones sociales y económicas, las parasitosis producen daño de enorme trascendencia en una comunidad, población y país.

En el parasitismo juegan un importante papel : el parásito, el huésped y el medio ambiente.

Por lo que respecta a la enfermedad parasitaria, estos elementos además de estar presentes tienen relación directa con la frecuencia, distribución geográfica, patogenicidad y transmisión de los agentes etiológicos. De igual forma existen otros factores coadyuvantes vinculados con estos tres elementos, que influyen en la prevalencia de los parásitos, por ejemplo :

- a) En lo que respecta al huésped; su susceptibilidad y/o sus hábitos higiénicos.
- b) Para el medio ambiente se puede enunciar, la contaminación, el clima, las características de el suelo, las condiciones geográficas, y en general el deterioro ambiental.
- c) Con lo que respecta al parásito se puede hacer mención de:

◆ Su virulencia.

◆ Su mecanismo de infección, la vía de entrada, y

◆ **LA EVASION INMUNOLOGICA PRACTICADA POR EL
PARASITO.**

Una virulencia extrema por parte de el parásito : eliminaría al huésped, lo cual conduciría a la extinción de la especie parasitada y por consiguiente a la del parásito mismo.

Una reacción de defensa totalmente eficiente por parte de el huésped eliminaría a la especie parasitaria, lo cual conduciría a la desaparición del parasitismo

Estas observaciones nos sugieren que los diferentes parásitos deben de contar con :
Mecanismos de Evasión Inmunológica que aseguren su supervivencia en el huésped inmunocompetente.

El presente trabajo, intenta explicar de que forma los parásitos pueden llegar a sobrevivir en huéspedes inmunocompetentes sin llegar a ser afectados por los mecanismos inmunes.

III.- EVASION INMUNOLOGICA DE PROTOZOARIOS.

1.- Entamoeba histolytica.

A.- GENERALIDADES.

Entamoeba histolytica es un protozoo que infecta a los humanos, ocasionando amibiasis. La amibiasis intestinal es caracterizada por la diarrea fulminante y la hemorragia intestinal. La destrucción de el epitelio intestinal permite la diseminación hematogena de las amibas a sitios sistémicos resultando respuestas granulomatosas en órganos blandos, comúnmente el hígado .

En la ausencia de tratamiento, el absceso amibiano de hígado puede continuar agrandándose y ocasionar la muerte por peritonitis aguda (si hay explosión de el absceso). Los casos clínicos de amibiasis se tienen reportados a través de todo el mundo con el fin de saber su endemia y mortalidad, las cuales son mas altas en Africa, Sudamérica, India y México (1)

La enfermedad es responsable de entre 50 000 y 100 000 muertes anualmente, siendo la tercera parasitosis causante de muerte, después de la malaria y esquistosomiasis (2). La supervivencia de los trofozoítos de la amiba puede ser favorecida por el desarrollo de un estado transitorio de inmunosupresión asociado con la infección hepática (3,4).

La regulación de las defensas inmunes de el huésped se ilustra a nivel celular por deficiencias en: los macrófagos efectores, en las funciones de las células accesorias, en las funciones de las células T durante la infección y en la respuesta a proteínas amibianas solubles (SAP) “in vitro”.

A pesar de la infiltración de células inflamatorias, las amibas sobreviven y proliferan en el absceso creciente. Macrófagos, células T y otras células en la vecindad del absceso son expuestos a las sustancias que secretan las amibas y a los productos de trofozoítos lisados . La proximidad de

estas células a las amibas dan una oportunidad para que el parásito se proteja asimismo modulando los mecanismos de defensa celular de el huésped

Los macrófagos específicos y las funciones de las células T son prácticamente deficientes debido a la regulación inmunológica realizada:

- Por la amiba, o
- Por el huésped en respuesta a la amiba.

B.- EVASION DE LA RESPUESTA INMUNE MEDIADA POR CELULAS.

B.1.- MODULACION DE LAS FUNCIONES DE LOS MACROFAGOS.

Hay evidencias que sugieren que la efectividad de la inmunidad mediada por células es importante en la defensa de el huésped contra la infección por *Entamoeba histolytica*.

Cuando activamos con interferón γ (INF γ) "in vitro", los macrófagos humanos produjeron la muerte de los trofozoítos ⁽⁵⁾. Asimismo, macrófagos murinos activados con INF γ , con INF γ y lipopolisacaridos (LPS) ⁽⁶⁾, con Factor de Necrosis Tumoral (TNF α), con factor CSF-1, o con la combinación de estos ⁽⁷⁾ mostraron una potente actividad amebicida. Esta destrucción celular parece involucrar ambos mecanismos oxidativos y no oxidativos ^(7,8).

Aunque los macrófagos son células con potente actividad amebicida ⁽⁷⁾, la capacidad citotóxica de los macrófagos es reducida durante la amibiasis hepática aguda ⁽⁹⁾.

Mientras los macrófagos derivados de los abscesos se suprimen, los macrófagos distales de el sitio de la infección (del peritoneo y bazo) parecen estar en un estado aumentado de activación ⁽⁴⁾. Esto sugiere que la supresión de los macrófagos en la amibiasis es principalmente un evento local mediado por la exposición directa a las amibas o a los productos amibianos.

Varios estudios “in vitro” e “in vivo” han demostrado que las amibas son capaces de alterar las actividades de los macrófagos accesorios y las funciones específicas de las células efectoras de tal forma que la supervivencia de los trofozoítos en el hígado se ve favorecida

La modulación amibiana en : la función de las células presentadoras de el antígeno (APC); en la producción de citocinas y en la producción de moléculas efectoras ; representa un sistema regulador que mediante mecanismos celulares múltiples y directos tiene por objeto “burlar” la respuesta inmune de el huésped⁽¹⁰⁾.

B.1.1.- INHIBICION DE LAS CELULAS PRESENTADORAS DEL ANTIGENO.

El origen de la actividad inmune contra *Entamoeba histolytica*, en especial el de la inmunidad específica depende de que los receptores de las células T reconozcan los antígenos amibianos asociados con las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase II (CMH II) que se encuentran en la superficie de la célula presentadora de el antígeno (APC)

La capacidad reducida de estas células (APC) al presentar los antígenos amibianos origina una pobre estimulación de las células T, por lo que no pueden secretar citocinas para la activación de las funciones efectoras de el macrófago.

Este mecanismo puede ocurrir durante la formación de el absceso hepático amibiano (ALA), por medio de la expresión reducida de las moléculas del CMH II sobre los macrófagos. El pretratamiento de macrófagos murinos con proteínas amibianas solubles (SAP) o con productos secretados por el trofozoíto disminuyeron la cantidad de INF γ ; que induce la expresión de las moléculas del CMH II, “in vitro”^(4,11)

Durante la formación de el absceso hepático amibiano (ALA), los macrófagos asociados al absceso se exponen a los productos secretados por la amiba y a los proteínas liberadas de amibas

destruidas, sugiriendo que la expresión de las moléculas del CMH II; también pueden ser deficientemente reguladas "in vivo".

B.1.2.- MODULACION EN LA PRODUCCION DE CITOCINAS.

Una vez activado por citocinas derivadas de células T los macrófagos pueden convertirse en una célula potencialmente efectora. La susceptibilidad de la amiba a la destrucción por los macrófagos; va a indicar la potencia de la regulación inmunológica necesaria para la supervivencia de los trofozoítos amibianos en el hígado. Esta regulación se lleva a cabo sobre la producción de citocinas elaboradas por los macrófagos y en las funciones efectoras de estos.

La monocina TNF α (factor de necrosis Tumoral), es importante en la defensa de los macrófagos contra los trofozoítos ya que induce la producción de óxido nítrico (NO) (9). Y se ha demostrado que este TNF α esta totalmente regulado por el parásito "in vivo" e "in vitro".

El TNF α juega un papel importante y complejo en la amibiasis : mientras hay una producción elevada de TNF α los macrófagos tienen actividad amebicida ; pero cuando los niveles de TNF α bajan se favorece el desarrollo de granulomas amibianos. También se ha demostrado que el TNF α regula el crecimiento de fibroblastos (12).

La actividad granulocítica inhibe la migración de los neutrófilos y aumenta la adherencia de estos así como el daño titular propiamente dicho (13). Todos estos efectos de el TNF α pueden contribuir al desarrollo del absceso.

El doble papel de el TNF α ; en la destrucción de parásitos por la actividad de los macrófagos y en la formación del granuloma, sugieren que el efecto sobre las amibas depende del estado de activación de los macrófagos (11). Los mecanismos por medio de los cuales las amibas estimulan la baja producción de TNF α a partir de macrófagos derivados del absceso aún no se han

determinado₍₁₄₎. Sin embargo es muy probable que *Entamoeba histolytica* contiene una mezcla de componentes que pueden estimular o inhibir la producción de TNF α por los macrófagos.

Entamoeba histolytica también suprime la producción de IL-1 por parte de los macrófagos, por un mecanismo desconocido

B.1.3.- REGULACION DE LAS MOLECULAS EFECTORAS Y DE SU ACTIVIDAD AMEBICIDA.

La activación de los macrófagos produce metabolitos oxidativos (H_2O_2) y no oxidativos (NO) que son importantes en la destrucción intracelular; y extracelular, de los parásitos. Los trofozoítos de *Entamoeba histolytica* son destruidos por H_2O_2 ₍₁₅₎.

Recientemente se ha demostrado que la molécula principalmente involucrada en la citotoxicidad de los macrófagos en contra de *Entamoeba histolytica* es el óxido nítrico (NO) derivado de la L-arginina y que el O_2^- además del H_2O_2 pueden ser cofactores para la molécula efectora de NO ₍₆₎.

El TNF α producido por la activación de los macrófagos aumenta la citotoxicidad del NO contra el parásito ya que induce la síntesis de niveles elevados de NO ₍₉₎. La capacidad efectora de esta molécula (NO) se ve inhibida : debido a la regulación que el parásito ejerce sobre el macrófago impidiendo la producción de TNF α "in vivo" e "in vitro", lo cual favorece el desarrollo de los trofozoítos en el huésped.

B.2.- MODULACION DE LAS FUNCIONES DE LAS CELULAS T.

Las células T son una importante fuente de citocinas activadoras para los macrófagos y pueden ser directamente citotóxicas para las amibas, aunque los mecanismos son todavía desconocidos. Un requisito para la activación de los macrófagos sugiere que las células T tipo Th-1 (que secretan IFN γ , IL-2 e INF β) son necesarias para la inmunidad efectiva contra amibas. Un filtrado de células T estimuladas, aisladas de pacientes tratados por un absceso hepático amibiano (ALA) fueron capaces de activar macrófagos humanos para la destrucción de amibas ⁽¹⁶⁾. La galactosa/N-acetilgalactosamina (una molécula amibica inmunodominante) ha mostrado "in vitro", que induce la proliferación de IL-2 e INF γ , la producción de células T y la estimulación de células T para lisar los trofozoítos ⁽¹⁷⁾. La activación de las células T específicas para el antígeno y los macrófagos efectores son dos componentes importantes en la inmunidad contra el parásito.

La deficiencia de células T en la amibiasis es menos característica que la de los macrófagos y debido a que estos datos provienen de estudios clínicos, la infección amibiana es asociada con la modulación de las células T ⁽¹¹⁾. También las reacciones de hipersensibilidad retardada durante la fase aguda de la enfermedad ⁽³⁾ indicaron bajos niveles de funcionalidad de las células T durante la amibiasis.

Durante la infección amibiana, las células T son hiposensibles a los mitógenos y a la proliferación inducida por sus antígenos. La blastogenesis "in vitro" mostró niveles bajos cuando se trataron células T de pacientes infectados, con el mitógenos Fitohemaglutinina (PHA) ⁽¹⁶⁾.

Resultados similares se obtuvieron con las células T de animales experimentales infectados con *Entamoeba histolytica*.

C.- EL PAPEL DE LAS GLICOPROTEINAS AMIBIANAS.

Entamoeba histolytica puede provocar daño en el huésped, mediante la producción de enzimas ; secreción de citocinas y porfirinas que afectan varios tipos celulares.

Al investigar el efecto de diferentes productos procedentes de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* sobre la secreción de anticuerpos por células de placas de peyer de ratón, los resultados mostraron que algunas glicoproteínas amibianas inhibieron la secreción de anticuerpos por los linfocitos de las placas de peyer de el ratón. En todos los casos la disminución de la secreción de anticuerpos no se debió a la muerte celular, las moléculas responsables de este efecto inhibitor son glicoproteínas inmunogénicas (18) con pesos moleculares elevados y sin actividad de tipo enzimático.

El que algunas glicoproteínas procedentes de la amiba interfieran en la función de las células plasmáticas puede ser un mecanismo por el que *Entamoeba histolytica* evada la respuesta inmunológica de su huésped.

Se desconoce el mecanismo por el cual los productos amibianos alteran la secreción de anticuerpos, no obstante, no es posible descartar la idea de que antígenos amibianos puedan actuar directamente sobre los linfocitos interfiriendo su actividad secretoria.

D.- LA INDUCCION DE RESISTENCIA AL COMPLEMENTO.

El efecto destructivo de el complemento, activado mediante la vía alterna se estudio en cepas patógenas y no patógenas de *Entamoeba histolytica*. Las cepas no patógena casi no fueron afectadas por la exposición a la vía alterna del complemento, mientras que las patógenas fueron altamente susceptibles, llevándose a cabo su destrucción por el complemento. Las cepas patógenas susceptibles desarrollaron resistencia al complemento "in vivo", cuando se pasaron por el hígado de

hámster o "in vitro" durante el cultivo en presencia de concentraciones crecientes de suero humano normal

Una cepa de parásitos patógenos que inicialmente era altamente susceptible, también adquirió resistencia al complemento, durante el cultivo en presencia de suero humano normal; pero el cultivo en presencia de suero humano inactivado por calor no afectó su susceptibilidad al complemento ⁽¹⁹⁾.

Estos resultados sugieren que las amibas adquieren resistencia a la destrucción por el suero, al incorporar en sus membranas proteínas reguladoras de el complemento, como un mecanismo de evasión inmunológica ^(20,21).

2.- *Trichomonas vaginalis*.

A.- GENERALIDADES.

La tricomoniasis es una enfermedad de transmisión sexual distribuida en todo el mundo y causada por el protozoo *Trichomonas vaginalis*. La enfermedad está asociada a una variada sintomatología que va desde cursar asintomática hasta causar severa inflamación e irritación, acompañada de un escurrimiento acuoso de olor fétido ⁽²²⁾. El aborto antes del tercer mes de embarazo ⁽²³⁾ y la predisposición aumentada a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana ^(24,25), asociados con este parásito, son los “hallazgos notables” más recientes que ilustran la importancia de esta enfermedad de transmisión sexual.

A pesar de que durante la infección hay producción de anticuerpos IgG e IgA por parte de el huésped, estos anticuerpos parecen tener poco o ningún valor protector, debido a que emergen a la superficie de las *Trichomonas vaginalis* proteínas y proteinasas que se han encontrado en suero y lavados vaginales (VWs) de pacientes con tricomoniasis ^(26,27).

Numerosas cisteina-proteinasas de *Trichomonas vaginalis* que se han identificado; son los posibles factores de virulencia del parásito ^(28,29)

El papel de estas enzimas proteolíticas “in vivo” no se conoce con certeza, sin embargo seguramente la mayoría de estas cisteina-proteinasas son expresadas “in vivo” ^(30,31). Y al menos una de estas es necesaria para la citoadherencia de las *Trichomonas vaginalis* ⁽³²⁾ y para su resistencia al complemento ⁽³³⁾.

B.- DEGRADACION DE INMUNOGLOBULINAS HUMANAS.

Un posible mecanismo de evasión inmune de este parásito podría ser la capacidad que tienen las proteinasas de *Trichomonas vaginalis* de degradar inmunoglobulinas humanas (Igs) ⁽³⁴⁾. La incubación de IgG e IgA humano con organismos de *Trichomonas vaginalis* da resultados en tiempo y concentración dependientes de la degradación de la cadena pesada.

Cuando se agregaron al lisado tricomonal inhibidores de la cisteina-proteinasas, estos impidieron la degradación de IgG e IgA. Mientras que con EDTA que es un inhibidor de proteínas metálicas, la inhibición no se llevo a cabo. Al realizar la electroforesis tomando como sustrato IgG, IgM e IgA humanas, se identificaron distintas cistein-proteinasas en los lisados además de un crecimiento logarítmico de los parásitos en el medio de cultivo, que degradaron toda clase de anticuerpos humanos.

El lisado de tricomonas y el filtrado de numerosos casos aislados, demostraron una actividad degradadora de Igs

La actividad proteolítica contra IgG se detecto en mas de 26 de 33 lavados vaginales (78%) de pacientes con tricomoniasis. En contraste 18 de 28 lavados vaginales (65%) de mujeres sin tricomoniasis o de pacientes infectados con otra enfermedad de transmisión sexual no se detectaron estas proteinasas, cuando se analizaron de una manera similar. En otros 10 de 28 lavados vaginales (35%) se detecto una pequeña cantidad de proteinasas degradantes de Igs.

Estas diferencias en la actividad degradadora de las proteinasas ⁽³⁴⁾ entre pacientes con y sin tricomoniasis, sin considerar una reinfección con otra enfermedad de transmisión sexual son estadísticamente importantes, ya que los resultados permiten afirmar que *Trichomonas vaginalis* es capaz de degradar Igs humanas.

C.- EL HIERRO: UN REGULADOR DE LA RESISTENCIA AL COMPLEMENTO.

Trichomonas vaginalis es fácilmente destruido por la activación de la vía alterna de el complemento. Pero el parásito se vuelve resistente, siguiendo un crecimiento en un medio enriquecido con hierro a diferencia de los parásitos que se desarrollaron en un medio exento de él.

La resistencia fue dependiente de la concentración de hierro ⁽³⁵⁾, mientras que otros cationes divalentes, fueron ineficaces, a esta regulación específica.

Lactoferrina pero no transferrina proporciono por medio de el hierro, la resistencia que presentaron los parásitos para no ser destruidos por la acción litica del complemento; reforzando su modulación "in vitro".

Proporcionando una alta concentración de hierro, los parásitos se vuelven resistentes al complemento, debido a proteínasas inhibitoras, que dan como resultado la inactivación de este mecanismo de defensa inespecífico.

Indicando que esta resistencia puede ser debida a la degradación de C3 por parte de las proteínasas que se encuentran en la superficie de *Trichomonas vaginalis*.

3.- *Leishmania sp.*

A.- GENERALIDADES.

A casi 100 años del primer reporte hecho por Peter Borovsky sobre la infección de *Leishmania tropica*. Parasitólogos e Inmunólogos han realizado un cuadro detallado de las diferentes etapas de: desarrollo, transmisión, patogenicidad y control del parásito por el sistema inmune.

- Los Parasitólogos por un lado, han desenmarañado los cambios importantes que se llevan a cabo sobre la superficie del parásito durante su etapa altamente infectante y en la forma de promastigote desarrollada en el intestino de sus mosquitos vectores ⁽³⁶⁾.
- Han identificado moléculas del parásito, tales como lipofosfoglucanos (LPS) y la proteasa de superficie 63-kDa, que actúan como ligandos para las células de mamíferos después de la transmisión al organismo huésped ⁽³⁷⁾.
- Han caracterizado las etapas extracelulares del promastigote e intracelular del amastigote por clones de genes de expresión diferencial (por ejemplo, el gene B, el gene A2) que fomentan sus acciones características ^(38,39).
- El aislamiento natural o mediante la ingeniería genética de mutantes de *Leishmania sp.* (deficientes para LPG, gp 63, cisteína-proteinasas); la disponibilidad de vectores antisensibles; así como también la purificación de productos del parásito; han permitido a los investigadores sondear directamente la función de los genes en la interacción huésped parásito para definir los factores de virulencia de *Leishmania sp.* ^(40,41)
- De los Inmunólogos, sabemos que: los macrófagos, linfocitos T tipo (th 1) CD 4⁺ citocinas tales como INF γ , IL-1 β y el TNF α , son indispensables para la solución de infecciones por *Leishmania sp.* y para una inmunidad protectora duradera ^(42,43).

- Se ha identificado que el óxido nítrico producido por los macrófagos y sus reactivos intermediarios (H_2O_2 , O_2) generados por el NADPH-oxidasa y superoxidasa dismutasa de los fagocitos son potentes moléculas efectoras contra *Leishmania sp.* extracelular e intracelular (44,45)
- Además han demostrado que las infecciones no sanadas por *Leishmania sp.* están comúnmente asociadas con la expansión de linfocitos T de ayuda (Th2) (46), que liberaron : IL-4 e IL-5 pero no INF γ , secretando además una elevada cantidad de factores desactivadores de macrófagos (p.ej. Factor β de la transformación de el Crecimiento y Prostaglandinas E2) (47,48,49).

B.- PROTECCION CONTRA LOS PRODUCTOS ANTILEISHMANIA DEL ORGANISMO HUESPED.

B.1.- DURANTE LA INVASION DE LAS CELULAS HUESPED.

Leishmania sp. es el prototipo de los parásitos intracelulares. Después de la inoculación en la dermis por la mordedura del mosquito vector (*Lutzomyia sp* ; *Phebotomus sp.*) los promastigotes infectan a los macrófagos y/o a las células dendríticas de la piel (células de Langerhans) (55,56), donde se transforman en amastigotes (57). Múltiples receptores de las células de el huésped (receptores tipo 1 y tipo 3 del complemento “CR1, CR3”, receptor manosa-fucosa, receptores para fibronectinas) y varias moléculas de superficie del parásito (LPF, gp63) parecen ser responsables de la captación y fijación de los promastigotes. La interacción entre los ligandos de el parásito y los receptores de la célula huésped pueden bloquear directa o indirectamente la vía de las moléculas del suero en la relación huésped parásito, (C3b/C3bi, Fibronectinas, Proteína C Reactiva) (37,54,58,59).

La facilidad y los múltiples sistemas receptores con que *Leishmania sp.* Capta e infecta a las células de el huésped ; sugieren que estas células podrían formar un ambiente protector para el parásito, por lo menos durante la fase inicial de la infección en la piel. Se ha demostrado que las células de Langerhans "in vitro" : no permiten la replicación intracelular del parásito pero tampoco causan su muerte. Esto podría ser debido a fallas en la inducción de la síntesis del óxido nítrico en estas células, después de su activación por citocinas (60). En un modelo de ratón la función de las células blanco para *Leishmania major* se asocio con monocitos de la sangre periférica y con macrófagos inmaduros; que en un experimento (pero no en varios) (61) , fueron reportados como incapaces para destruir los amastigotes de *Leishmania major* "in vitro" después de su activación con citocinas (62).

Además, las lesiones cutáneas no sanadas de ratones BALB/C contienen una cantidad mayor de macrófagos inmaduros (positivos para el marcador MRP14 y negativos para eFA/80) que los infiltrados en la piel de ratones resistentes C57BL/6 (63). La situación sin embargo parece ser diferente en la infección por *Leishmania donovani* donde los monocitos de la sangre son muy eficientes para destruir los promastigotes en respuesta al INF γ (64)

B.2.- EVASION DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO.

Los promastigotes procíclicos de *Leishmania sp.* Son las formas extracelulares no infecciosas del parásito, susceptibles a la lisis por acción del complemento en ausencia de anticuerpos antileishmania. En contraste, los promastigotes metacíclicos son altamente infecciosos (se transmiten por la picadura del vector) y relativamente resistentes a la lisis por el suero.

Ambas formas muestran cantidades comparables de C3 en su superficie, donde predominan las moléculas C3b que tienen actividad hemolítica

Asimismo, cantidades equivalentes de C9 se depositaron sobre ambas formas de promastigotes. Sin embargo mientras que C9 soporta complejos que se exponen sobre la superficie de los promastigotes resistentes, esto no se lleva a cabo en los promastigotes susceptibles (50). La fracción de membrana de los promastigotes resistentes tuvieron la habilidad de inhibir el complemento mediante la hemólisis. Además, la fracción de membrana de los promastigotes resistentes inhiben los últimos pasos de la lisis de los eritrocitos del cerdo de guinea; mucho mas eficientemente de lo que lo hacen los promastigotes susceptibles al complemento (50).

La liberación espontánea de el complejo C5-C9 de la superficie del parásito (51) puede asociarse con la elongación de la cadena de fosfolucanos de los LPG de superficie (52,53).

La metaloproteinasa de superficie 63-kDa (gp63) es mas abundante en la fase metacíclica que en la fase procíclica de el parásito, esto se asocia con la resistencia a la lisis por el complemento (54).

B.3.- MECANISMOS DE SUPERVIVENCIA EN EL FAGOSOMA Y FAGOLISOSOMA.

Para el establecimiento de una infección en el huésped mamífero, *Leishmania sp.* Debe sobrevivir al proceso de la fagocitosis y luego resistir al ambiente ácido y rico en proteasas del fagolisosoma, diversas moléculas (p.ej. LPG, gp63, glicoinositolfosfolípidos "GILPs") son diferencialmente expresados sobre la superficie de los promastigotes y amastigotes de *Leishmania sp.* Y parecen contribuir a su supervivencia intrafagosomal e intrafagolisosomal.

Los LPG son expresados en mayor cantidad sobre la superficie de los promastigotes que en la de los amastigotes y son esenciales para la supervivencia de los promastigotes en los macrófagos humanos o de ratón (40,65). Los LPG inhiben la fusión del fagosoma endosoma y limpian eficientemente los radicales hidroxil y los aniones superóxido (66) que se liberan después de la activación de NADPH-oxidasa durante la fagocitosis. La inhibición fagolisosomal de los LPG puede tener la intención de que el parásito obtenga el tiempo necesario para su transformación a la

forma de amastigote que es considerada la más resistente a las enzimas y al pH ácido de el fagolisosoma.

Además de los LPG, los promastigotes de todas las especies de este parásito expresan la metalproteínica gp63 sobre su superficie

En los amastigotes, una gp63 es liberada en el lisosoma y su expresión en la membrana superficial es muy débil. Dependiendo de el sustrato la actividad proteolítica de esta enzima es optima para neutralizar el pH ácido (67,68). La actividad de proteasa de la molécula gp63 protegió a los parásitos de la citolisis intrafagolisosomal y de la degradación (69). Y es necesaria para su virulencia "in vivo".

Recientemente se describió un mecanismo por medio del cual los promastigotes y amastigotes pueden pasar de una célula huésped a otra, pero este rol de supervivencia de *Leishmania sp.* aún no se ha establecido formalmente (70).

C.- INHIBICION DE LA SINTESIS DE MOLECULAS ANTILEISHMANIA.

Los dos principales mecanismos efectores contra los parásitos de *Leishmania sp.* son: La liberación de el anión superóxido (O_2^-) de los neutrófilos y macrófagos por la vía del NADPH-oxidasa, y, la síntesis de NO derivado de la L-arginina, en los macrófagos. *Leishmania sp.* es capaz de interferir en los dos mecanismos.

La infección de macrófagos humanos o de ratón con *Leishmania major* o *Leishmania donovani* redujeron drásticamente la producción de O_2^- o H_2O_2 en respuesta a phorbolsters (71,72).

El efecto de la incubación de los macrófagos con bajas concentraciones de LPS sobre la síntesis de NO, fue estudiado usando macrófagos murinos J774 y macrófagos peritoneales de ratón BCA. Las células que se incubaron con LPS produjeron cantidades significativamente bajas de NO; y expresaron bajos niveles de actividad en la síntesis de esta molécula, siguiendo la estimulación con

LPS + INF γ o con una alta concentración de LPS. Este efecto no fue revertido por el TNF α . La capacidad de los macrófagos CBA para destruir al parásito intracelular *Leishmania major* fue notablemente reducida por la preincubación con LPS.

La reducción en la producción de NO por parte de los macrófagos anteriormente expuestos a los LPS es una manifestación de tolerancia a la endotoxina y puede representar un importante mecanismo de regulación en la síntesis de NO y asimismo un mecanismo de supervivencia para el parásito intracelular (73).

D.- MODULACION DE LAS CITOCINAS Y CELULAS T.

La inducción del antígeno específico, la producción de INF γ por los linfocitos (Th1) CD4⁺ y la subsecuente activación de los macrófagos para destruir los amastigotes intracelulares son la llave que se requiere para el control de algunas enfermedades por *leishmania sp.*

No es sorprendente que *Leishmania sp.* sea capaz de interferir en varios pasos de este proceso, demorando o eventualmente bloqueando el desarrollo de una respuesta inmune protectora.

D.1.- MODULACION DE LA PRODUCCION DE CITOCINAS.

Las citocinas derivadas de los macrófagos que inhiben la destrucción intracelular de *Leishmania sp.* incluyen el Factor de la Transformación del Crecimiento (TGF) (74), y la IL-10.

Leishmania mexicana y *Leishmania major* han mostrado que inducen la producción de TGF "in vivo" o "in vitro" después de infecciones intradérmicas.

La expresión de TGF fue incrementada en las lesiones de pacientes con leishmaniasis cutánea crónica (75). En el ratón, la aplicación intrainestinal de TGF intensifica el crecimiento de la lesión mientras que la neutralización de la actividad del TGF detuvo el desarrollo de la lesión (47,48,74,76,77).

La presencia de cantidades aumentadas de TGF endógeno se relacionó con una reducida actividad de las células asesinas naturales de los nódulos linfáticos (75,78).

Así, el efecto del TGF "in vivo" puede deberse a su capacidad de reprimir las funciones de las células T NK y de los macrófagos efectores (lisis del parásito por el óxido nítrico y el peróxido de hidrógeno).

Esta capacidad inhibitoria también es compartida con la IL-10 al menos "in vitro". Los promastigotes de *Leishmania major* (en particular en su forma procíclica) estimulan a los macrófagos para producir IL-10 (79,80).

Un reciente estudio sugiere que la inducción de IL-10 por *Leishmania sp.* puede variar entre sus diferentes especies clínicas aisladas.

La incubación de macrófagos con *Leishmania aethiopica* aislada de pacientes con persistente Leishmaniasis Cutánea Difusa (DCL) condujo a la expresión de una mayor cantidad de IL-10 que de INF γ ; *Leishmania aethiopica* aislada de pacientes ya recuperados, de la enfermedad estimularon las mismas células para la producción de INF γ , pero no para IL-10 (81).

La infección de macrófagos con *Leishmania sp.* también altero su capacidad de liberar citocinas que regulan la estimulación de células T. Macrófagos de ratón o humanos, infectados con *Leishmania donovani* mostraron una producción reducida de IL-10 y/o TNF α después de la estimulación con LPS (82,83,84)

D.2.- ALTERACION DE LA DIFERENCIACION DE LAS CELULAS T.

Entre Inmunólogos y Parasitólogos, la posibilidad de que antígenos parasitarios puedan promover el desarrollo de una protección segura por linfocitos T (Th2) ha sido discutida repetidamente, la evidencia para este concepto se obtuvo principalmente durante el curso de

estudios de vacunación en un modelo de ratón con *Leishmania major*, en donde la inmunización con varios antígenos indujo una respuesta agudizada mas que protectora contra la enfermedad (85). Por otra parte, la existencia de protección contra la enfermedad agudizada por los elementos receptores $V\alpha V\beta$ de las células T no se ha demostrado.

Sin embargo, en un extracto de ratón genéticamente enfermo (BALB/c), se mostró que un solo epítoto derivado del LACK antigénico es responsable de la producción rápida de IL-4 por la célula T ($V\beta 4 V\alpha 8 CD4^+$) después de las primeras 16 horas de la infección por *Leishmania major* lo cual se relacionó con el desarrollo progresivo de la enfermedad en estos ratones. Ninguna IL-4 se detecto en un extracto de ratones curados (C57BL/6).

Aunque estos resultados se obtuvieron de ratones consanguíneos, ellos indican la posibilidad de que en individuos genéticamente susceptibles los parásitos de *Leishmania sp.* y sus antígenos pueden desvirtuar la respuesta inmune de la célula T. Es probable que los diferentes cursos con que evolucionan las infecciones por *Leishmania sp.* sean la consecuencia de una diversa predisposición genética por parte de los organismos huéspedes (87,88).

4.- *Trypanosoma cruzi*.

A.- GENERALIDADES.

El protozoario intracelular *Trypanosoma cruzi* es el agente causante de la tripanomiasis sudamericana o Enfermedad de Chagas, un crónico y debilitante desorden multisistémico que afecta a 25 millones de personas en América Latina (89).

Este parásito tiene un ciclo complejo de vida y existe en por lo menos tres formas morfológicas distintas :

- Epimastigote Que se multiplica en el intestino de su insecto vector.
- Trypomastigote metacíclicos o sanguíneo. Que infecta a las células mamíferas. Y
- Amastigote. Que crecen y se multiplican en gran variedad de células mamíferas del huésped, incluyendo los macrófagos (89,90).

La invasión de las células mamíferas y su multiplicación son esenciales para las manifestaciones de la enfermedad y la continuación del ciclo de vida de el parásito. Esto requiere la interacción de los fenómenos mutuos de reconocimiento activo que ocurren entre el parásito y la célula del huésped La secuencia de los pasos involucrados son esenciales para la penetración del parásito (91).

Durante la década pasada se acumularon evidencias que sugieren varias interacciones específicas “receptor-ligando” que se llevan a cabo en los sucesos tempranos de la invasión de las células por el parásito (90)

Varias moléculas de *Trypanosoma cruzi* tales como proteínas y glicoconjugados, han mostrado ser importantes en la invasión de las células (90) No se conoce mucho de la relación existente entre los receptores del parásito y las células del huésped. Se ha sugerido la existencia de receptores $\beta 1$ en el parásito para la unión e invasión de las células del huésped (92)

Evidencias actuales indican que el *Trypanosoma cruzi* penetra en las células del huésped por un proceso activo distinto al de la fagocitosis que involucra un aumento intracelular de Ca^{++} en las células del huésped (93,94). Se ha detectado que un factor derivado de los tripomastigotes esta relacionado con este proceso, aunque su caracterización bioquímica no se ha determinado (95,96).

Por otra parte, la resistencia al *Trypanosoma cruzi* depende de las células naturales asesinas (NK) (97) y de los linfocitos T Citotoxicos (LTC) (98) del huésped.

Recientemente se ha reportado que los LTC pueden actuar directamente destruyendo algunos protozoarios, hongos y otros parásitos (99).

En el caso de *Trypanosoma cruzi*, se ha demostrado que ratones infectados redujeron la proliferación de las células T $CD8^{+}$ en la etapa aguda de la enfermedad, con un aumento en la parasitemia y la mortalidad (100).

Además ratones carentes para la β -2 microglobulina o el gen $CD8^{+}$ producen células T $CD8^{+}$ deficientes, que han mostrado ser mas susceptibles a la infección por *Trypanosoma cruzi* (100, 101).

El agotamiento de las células NK a principios de la infección en los ratones, también ocasiona un incremento de la susceptibilidad a la infección y la administración de citocinas capaces de estimular la activación de las células NK (p.ej $INF \alpha$, $INF \beta$) inducen la resistencia al parásito (102).

Además las células del bazo de ratón han mostrado destruir epimastigotes y tripomastigotes libres de *Trypanosoma cruzi* una actividad que desaparece después del tratamiento con anticuerpos contra las moléculas de superficie de las células NK y contra el parásito (103).

A pesar de la comprensión creciente de los mecanismos moleculares por los cuales los LTC destruyen sus blancos (104,105,106) poco se conoce sobre como ellos controlan las infecciones de los parásitos intracelulares. Un mecanismo posible puede ser la acción directa citotóxica contra las células infectadas y los parásitos libres. Otra posibilidad es que las citocinas secretadas por las LTC

pueden estimular a otras células, entre ellas a los macrófagos que a la vez destruyen a los parásitos.

B.- REGULACION DE LAS CITOCINAS.

B.1.- EL PAPEL PROTECTOR DE LAS CITOCINAS.

Las citocinas juegan un papel clave en la regulación de la replicación de los parásitos y en la respuesta inmune de los animales infectados (107).

Los macrófagos son las células huésped preferidas por el parásito (108) así como también las células efectoras más importantes contra él.

La IL-12 producida por los macrófagos en respuesta a la infección, regula la resistencia a *Trypanosoma cruzi* (109).

Además la activación de los monocitos por citocinas liberadas de células Th1 juegan un papel importante en la infección controlada, “in vitro” e “in vivo”.

Se ha reportado que el INF α y el INF γ liberados por células Th1 activan en forma cinérgica la actividad de los macrófagos para la destrucción intracelular de *Trypanosoma cruzi* a través de el óxido nítrico dependiente de la L-arginina (110,111).

Esto parece ocurrir también “in vivo”: después de la administración de anti-INF γ (112,113) se detectó un drástico incremento en la parasitemia y mortalidad de los ratones que demostraron una alta susceptibilidad a la infección (114).

Resultados recientes indican claramente un papel protector para el TNF α en la infección por *Trypanosoma cruzi* (115). Otros estudios muestran que el NO está relacionado en la resistencia de ratones infectados con *Trypanosoma cruzi* (116,117).

En contraste la IL-10 y el factor TGF- β se han asociado con la susceptibilidad a la infección por inhibir la activación de los macrófagos (112,118,119). Recientemente las mucinas de *Trypanosoma cruzi* han mostrado estar involucradas en la interacción con las células de el huésped (90).

B.2.- INHIBICION DEL TNF α E IL-12.

Las citocinas secretadas por los macrófagos tienen un papel importante en la inmunidad contra *Trypanosoma cruzi*. Se ha reportado que la molécula Glicosil-fosfatidil-inositol (GPI) purificada de las mucinas provenientes de la membrana de *Trypanosoma cruzi*, también llamada Ag C110 se une a la superficie de los macrófagos muy probablemente por la interacción con el receptor CD62L e induce la adhesión celular así como el incremento del Ca⁺⁺ intracelular (120).

Interesantemente el tratamiento de los monocitos con el Ag. C110 :

- Induce la secreción de IL-1 β pero no de TNF α o de IL-12.
- Además estas células segregan IL-1 pero no INF β o IL-12 después de la activación con LPS.

La infección de los macrófagos con *Trypanosoma cruzi* muestra alteraciones similares en la secreción de citocinas con :

- una producción alta de IL-1 β y una habilidad disminuida en la secreción de IL-12 e
- INF α , después de la activación con LPS.

Estos efectos se demostró fueron inhibidos considerablemente, neutralizando el receptor para el Ag. C110 de el parásito

Posiblemente la inhibición de el TNF α e IL-12 por el *Trypanosoma cruzi* , sea un mecanismo de evasión inmunológica (120)

C.- INHIBICION DE LA FUNCION EFECTORA DE LOS LINFOCITOS T CITOTOXICOS.

C.1.- MOLECULAS EFECTORAS DE LOS LINFOCITOS T CITOTOXICOS.

A fin de impedir directamente y/o controlar una infección por cualquier parásito intracelular, los Linfocitos T Citotoxicos (LTC) necesitan tener una maquinaria molecular capaz de producir daño sobre las células huéspedes y/o el parásito mismo.

Entre las moléculas efectoras utilizadas por los LTC y NK están las moléculas 70 kDa Ca^{++} y ciertas enzimas presentes en los gránulos secretorios y en la superficie de las moléculas Fas-ligand (105,106,121).

La molécula 70 kDa Ca^{++} es una proteína de la cual depende la formación de el poro transmembranal en los parásitos; después de ser segregada en el espacio intercelular; los monómeros de esta molécula pueden unirse a la membrana de las células blanco infectadas por el parásito, polimerizarse y formar poros y transmembranales (105,106,121).

Estos poros perturban la permeabilidad de la membrana citoplásmica y pueden conducir a la lisis de la célula blanco.

Durante el proceso destructivo de la célula blanco, los LTC no son afectados por si mismos (122,123). De hecho los LTC son resistentes a la acción lítica de sus gránulos y eventualmente a la molécula 70 kDa Ca^{++} purificada, a una dosis mas alta que la requerida para lisar células susceptibles (122,123).

Interesantemente los LTC no son resistentes a la acción del complejo de ataque a la membrana del complemento (124,125).

La molécula proteica C9 de el complemento presenta una homología funcional y estructural a la molécula 70kDa Ca^{++} (126).

C.2.- RESISTENCIA AL PORO TRANSMENBRANAL FORMADO POR LA PROTEÍNA 70 kDa Ca⁺⁺ DE LOS LTC.

Al investigar el efecto de la molécula 70 kDa Ca⁺⁺ sobre las formas de Epimastigote, Amastigote y Tripomastigote de *Trypanosoma cruzi* y sobre los macrófagos infectados por este parásito, se obtuvieron los siguientes datos :

- El *Trypanosoma cruzi* en sus tres diferentes etapas fueron resistentes a la molécula 70 kDa Ca⁺⁺ purificada, en una dosis suficiente para lisar células susceptibles de tumor.
- Ningún cambio morfológico se observó por medio de el microscopio electrónico ; en los tres estadios del *Trypanosoma cruzi*.
- Los niveles de supervivencia y efectividad de los parásitos tratados "in vitro" fueron parecidos a los registrados para los parásitos utilizados como control.
- Además los niveles de calcio (utilizados para evaluar el daño a la membrana de los parásitos) demostraron que este parásito es resistente al ataque de la molécula efectora 70 kDa Ca⁺⁺ de los LTC; con lo cual se evitó la formación de el poro transmenbranal y la subsecuente lisis del parásito.
- La resistencia a la molécula efectora 70 kDa Ca⁺⁺, no fue transferida a las células huésped de el parásito (macrófagos); los cuales fueron fácilmente destruidos por la acción lítica de la molécula, mientras que los amastigotes intracelulares liberados permanecieron intactos.

Existe la posibilidad de que el *Trypanosoma cruzi* haya evolucionado un mecanismo de evasión inmune que los hace resistentes a las moléculas efectoras de los linfocitos T Citotóxicos (127)

D.- EVASIÓN DE LAS MOLECULAS EFECTORAS DEL SUERO.

(INMUNOGLOBULINAS Y COMPLEMENTO).

La persistencia de los tripomastigotes del *Trypanosoma cruzi* en la sangre de los vertebrados es esencial para su transmisión al vector hematófago y comenzar un nuevo ciclo. Los tripomastigotes pueden extender su estadía en el torrente sanguíneo mediante mecanismos de evasión inmune generales tales como:

- La expresión de moléculas de superficie con actividad anti-complemento (p.ej. T-DFA, gp 58/68, gp160), que confieren resistencia a la lisis por el complemento (128,129).
- El cambio de moléculas de superficie mediante la vía de la endocitosis ; que puede ayudar al parásito a librarse de los anticuerpos de la membrana (130).
- La liberación de complejos que se encuentran en la membrana del parásito; mecanismo regulado por la fosfolipasa. Por ejemplo la liberación del Glicosil-Fosfatidil-Inositol (GPI) de las glicoproteínas de superficie (131).

Los tripomastigotes aumentan su resistencia a los anticuerpos inducidos durante su interacción con el sistema inmune del huésped vertebrado (132).

En otro estudio (133) los tripomastigotes de ratón fueron esencialmente refractarios a la unión "in vitro" de las inmunoglobulinas (Igs) mostrando que sus membranas fueron cubiertas completamente por anticuerpos IgM.

Además los anticuerpos IgM unidos a la membrana de el Trpomastigote limitan la cantidad de anticuerpos IgG junto al parásito; impidiendo una respuesta inmune efectiva.

Estos hallazgos sugieren que durante la selección o inducción de las formas resistentes a las inmunoglobulinas; la interacción de el parásito con el sistema inmune de el huésped, originan la

reducción de el numero de moléculas que emergen a la superficie de el parásito a las cuales se unen los anticuerpos

Es fácil aceptar que la expresión de moléculas que sirven de unión a los anticuerpos IgG se ve inhibida, mientras que la expresión de moléculas, que utilizan los anticuerpos IgM para unirse a la membrana del parásito se ven favorecidas. La capitación de IgM en la membrana de el parásito impide la acción lítica de las demás inmunoglobulinas.

Esta regulación de el efecto lítico de los anticuerpos, podría ser un mecanismo de evasión inmune por medio el cual *Trypanosoma cruzi* aumenta su permanencia en el torrente sanguíneo, favoreciendo así la transmisión del parásito al insecto hematófago vector (133).

Además todas las formas de este parásito activan la vía alterna de el complemento pero únicamente los epimastigotes son lisados.

Los amastigotes escapan a la lisis bloqueando la unión de el complejo lítico C5b-9 a la membrana (134).

Mientras que los tripomastigotes metacíclicos del torrente sanguíneo impiden la cascada de el complemento mediante el incremento de la enzima C3bBb (135,136).

E.- VARIACION ANTIGENICA.

Los tripomastigotes tienen un extenso repertorio de genes para expresar diversas glicoproteínas variantes de superficie (VSG) y datos recientes muestran que este repertorio de casi 1000 genes (137) para las VSG puede ser amplificado :

- Por la formación de mosaicos de genes, y
- Por las mutaciones de punto.

Produciendo una capacidad casi ilimitada para variar las VSG (138).

Trypanosoma cruzi también evade la respuesta inmune de los huéspedes mamíferos, cambiando continuamente la estructura de sus VSG, las cuales son el blanco y a la vez las encargadas de neutralizar los anticuerpos inducidos para su destrucción (127,128).

Las nuevas VSG presentan epítopes que son lo suficientemente diferentes, para no ser reconocidas por los anticuerpos ya existentes (inducidos por epítopes anteriores) (139,140).

A consecuencia de la continua interacción entre los nuevos tipos de VSG y la inducción de los correspondientes anticuerpos, la parasitemia fluctúa de forma característica (137).

En una infección única mas de 100 diferentes tipos de variables antigenicas pueden provenir como resultado de la expresión diferencial de los genes VSG de el genoma (141,142).

Al realizarse la variación antigenica : un único gen VSG se expresa activamente sobre la superficie individual de el *Trypanosoma cruzi* aunque varios puedan expresarse simultáneamente en los demás tripanosomas de el organismo huésped.

5.- *Plasmodium sp.*

A.- GENERALIDADES.

La malaria es uno de los problemas mas serios que encaran los habitantes de los países en vías de desarrollo. La Organización Mundial de la Salud estima que hay.

- 240 millones de personas infectadas por este parásito.
- 1.8 billones de personas viven en las áreas de riesgo. Y
- Mas de 1 millón de personas mueren cada año por esta enfermedad. Siendo la primera parasitosis causante de muerte en el mundo, cuatro especies :

Plasmodium falciparum, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* y *Plasmodium malarie* causan la enfermedad en el hombre, siendo la primera la mas mortal.

Los programas actuales de control han fracasado parcialmente debido al desarrollo y diseminación de parásitos resistentes a las drogas y a los vectores resistentes a los insecticidas.

Se presume que el proceso de la fagocitosis juega un papel importante en la inmunidad contra la malaria, como un componente de el sistema inmune involucrado en la destrucción de los parásitos

(143,144)

La destrucción de parásitos dentro de el fagolisosoma de los monocitos^(145,146) y la destrucción extracelular manifestada por las formas degenerativas intraeritrocitarias^(147, 148) se han descrito.

Dos escuelas divergen sobre cual es el tipo de inmunidad mas efectiva en la defensa contra la malaria. Unos conceden un papel mas importante a los anticuerpos (Inmunidad Específica)^(149,150), y los otros a la Inmunidad No Específica, que es prácticamente el resultado de la activación de los macrófagos^(151,152).

La importancia de la inmunidad mediada por células es destacada por resultados en los cuales

las células B de ratón fueron deficientes para resolver la infección de malaria que utilizó una cinética similar a la reflejada en ratones sanos (153,154).

Hay evidencias de que monocitos y macrófagos de voluntarios humanos normales pueden destruir el *Plasmodium falciparum* en los medios de cultivo ausentes de anticuerpos (155,156). También se demostró que las series de monocitos y macrófagos son capaces de destruir *Plasmodium yoelli* en un sistema "semi in vivo" en la ausencia de anticuerpos (157). Estos datos pueden interpretarse (158) diciendo que el huésped posee un sistema natural antiplasmodial potencialmente capaz de actuar ante los parásitos inmediatamente después de la invasión .

Algunos mecanismos de evasión han sido sugeridos en las infecciones por *Plasmodium sp.* (159), en los cuales los parásitos podrían :

- Impedir o desviar el reconocimiento inmune (Inmunodiversión). Y/o
- Inhibir las respuestas inmunes a antígenos que han sido o pueden ser reconocido por el sistema inmune. (Inmunosupresión).

B.- EVASION DE LA RESPUESTA INMUNE.

B.1.- INMUNODIVERSION.

B.1.1.- PREVENCIÓN.

Durante la infección en su etapa eritrocitaria, el parásito es mayormente intracelular y es expuesto al ambiente extracelular por períodos cortos de tiempo, antes de invadir una nueva célula del huésped. De esta forma el parásito se oculta parcialmente de el sistema inmune. Además desde su posición intracelular el parásito hace que el eritrocito infectado con los trofozoítos y esquizontes

de *Plasmodium falciparum* se adhieren a las células endoteliales. De el sistema capilar evitando así, las células efectoras de el bazo y otros tejidos (160, 161).

B.1.2.- VARIACION ANTIGENICA.

Cuando comparamos proteínas purificadas de diferentes parásitos, es claro que muchas de estas muestran una extraordinaria diversidad de fenotipos antigénicos (162).

Varios antígenos se han encontrado frecuentemente en la infección de un mismo paciente (163). Tal diversidad es probable que sea el resultado de mutaciones espontáneas acumuladas con el cambio y recombinación de información genética entre los diferentes antígenos (164).

Sin embargo los parásitos también parecen ser capaces de experimentar variación antigénica y formas alternativas de una misma molécula son expresadas desde un repertorio genético (165). Tal diversidad en los antígenos parasitarios de *Plasmodium sp.* es probable que contribuyan al desarrollo lento, de la inmunidad (165).

El estudio de los antígenos expresados sobre la superficie de eritrocitos infectados, aislados de niños Gambienses con malaria. Se llevo a cabo midiendo; la presencia de anticuerpos presentes en el suero de pacientes en la etapa aguda y convaleciente de la enfermedad contra los antígenos del parásito.

El suero de un niño convaleciente reaccionó con los eritrocitos infectados de el mismo niño, pero no con eritrocitos de otros niños.

El suero de un adulto inmune reaccionó frecuentemente con los eritrocitos de todos los niños y los experimentos de absorción indicaron que el suero del adulto inmune desde luego contenía anticuerpos que reaccionaron con varios antígenos del parásito.

Los autores concluyeron que los niños desarrollaron anticuerpos contra la variante de los epitopes. Y los adultos inmunes habían desarrollado anticuerpos contra menos inmunógenos pero conservando los epitopes.

Esta es una ventaja obvia para el parásito ya que le permite evitar la respuesta inmune de su huésped; pero no al punto de causar su muerte por una infección secundaria con otro patógeno. Así, el anticuerpo antiparásito puede reproducirse pero regulado por la variación antigenica.

Las proteinasas de el circunsporozoito contienen una cantidad de epitopes de la célula B dentro de la región repetitiva mientras que los epitopes de la célula T parece ser se ubicaron en la región variable de la molécula (167).

B.1.3.- REACCIONES CRUZADAS DE LOS EPITOPES.

Muchas proteínas del *Plasmodium sp.* contienen sucesiones cortas de aminoácidos que se repiten extensivamente, estas repeticiones se exponen en los epitopes de el parásito causando la producción de anticuerpos específicos contra el parásito (168).

Los anticuerpos contra un epitope frecuentemente tienen reacciones cruzadas con otros epitopes dentro de la misma molécula o con otras proteínas del parásito (169).

Se propuso que estas reacciones cruzadas interfieren con la maduración de anticuerpos específicos contra el parásito; por ocasionar una proporción irregularmente alta de mutantes de células B que se conservaron durante la expansión clonal (169)

Las reacciones cruzadas de los epitopes podrían interferir también por la captación de anticuerpos sobre antígenos que no son esenciales para la supervivencia del parásito. O sea simplemente desviando la respuesta inmunológica hacia epitopes que no son importantes para la subsistencia del parásito.

B.2.- TOLERANCIA (INMUNODIVERSION) O

MIMETISMO (INMUNOMODULACION).

Más de 20 proteínas de *Plasmodium falciparum* han mostrado una secuencia de aminoácidos homóloga a proteínas humanas ⁽¹⁷⁰⁾; por ejemplo el antígeno p.f. 11.1 de la etapa eritrocitaria muestra una similitud con un péptido tímico ⁽¹⁷¹⁾. Un antígeno de la etapa de gameto contiene segmentos homólogos con el factor de crecimiento epidérmico ⁽¹⁷²⁾ y el segmento central de repetición de la proteína del circunsporozoito es homóloga con una proteína mitocondrial ⁽¹⁷⁰⁾.

El efecto de esta homología podría ser que de esta forma, segmentos de las proteínas inmunogénicas del parásito son reconocidas como propias por el huésped y por lo tanto toleradas por su sistema inmune (**TOLERANCIA**).

Otra opinión afirma que podría ser que los polipéptidos del parásito, regulan los efectos biológicos que son controlados normalmente por los polipéptidos homólogos, interfiriendo así con la respuesta inmune del huésped (**MIMETISMO**).

Se ha informado que los parásitos atraviesan la placenta y ganan acceso a la circulación fetal antes y después del nacimiento ⁽¹⁷³⁾. Aunque estos niños raramente desarrollan malaria clínica ⁽¹⁷⁴⁾.

La tolerancia podría inducirse por medio de la exposición prenatal o perinatal a los antígenos de la malaria

B.3.- INMUNOMODULACION.

B.3.1.- REGULACION DE LA FUNCION EFECTORA DE LOS MACROFAGOS.

Se ha sugerido que los parásitos de la malaria inducen la producción de factores derivados de las células T que reducen la actividad antiplasmodium de los macrófagos ^(155,158).

La linfoquina IL-4 que ha mostrado inhibir algunas actividades de los macrófagos ^(175,176) podría ser un candidato para el factor postulado, que deprime la actividad efectora contra *Plasmodium falciparum*.

Un estudio posterior ⁽¹⁵⁸⁾ examinando el efecto de la IL-4 sobre la capacidad de los macrófagos de destruir al *Plasmodium falciparum* mostró los datos siguientes:

Monocitos y macrófagos humanos en ausencia de anticuerpos antiplasmodium mostraron una substancial destrucción de formas eritrocíticas asexuales de *Plasmodium falciparum* "in vitro".

La reducción de esta destrucción se lleva a cabo si los fagocitos mononucleares eran pretratados con IL-4.

Las células fagocíticas de algunos individuos fueron completamente inactivadas, por el tratamiento con IL-4. En contraste la IL-4 no afectó la actividad anti-*Plasmodium falciparum* de los neutrófilos.

Estos datos en conjunto muestran un importante y posible mecanismo de evasión inmune que involucra a la IL-4 como un reductor de la actividad anti-parasitaria de los macrófagos ⁽¹⁵⁸⁾.

IV.- EVASION INMUNE DE HELMINTOS.

A.- GENERALIDADES.

El 70% de la población de los países en vías de desarrollo sufren de infecciones por helmintos. Siendo los helmintos intestinales *Ascaris lombricoides* y *Trichuris trichuria* los mas comunes.

Los aspectos mas caracteristicos de los Helmintos en los humanos son:

- La persistencia durante largos períodos dentro de el huésped ⁽¹⁷⁷⁾.
- La habilidad de provocar una protección inmune solo después de muchos años o décadas de exposición ⁽¹⁷⁸⁾.
- Ciclos de desarrollo complejo que frecuentemente involucran antígenos específicos ⁽¹⁷⁹⁾.
- La distribución en comunidades humanas donde una minoría de la población es huésped de la mayoría de los gusanos ⁽¹⁸⁰⁾.
- La frecuencia de individuos predispuestos a la infección grave ^(181,182)

Los helmintos ocasionan morbilidad mas que mortalidad con típicas enfermedades agudas relacionadas con el gusano invasor. La persistencia natural de la infección con la acumulación progresiva de parásitos puede inducir secuelas crónicas tales como la enfermedad hepatoesplénica producida por *Schistosoma mansoni* ⁽¹⁸¹⁾ o linfoedema y elefantiasis producidas por filariasis linfática y la ceguera ocasionada por *Onchocerca volvulus*.

Adelantos recientes en el campo de la Inmunología y Parasitología han permitido desenmarañar una gama de mecanismos por los cuales el parásito modula activamente la respuesta inmune permitiendo su subsistencia. Los mecanismos del parásito: pueden suprimir directamente los subconjuntos de células inmunes; así como también estimular el desarrollo de otras células inmunes que tienen actividad supresora de la respuesta inmune.

Estrategias que desvirtúan los efectos de las citocinas necesarias para una respuesta inmune apropiada y el mimetismo de las proteínas inmunoreguladoras de el huésped, son reconocidos como los medios por los cuales los helmintos mejoran su supervivencia dentro de sus huéspedes inmunocompetentes.

Los mecanismos de evasión desarrollados por los helmintos pueden agruparse en dos tipos :

- **Inmunodiversión** .- Es un mecanismo pasivo de escape en el que el parásito desvía los efectos destructores de una respuesta inmune.
- **Inmunomodulación** .- Es una interacción mas activa con el sistema inmune para reducir el impacto de una respuesta contra el parásito.

B.- EVASION DE LA RESPUESTA INMUNE.

B.1.- INMUNODIVERSION.

B.1.1.- ENCAPSULACION.

Un mecanismo de escape que involucra la retirada del parásito a un sitio inaccesible es el de encapsulación. Esta formación enquistada involucra circundar los huevecillos o el parásito mismo con tejido fibroso el cual actúa como una barrera física para reducir el acceso a los componentes inmunes.

A la vez que este proceso reduce el contacto del sistema inmune con el parásito, también provoca la estimulación reducida de respuestas inmunes ya que el parásito es rodeado por proteínas no inmunogenicas de él huésped.

B.1.2.- VARIACION ANTIGENICA.

La variación de antígenos expresados durante etapas diferentes de un ciclo de vida del parásito también permiten la evasión de la respuesta inmune.

Debido a que los nutrientes son frecuentemente escasos durante su etapa de larva, el requerimiento bajo de energía y la síntesis mínima de proteínas son ventajosas para el parásito mientras espera un huésped apropiado ⁽¹⁸⁴⁾. Una vez que el parásito es ingerido por un huésped, la disponibilidad de alimentos y consumo de energía aumentan ya que el organismo huésped produce una gama de nuevas proteínas que favorecen la invasión y el crecimiento del parásito.

La generación de proteínas novedosas para la supervivencia en el huésped la variación de proteínas entre la larva y el estado adulto desvían la respuesta inmune que de otra manera sería efectiva, ayudando así a la subsistencia del parásito dentro de su huésped.

B.1.3.- LA MUDA.

Un método mas efectivo de evasión inmune es la muda de proteínas de superficie del parásito después de su contacto con los componentes inmunes.

Fasciola hepatica expuesta a suero inmune adquirió una capa continua de IgG sobre la superficie de su tegumento el cual fue reemplazado (mudado) por una nueva capa de glicocalix de superficie ⁽¹⁸⁵⁾. Este cambio y reemplazo de los glicocalix reduce el efecto destructivo de degranulación por los eosinófilo y neutrófilos debido a la pérdida de contacto íntimo con el parásito ⁽¹⁸⁶⁾

También las larvas del Nematodo *Toxocara canis* presentaron la muda de su cutícula protectora, reduciendo el daño al gusano ⁽¹⁸⁷⁾.

Similarmemente, *Haemonchus contortus* produce la glicoproteína 70-90 Kda que forma una capa

protectora alrededor de la larva del gusano, la cual es mudada cuando esta se ve revestida con anticuerpos (188).

B.1.4.- PRODUCCION DE PROTEINASAS.

La producción de proteinasas se tiene reportada para una gama de helmintos y se consideran importantes para la conversión de tejido del huésped en nutrientes (189).

Así como también para la invasión y diseminación a los tejidos estableciendo un ambiente apropiado para que el parásito pueda subsistir (190).

Los gusanos adultos de *Haemonchus contortus* secretan cuatro distintas cistein-proteinasas (191,192), que inhiben la coagulación de la sangre además hidrolizan hemoglobina, colágeno y fibrinógeno.

Estas proteasas también se adhieren a IgG permitiendo que el parásito evada los efectos regulados por estos anticuerpos (193). *Ostertagia sp.* libera este tipo de proteinasas incluyendo la cisteina-proteinasas (192)

Las proteinasas del anquilostoma del perro *Ancylostoma caninum* muestran gran similitud a las proteinasas de *Haemonchus contortus* (189,190)

Una proteinasas de *Spirometra mansoni* también se une a IgG (194).

Las proteinasas de *Schistosoma mansoni* se unen a IgG en la superficie de la larva, con los resultantes péptidos moduladores de la función de los macrófagos (195)

Las proteinasas de *Schistosoma mansoni* también incrementan la expresión de eosinofil-FcR y la citotoxicidad dependiente de la IgG; posiblemente para incrementar la destrucción de las larvas entrantes por la acción del eosinofil estimulado por los gusanos adultos residentes (196), como un mecanismo para impedir las infecciones múltiples que pueden abrumar al huésped.

Las larvas del *Paragonimus westermani* secretan una proteínasa (neutral thiol proteínasa) que provoca la supresión de la respuesta inmune al antígeno específico para reducir la expresión de moléculas ; IL-2R y del MCH clase 1 y clase 2, sobre la superficie de los linfocitos, posiblemente como una vía reguladora de la actividad de los macrófagos (197).

La hipodermina es una proteínasa secretada por *Hypoderma lineatum* que inhibe la respuesta proliferativa de las células inmunes y la producción de IL-2 en el vacuno PMBC (198).

Las hipoderminas producidas por estos parásitos ayudan en la invasión del sistema inmune celular por intervenir tanto en el sistema inmune específico como en el sistema inflamatorio.

Otro ejemplo de evasión inmune por la producción de proteínasas ocurre en el Helminto intestinal *Trichuris suis* que produce una zinc-metal proteínasa en los medios de cultivo las cuales han demostrado que pueden degradar componentes inmunes (199).

El papel inhibidor de las proteínasas puede ser otro importante mecanismo por el cual se reduce el impacto de la respuesta inmune contra un patógeno.

Las larvas del Cestodo *Taenia taeniformis* son también capaces de evadir la respuesta inmune por la producción de la proteínasa inhibidora taeniastatin, que reduce la inducción de IL-1 y la inhibición de IL-2 (200,201).

B.2.- INMUNOMODULACION.

B.2.1.- SUPRESION DE LAS CELULAS T Y B.

La supresión general de las funciones de las células T y B por las infecciones y productos del parásito se ha informado ampliamente para muchos parásitos. Aunque algunos de estos efectos puedan asociarse a la estimulación de poblaciones de células supresoras, otros efectos

inmunosupresores son debidos a los productos del parásito que actúan directamente sobre los componentes inmunes.

Cinco polipéptidos de los fluidos de excreción-secreción (ES) de el gusano intestinal *Nematospiroides dubius* ocasionan una inmunosupresión general en la proliferación de linfocitos T y B (202,203).

Estos parásitos adultos reducen la producción de IL-9 e IL-10 procedentes de los nódulos linfáticos causando una inhibición en la mastocitosis y permitiendo la subsistencia crónica del parásito (204).

Mas directamente las larvas recién nacidas del helminto *Trichinella spiralis* liberan un factor que destruye células linfoides y afecta la capacidad de las células de el bazo para formar anticuerpos contra los eritrocitos de carnero (205).

Como este factor es producido solo por larvas libres y no por larvas enquistadas o adultas, la finalidad del parásito puede ser parar la respuesta inmune, el tiempo suficiente para establecer la infección y desarrollarse a su forma adulta.

El suero de pacientes infectados con *Trichinella spiralis* puede modular la producción de el anión super-óxido debido posiblemente a un factor del parásito que reduce la eficacia de la explosión oxidativa anti-parasitaria (206)

El anquilostoma de el perro *Ancylostoma caninum* produce una glicoproteina la 41kDa que inhibe la función de los neutrófilos dependientes del CD11/CD18. Este factor de inhibición de los neutrófilos (NIF) bloquea la adherencia de los neutrófilos activados a las células vasculares endoteliales e interfieren en la liberación de peróxido de hidrógeno (207), generando un efecto inmunosupresor en el sitio de la infección.

Los productos de ES de *Fasciola hepatica* son tóxicos para los esplenocitos e inhiben el sitio de

unión de las células peritoneales del ratón con el parásito, reduciendo la viabilidad de las células linfoides hasta por un 47% (208)

Otros ejemplos de parásitos que inducen la supresión de células T y B son definidos en forma menos explícita.

Los extractos de *Ascaris suum* reducen la proliferación de las células inmunes e inhiben la producción de IL-2, IL-4, IL-10 e INF γ por parte de células T murinas (209).

Los fluidos del quiste hidatídico de *Coenurus cerebralis* inhiben la transformación de linfocitos inducida por el lectin; provocando alteraciones en la respuesta inmune (210,211).

El Cestodo *Echinococcus granulosus* produce una supresión celular no específica (210) que interfiere en la relación de cooperación de las células T y B. (212).

B.2.2.- MODULACION DE LAS CITOCINAS.

La respuesta del parásito a una citocina en particular, puede ser uno de los mecanismos mas efectivos de inmunomodulación. Manipulando las citocinas los parásitos obtienen la regulación de la respuesta inmune, que les permite desarrollarse sin provocar una inmunosupresión exagerada; que puede ocasionar la muerte del huésped con la infección de un patógeno secundario.

La inducción de un supresor de células o citocinas permite inhibir la respuesta inmune sin que el parásito tenga que actuar directamente en la regulación de la citocina.

Las larvas de *Taenia taeniaformis* produce un compuesto que disminuye la proliferación de células inmunes en respuesta a Conavalina A y además baja los niveles de producción de IL-2 producida por los esplenocitos (201).

Una proteína localizada en la fracción proteica de una secreción de *Taenia multiceps* funciona como un modulador para los macrófagos otorgándoles un papel restringido en la blastogenesis de linfocitos, reduciendo los linfocitos T de memoria (213).

Más mecanismos dirigidos a la modulación del perfil de las citocinas por los parásitos también se han caracterizado en :

Dirofilaria immitis que produce la molécula 20 kDa ES que incrementa la producción de algunas citocinas y suprime la de otras (214), ayudando a las infecciones por helmintos (215).

Además el nematodo *Nippostrongylus brasiliensis* muestra un incremento en la producción de huevecillos y una demora en la expulsión intestinal del gusano adulto en presencia de : INF γ e INF α . Estos interferones interfieren con la producción de algunas citocinas que son protectoras para el huésped (216)

B.2.3.- EL MIMETISMO.

La delicada modulación de la respuesta inmune del huésped es ilustrada por el mimetismo de las proteínas reguladoras llevado a cabo por el parásito, con el fin de llevar la respuesta inmune hacia un punto de efectividad; el cual no puede eliminarlo.

La producción de proteínas que derivan en los sistemas reguladores del huésped, permiten al parásito superar los efectos nocivos de una respuesta apropiada.

El nematodo *Nippostrongylus brasiliensis* produce una proteína, la 30 kDa que muestra una similar inmuno-reactividad al “polipéptido vasoactivo intestinal” (VIP) porcino (217).

El VIP muestra una secuencia homóloga a la 30 kDa ES producida por el Nematodo intestinal *Trichostrongylus colubriformis* (218).

El VIP modula la expresión de citocinas de linfocitos T, disminuyendo la expresión de los genes de IL-2 e IL-10 e inhibiendo la producción de IL-4 a nivel post-transcripcional (219).

Trichostrongylus colubriformis también produce una proteína, la 11 kDa ES (220), que muestra una secuencia homóloga a la proteína humana 15 kDa que es inducida por el INF γ (221,222)

Aunque no se puede especular sobre el rol de esta molécula, la proteína puede jugar un papel importante regulando la respuesta inmune. Ninguna actividad biológica se ha asignado a esta proteína de ES. *Onchocerca volvulus* contiene una fracción de 95 aminoácidos que muestran una estructura homóloga a la IL-8⁽²²³⁾.

Se cree que el mimetismo de esta molécula puede interferir con la modulación de la respuesta inflamatoria del huésped⁽²²³⁾.

Posiblemente uno de los ejemplos mas convincentes del mimetismo de las citocinas del huésped por el parásito, para el control de la respuesta inmune, proviene de la infección hepática del ganado ovino por el Trematodo *Fasciola hepatica*.

El fluido ES de *Fasciola hepatica* causa la diferenciación y maduración de los eosinófilos de la medula ósea de ratones previamente expuestos a la infección por este parásito. Sugiriendo que *Fasciola hepatica* puede producir una proteína ES que muestra una actividad similar a la IL-5⁽²²⁴⁾. Estas células maduraron pero no proliferaron, indicando que esta actividad es poco probable que sea solo la de un mitógeno

B.2.4.- CITOCINAS COMO FACTOR DE CRECIMIENTO.

Otra forma de interacción inmune entre el parásito y su huésped es mostrada por los parásitos que utilizan las citocinas como un Factor de Crecimiento.

Spirometra mansoni incrementa la producción de sus huevecillos (cuatro veces mas) y la evolución de la enfermedad hepática en presencia de TNF α (Factor de Necrosis Tumoral)⁽²²⁵⁾.

Las citocinas EGF (Factor de Crecimiento Epidérmico), GM-CSF (Factor Estimulante de las Colonias de Granulocitos y Macrófagos) y la IL-2; que son responsables del crecimiento y diferenciación de las células inmunes del huésped, también son utilizadas como Factores de Crecimiento⁽²²⁶⁾

Esto muestra que algunos parásitos no solo han sido capaces de reducir el impacto de una respuesta inmune sino que han desarrollado un sistema que puede beneficiarse de este mecanismo inmunológico; utilizando los reguladores de las células inmunes del huésped como Factores de Crecimiento. Aumentando así las posibilidades de subsistencia del parásito dentro de su huésped inmunocompetente (226).

V.- DISCUSION.

Las infecciones parasitarias estimulan típicamente una serie de mecanismos de defensa de el huésped, mediados por anticuerpos y por células; las respuestas mas efectivas dependen del tipo de parásito en particular y del estadio de la infección. Así como del medio ambiente en general y del estado de defensa del organismo huésped.

En términos generales, las respuestas mediadas por células son mas importantes contra los parásitos intracelulares mientras que los anticuerpos lo son en contra de los parásitos extracelulares presentes en la sangre y en los líquidos histicos. Sin embargo el tipo de respuesta que confiere mayor protección depende de el parásito.

Existen siempre varios mecanismos efectores inmunológicos que intervienen en la defensa del huésped frente a determinados parásitos, y estos tienen diversos mecanismos para evitarlos. Esta revisión de los mecanismos utilizados por los parásitos para escapar o resistir a la respuesta inmune de sus huéspedes inmunocompetentes ; muestra que los parásitos tienen una gran variedad de mecanismos adaptativos, en los cuales :

- Impiden o desvían el reconocimiento inmune (Inmunodiversión) y/o
- Inhiben las respuestas inmunológicas a antígenos que han sido o pueden ser reconocidos por el sistema inmune (Inmunomodulación), reduciendo así el impacto destructivo de los mecanismos inmunes contra el parásito.

- Los mecanismos de Inmunodiversión; que van desde la ausencia de respuesta a antígenos blanco esenciales ; hasta sutiles mecanismos de mimetismo; producción de proteinasas;

variación antigénica o la muda de glicoproteínas de superficie. Pueden tomarse como un indicio de que la presión selectiva de el sistema inmune del huésped, ha impulsado desviaciones en la biología de los parásitos, en particular: modificando la expresión de los antígenos de superficie y la presentación de estos al sistema inmune.

- Por medio de la Inmunomodulación, los parásitos: suprimen los conjuntos de células inmunes; estimulan el desarrollo de otras células que tienen actividad supresora de la respuesta inmunológica; desvirtúan los efectos de las citocinas; modulan las funciones efectoras de los macrófagos, de los linfocitos T Citotóxicos, de los anticuerpos y de las vías del complemento. Además algunos parásitos no solo han sido capaces de reducir el impacto de la respuesta inmune sino que han desarrollado un sistema que puede beneficiarse de ella; utilizando los reguladores de las células inmunes del huésped (citocinas), como factores de crecimiento o también pueden manipular las vías del complemento para dirigir su penetración en las células de el huésped.

Debido a la complejidad en la expresión de la inmunidad y a sus respectivos mecanismos de evasión, las enfermedades parasitarias tienen un aspecto dinámico que se refleja en el balance permanente entre los mecanismos reguladores de el parásito y los mecanismos efectores del huésped. Esto puede indicarnos que la destrucción del huésped no entra en los intereses del parásito, y nos ayuda a entender porque las infecciones parasitarias suelen ser crónicas.

Otro aspecto importante relacionado a la evasión inmune es la complejidad biológica del ciclo de vida de los parásitos, que involucra en muchos casos, sucesiones de etapas de desarrollo,

caracterizadas por diferencias. en sus nichos biológicos, en los requerimientos metabólicos y en la expresión de la antigenicidad. Por lo que algunos antígenos pueden ser específicos de una determinada fase del desarrollo de tal modo que la inmunidad y su mecanismo de evasión son estadio específicos. Así por ejemplo, la capa protéica de el esporozoito (estadio infeccioso del parásito de la malaria, transmitido por el mosquito vector) no es reconocida por los anticuerpos que reaccionan con el estadio entrocitario.

Tomando en cuenta cada uno de los mecanismos de evasión ya revisados y toda la información relacionada al tema de la evasión inmunológica, no es sorprendente comprobar que la mayoría de las infecciones por parásitos no den como resultado una inmunidad eficiente y persistente, como en muchas otras enfermedades infecciosas, sino que mas bien producen una inmunidad parcial que solo reduce la carga de parásitos y las manifestaciones patológicas del huésped. Esto nos permite entender, porque aún no se ha desarrollado una vacuna eficiente para las enfermedades parasitarias de los humanos; tales como la malaria, esquistosomiasis o amibiasis, solo por mencionar algunas.

La ausencia de vacunas efectivas se debe también en gran parte a la complejidad biológica del ciclo de vida de los parásitos y a la estrecha relación de adaptación del parásito con su huésped mamífero; que pueden ser los puntos de crucial importancia, para la selección de los inmunógenos apropiados y para el análisis de los criterios esenciales que conduzcan a su definición.

De hecho los antígenos de excreción-secreción (ES), que son liberados usualmente por los parásitos en la circulación sanguínea de sus huéspedes, pueden ser los candidatos mas apropiados para lograr la inmunización.

VI.- CONCLUSIONES.

Los mecanismos de evasión inmunológica se clasifican en :

(No necesariamente en orden de importancia).

1.- PREVENCIÓN.

Desde su posición intracelular el parásito hace que el eritrocito infectado se adhiera a las células endoteliales de el sistema capilar evitando o previniendo así, a las células potencialmente efectoras del bazo y otros tejidos.

2.- ENCAPSULACION.

Esta formación enquistada involucra circundar los huevecillos o el parásito mismo con tejido fibroso el cual actúa como una barrera física para reducir el acceso a los componentes inmunes. A la vez que este proceso reduce el contacto del sistema inmune con el parásito, también provoca la estimulación reducida de respuestas inmunes ya que el parásito es rodeado por proteínas no inmunogénicas del huésped.

3.- VARIACION ANTIGENICA.

Se trata de un fenómeno que desde hace mucho tiempo conspira contra la obtención de vacunas efectivas. Luego de que el parásito se introduce en el huésped y genera una respuesta inmune que comienza a afectarlo, se produce un cambio en la estructura antigénica del parásito. Es decir hay un cambio en la composición química de las glucoproteínas que forman la cubierta superficial del

parásito lo cual confunde temporalmente a la respuesta inmune permitiendo entonces que sobreviva y se multiplique una “nueva población” parasitaria la cual a su vez repetirá el proceso.

4.- REACCIONES CRUZADAS.

Los anticuerpos contra un epítipo frecuentemente tienen reacciones cruzadas con otros epítopes presentes en la misma molécula o con epítopes de otras proteínas del parásito.

Estas reacciones cruzadas interfieren con una posible respuesta inmune efectiva, debido a la captación de anticuerpos sobre antígenos que no son esenciales para la subsistencia del parásito.

5.- LA MUDA.

Un método eficiente de evasión inmune es la “muda o cambio de proteínas superficiales del parásito” después de su contacto con los componentes inmunes.

Este cambio y reemplazo de la cutícula protectora de los parásitos además de burlar a los anticuerpos específicos y al complemento, también reduce el efecto destructivo de degranulación realizada por los eosinófilos y los neutrófilos debido a la pérdida del contacto con el parásito

6.- PRODUCCION DE PROTEINASAS.

Las proteinasas secretadas por algunos parásitos pueden llegar a inactivar muchos de los mediadores citotóxicos que se generan a través de la respuesta inmune y/o inflamatoria. Es así como estas proteinasas de origen parasitario pueden llegar a inactivar las actividades de las interleucinas, del interferón y aún de los anticuerpos, que se puedan generar contra el parásito.

7.- PRODUCCION DE INHIBIDORES DE LAS PROTEINASAS.

Así como en el punto anterior vimos ejemplos de como las proteinasas de origen parasitario ayudan a los parásitos, evitando el ataque del huésped ahora, los inhibidores para las proteinasas del huésped, segregadas por los parásitos, pueden cumplir igual función.

Estos inhibidores para las proteinasas del huésped del tipo de las tripsinas o quimotripsinas, pueden frenar la respuesta inmune que el huésped fuera capaz de montar. Ya que intervienen en los procesos para la activación de leucocitos, plaquetas, mastocitos o mecanismos inflamatorios.

8.- TOLERANCIA O MIMETISMO.

Se trata de un fenómeno por el cual el parásito adquiere moléculas de el huésped, que obviamente le sirven como una cubierta protectora para no ser reconocidos por el sistema inmune.

Un enfoque diferente de este mecanismo se basa en que algunas proteínas parasitarias han mostrado una secuencia homóloga a proteínas humanas.

Y nos dice que debido a esta homología segmentos de las proteínas inmunogénicas de el parásito son reconocidas como propias por el huésped y por lo tanto toleradas por su sistema inmune (**TOLERANCIA**).

Pero otra opinión afirma que podría ser que los polipéptidos homologos de el parásito, regulan los efectos biológicos que son controlados normalmente por los polipéptidos del huésped, interfiriendo así en la respuesta inmune eficiente de el huésped. Y con lo cual ya no estaríamos hablando del mecanismo de tolerancia sino de un mecanismo diferente conocido con el nombre de **MIMETISMO**.

9.- INHIBICION DE LAS MOLECULAS EFECTORAS DE LOS LINFOCITOS T CITOTOXICOS Y DE LAS CELULAS NK.

A fin de impedir directamente y/o controlar una infección por cualquier parásito intracelular, los LTC necesitan tener una maquinaria molecular capaz de producir daño sobre las células huéspedes y/o el parásito mismo. Entre las moléculas efectoras utilizadas por los LTC y las células NK están las moléculas 70 kDa Ca^{++} presentes en los gránulos secretorios.

Ciertos parásitos intracelulares evaden la respuesta inmune del huésped debido a que resisten el ataque de esta molécula, mientras que los macrófagos son fácilmente destruidos por su acción lítica.

10.- PRODUCCION DE ENZIMAS QUE INACTIVAN LOS INTERMEDIARIOS REACTIVOS DE EL OXIGENO (IRO).

Los intermediarios reactivos de el oxígeno tales como los aniones super-óxido o el peróxido de hidrógeno, producidos por los linfocitos y los macrófagos son poderosos agentes destructores para los parásitos. Ante estos hechos algunos parásitos intracelulares han evolucionado un mecanismo de evasión que consiste en la producción de enzimas que son inactivadoras de estos compuestos.

Debido a esto los parásitos capaces de metabolizar los IRO gracias a la superoxidasa y catalasa pueden vivir dentro de los macrófagos, interfiriendo con una posible respuesta inmune eficiente

11.- MODULACION DE LAS CITOCINAS.

Manipulando las citocinas los parásitos obtienen la regulación de la respuesta inmune sin provocar una inmunosupresión exagerada; que puede ocasionar la muerte de el huésped, con la infección de un patógeno secundario. La modulación de citocinas se refleja en todos los niveles de la respuesta inmune: desde las primeras etapas del reconocimiento del antígeno hasta la inhibición de las funciones de las células efectoras.

12.- REGULACION DE LAS FUNCIONES EFECTORAS DE LOS MACROFAGOS.

Para poder establecerse en su huésped algunos parásitos generan sustancias (factores) que reducen directamente la actividad efectora de los macrófagos, aumentando así las posibilidades de vida de los parásitos.

13.- MECANISMOS DE RESISTENCIA EN EL FAGOSOMA Y FAGOLISOSOMA.

Para el establecimiento de una infección en el huésped mamífero, algunos parásitos deben sobrevivir al proceso de la fagocitosis y luego resistir el ambiente ácido y rico en proteínas del fagolisosoma; algunas moléculas por ejemplo los LPG, y la gp 63, son diferencialmente expresadas sobre la superficie de estos parásitos como un mecanismo de evasión intrafagosomal e intrafagolisosomal. Los LPG inhiben la fusión del fagosoma-endosoma y esta inhibición fagolisosomal puede tener la intención de que el parásito obtenga el tiempo necesario para su transformación, a la forma de desarrollo mas resistente tanto a las enzimas como al pH ácido de el fagolisosoma. Por su parte la glucoproteína gp 63 es liberada en el lisosoma y dependiendo de el sustrato esta enzima es optima para neutralizar el pH ácido.

I4.- PRODUCCION DE ENZIMAS QUE INACTIVAN O ALTERAN EL METABOLISMO DEL ACIDO ARAQUIDONICO.

Los metabolitos formados a partir de el ácido araquidónico y sus productos como prostaglandinas, tromboexano, endoperoxidasas y leucotrienos tienen fundamental importancia tanto en la respuesta inmunológica como en la inflamatoria.

Hay evidencias de que algunos parásitos interfieren en el metabolismo del ácido araquidónico, como un medio indirecto para evitar la respuesta inmune protectora del organismo huésped.

I5.- INHIBICION DE LA SECRECION DE ANTICUERPOS.

Algunas glicoproteínas parasitarias tienen un efecto inhibitorio sobre la secreción de anticuerpos por las células plasmáticas.

Aunque se desconoce el mecanismo por el cual se lleva a cabo esta inhibición, no es posible descartar la idea de que antígenos parasitarios puedan actuar sobre los linfocitos interfiriendo en su diferenciación a células plasmáticas y/o directamente en la actividad secretoria de estas.

I6.- RESISTENCIA AL COMPLEMENTO Y A LAS INMUNOGLOBULINAS.

Tomando en cuenta que cualquier alteración de la cascada del complemento aumenta las posibilidades de vida de los parásitos y que además existen evidencias de que se requiere una cascada de complemento intacta para que la inmunidad mediada por anticuerpos pueda expresarse: los parásitos han desarrollado un mecanismo de evasión que consiste en alterar la cascada del complemento como una forma indirecta de burlar a los anticuerpos.

17.- CITOCINAS COMO FACTOR DE CRECIMIENTO.

Algunos parásitos no solo han sido capaces de reducir el impacto de la respuesta inmune: sino que además han desarrollado un mecanismo que puede beneficiarse de ella, utilizando los reguladores de las células inmunes, como factores de crecimiento.

Debido a este mecanismo algunos parásitos incrementan tanto la producción de sus huevecillos como la evolución de la enfermedad.

18.- INDUCCION DE CELULAS SUPRESORAS.

Ciertos parásitos producen “mediadores” que inducen la proliferación de linfocitos T supresores los cuales inhiben la respuesta inmune. Al respecto se requieren mas investigaciones en todas aquellas infecciones parasitarias en las que huéspedes inmunocompetentes fallen en producir una respuesta inmunologica contra un determinado estadio parasitario.

19.- SUPRESION DE CELULAS T y B.

La supresión general de las funciones de los linfocitos T y B por los parásitos y los productos inmunogenicos de este se ha informado ampliamente para muchos parásitos. Aunque algunos de estos efectos pueden deberse a la estimulación de poblaciones de células supresoras como en el punto anterior otros efectos inmunosupresores son debidos a los productos del parásito que actúan directamente sobre los componentes inmunes (En especial sobre los linfocitos T y B).

Al analizar en conjunto los diferentes mecanismos de evasión inmune y toda la información proporcionada en relación a este tema podemos concluir que:

♦ No existe en el presente ninguna duda de que los parásitos son inmunogénicos. Sin embargo, la respuesta inmune protectora del huésped puede ser vulnerable a los mecanismos de evasión inmunológica que el parásito genere.

♦ Es obvio que el objetivo de los parásitos es sobrevivir en el medio ambiente y en el huésped, así como reproducirse. Por lo tanto, el conocimiento íntimo de los mecanismos de evasión inmune que permiten su subsistencia es sin duda indispensable para el desarrollo de inmunógenos efectivos, que permitan erradicar las enfermedades parasitarias en los humanos.

VII.- BIBLIOGRAFIA.

1. Walsh, J A (1984) Problems in recognition and diagnosis of amoebiasis: estimation of the global magnitude of morbidity and mortality Rev. Infect. Dis. 8, 228-238.
2. Walsh, J A. (1984) in Tropical and Geographical Medicine (Warren, K.S. Mahmoud,A.A.P.,eds), pp 1073-1085 McCraw-Hill.
3. Ortiz-Ortiz (1975) Cell-mediated immunity in patients with amebic abscess of the liver. Clin. Immunol. Immunopathol. 4, 127-134.
4. Denis,M. and Chadee, K (1988) In vitro and vivo studies of macrophage functions in amebiasis. Infects Immun. 56, 3126-3131.
5. Salata, R.A. (1987) The role of gamma-interferon in the generation of human macrophages cytotoxic for *Entamoeba histolytica* trophozoites. Am. J Trop. Med. Hyg. 37, 72-78.
6. Lin, J. Y. And Chadee, K (1992) Macrophage cytotoxicity against *Entamoeba histolytica* trophozoites is mediated by nitric oxide from L-arginine. J. Immunol. 148, 3999-4005.
7. Denis, M. and Chadee, K. (1989) Cytokine activation of murine macrophage for in vitro Killing of *Entamoeba histolytica* trophozoites. Infect. Immun. 57, 1750-1756.
8. Salata, R. A. (1985) The interaction of human leukocytes and *Entamoeba histolytica* : Killing of virulen amebae by activated macrophages. J. Clin. Invest. 76, 491-499.
9. Vinayak, V.K and Sharma, P (1989) Kinetics of the immune responses during the course of hepatic amoebic infection - an experimental study. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 83,349-353.
- 10 Campell, D ; Chadee, K. Survival strategies of *Entamoeba histolytica*: modulation of cell mediated immune responses. Parasitology Today. (1997) 13 (5) 184-190.

11. Wang, W. and Chadee, K. (1995). *Entamoeba histolytica* suppresses gamma interferón induced macrophage class II major histocompatibility complex 1a. molecule and I-A β mRNA expression by a prostaglandin E2-dependent mechanism. *Infect. Immun* 63, I089-I094.
12. Vilcek (1986) Fibroblast growth enhancing activiti of tumor necrosis factor and its relationship to other polypeptide growth factors. *J. Exp. Med.* I63, 632-643.
13. Klebanoff, S. J. (1986) Stimulation of neutrophils by tumor necrosis factor. *J. Immunol.* I36, 42 20-4 225.
14. Seguin,R (1995) Identification of the galactose-adherence lectin epitopes of *Entamoeba histolytica* that stimulate tumor necrosis factor α production by macrophages. *Proc. Natl.Acad. Sci. U.S.A* 92 , I2I75-I2I79.
15. Murray, H.W. (1981) Susceptibility of *Entamoeba histolytica* to oxygen intermediate. *Mol. Biochem. Parasitol.* 3, 38I - 39I.
16. Simjee, A.E. (1985) Cell-mediated immunity in hepatic amoebiasis. *Trans. R.Soc.Trop. Med. HyR.* 79,I65-I68.
17. Wang, W. (1994) *Entamoeba histolytica* modulates the nitric oxide synthase gene and nitric oxide production by macrophages for citotoxicity against amoeba and tumor cell. *Immunology* 83, 60I-6I0.
18. Campos Rodriguez, F. Castañeda Ibarra. Inhibition of antibody producing cells (PFC) from Peyer Peatches by glcoproteins from *Entamoeba histolytica* *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 33 : I65- I70, I99I.
19. Hamelmann, C.; Foerster, B; Burchard, G.D.; Shetty, N. Induction of complement resistance in cloned pathogenic *Entamoeba histolytica*. *Parasite Immunology.* (1993) I5 (4) 223-228.
20. Gutierrez K.L.; Cabrera N.; Perez, M.R. A mechanisms of acquired resistance to complement-mediated lysis by *Entamoeba histolytica*. *Journal of Parasitology* (1997) 83 (2) 234 -24I.

21. Toney, D.M. ; Marciano, C.P. Membrana vesiculation of *Naegleria fowleri* Amoeba as a mechanism for resisting complement damage. J. Immunol.(Baltimore) (1994) 15 (6) 2952-2959.
22. Krieger, J.N.; P. Wolner-Hanssen; Stevens, and K.K. Holmes Characteristics of *trichomonas vaginalis* isolates from women with and without colpitis macularis.J.Infect. (1990), 161,307-311.
23. Hardy, P.H.; J.B. Hardy; E.E. Nell, D.A. Graham; M.R. Spence; and R.C. Rosenbaum. Prevalence of six sexually trnsmitted disease agents among pregnant inner-city adolescents and pregnancy outcome. Lancet ii : 333-337 (1984).
24. Laga, M.; A. Manoka; M. Kivuvu; B.Malele; M Tuliza; F.Behets; V. Batter; M. Alary; W.L. Heywad; R.W. Ryder; and P Piot. Non ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for VHI - I transmission in women: results from A cohort study. (1993) AIDS. 7; 95-102.
25. Wasserheit, J.N. Interrelation ship between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases. Sex. Transm. Dis. (1992) 19 : 61-77.
26. Alderete, J.F.; E.Newton; C. Dennis; and K.A. Neale The vagina of women infected *Trichomonas vaginalis* has numerous proteinases and antibody to trichomonad with proteinases. Genitourin Med. (T991) 67 : 469-474.
27. Bozner, P.; A, Gambosava; M. Valent; P Demes and J.F. Alderete. Proteinases of *Trichomonas vaginalis* antibody response in patients with urogenital trichomoniasis. Parsitology. (1992) 105 ; 387-391.
28. Lockwood, B.C ; M J. North, K.I. Scott; A F. Bremmer, and G.H. Coombs. The use of a highly sensitive electrophoretic method to compare the proteinases of trichomonads Mol. Biochem. Parasitol. (1987) 24 ; 89-95.
29. Neale, K A and J. F. Alderete. 1990 Analysis of the proteinases of representative *Trichomonas vagmalis* isolates. Infect. Immun 58 : 157-162. (19 90).

30. Alderete, J.P.; E. Newton, C. Dennis, and K.A. Neale. Antibody in sera of patients infected with *Trichomonas vaginalis* is to trichomonad proteinases. Genitourin. Med. (1991) 67 : 331-334.
31. Garber, G.E , and L.T. Lemchuck-Favel. Characterization of extracellular protease of *Trichomonas vaginalis*. Can J. Microbiol. (1989) 35 : 903-909.
32. Arroyo, R; and J.F. Alderete. *Trichomonas vaginalis* proteinase activity is necessary for parasite adherence to epithelial cells. Infect. Immun (1989) 57; 2991-2997.
33. Lockwood, B.C.; M.J. North; K.I. Scott; Lehker, M.W and J.F. Alderete. Iron regulates resistance to complement in *Trichomonas vaginalis*, Abstract B-198. p.59. In Abstract of the 92nd General Meeting of the American Society for Microbiology. American society for Microbioloty, Washington, D.C. (1992).
34. Provenzano, D.; Alderete, J.F Analysis of human Immunoglobulin-degrading cysteine proteinases of *Trichomonas vaginalis*. Infection and immunity. (1995) 63 (9) 3388 3395.
35. Alderete, J F.; Provenzano, D , Lehker, M W. Iron mediates *Trichomonas Vaginalis* resistance to complement lysis. Microbial. Pathogenesis. (1995) 19 (2) 93-103.
- 36 Sacks D.L.; Pimenta PFP, McConville M.J.; Schneider P.; Turco S.J. Stage-specific binding of *Leishmania donovani* to the sanfly vector midgut is regulated by conformational changes in the abundant surface lipophophoglycan J. Exp Med. (1995)181 ; 685-697.
- 37 Mosser D.M.; Rosenthal L A. Leishmania-macrophage interactions: multiple receptors, multiple ligands, and diverse celular responses. Semin Cell Biol. (1993) ; 4 : 315-325.
38. Coulson R M R ; Smith D.F; Isolation of genes showing incresed or unique expression in the infective promastigotes of *Leishmania major*, Mol. Biochem. Parasitol (1990) 40 : 63-67.
39. Zhang WW, Charest, H ; Ghedin B.; Matlashewski, G. Identificati3n and overexpression of the A2 amastigote-specific protein in *Leishmania donovani*. (1996) Mol Biochem. Parasitol. 78 ; 79-

40. Handsman E, Schnur L F, Spithill T.W., Mitchell CGF. Passive transfer of Leishmanis Lipopolysaccheride confers parasite survival in macrophages J. Immunol. (1986) I37 : 3608 - 3613.
41. Zhang W.; Matlashewski , G. Loss of virulence in *Leishmania donovani* deficient in an amastigote-specific protein, A2. *Infecton and Immunity* (1995) 63 (9) 3388-3395.
42. Muller, I ; Garcia-Sanz, J.A.; Titus, R., Behin, B; Louis J; Analysis of cellular parameters of the immune responses contributing to resistance and susceptibility of mice to infection with the intracellular parasite, *Leishmania major*. *Immunol. Rev.* (1989) II2 : 95-II3.
43. Murray, H.W. Endogenous interleukin-I2 regulstes acquired resistance in experimental visceral Leishmaniasis. *J. Infect Dis.* (1997) 175 : 1477-1479.
44. Murray, H.W. Susceptibility of Leishmsnia to oxigen intermediates and killing by normal macropages. *J. Exp. Med.* 1981 ; I53 , I302-I315.
45. Bogdan, C. Of microbes, macrophages and NO. *Behrig Inst. Bes. Commun.* (1997) 99 : 58-72.
46. Sadick M.D., Heinzl F.P., Holaday, B.J Pu R T.; Dawkins, R.S.; Locksley R.M. Cure of murine leishmaniasis with antiinterleukin 4 monoclonal antibody. Evidence for a T cell-dependent, interferon - independent mechanism. *J. Exp. Med* 1990 ; I71 : II5-I27.
47. Stenger, S., Thuring, H.; Rollinhoff, M, Bogdan, C. Tissue expression of inducible nitric oxide synthase is closely associated with resistance to *Leishmania major* J. Exp. Med. (1994) I80 : 783-793.
- 48 Barrel A , Barral-Netto M; Young, E. C. Brownell, C.E.; twardzik, D.R.; Reed, S.G. Transforming growth factor β as a virulence mechanism for *Leishmania braziliensis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* . (1993) 90 : 3442-3446.
49. Soares, M.B.P , David, J.R.; Titus, R.G An in vitro model for infection with *Leishmania major* that mimics the inunune response in mice *Infect. Immunology* (1997) 65, 2837-2845

50. Nunes, A. C.; Almeida-Campos, F. R.; Horta, M.F.; Ramalho-Pinto, J.F. *Leishmania amazonensis* promastigotes evade complement killing by interfering with the late steps of the cascade. *Parasitology* (1997) 115 (6) 601-609.
51. Puentes, S.M.; da Silva, R.P.; Sacks, D.L.; Hammer, C.H, Joiner K.A. Serum resistance of metacyclic stage *Leishmania major* promastigotes is due to release of C5b-9. *J. Immunol.* (1990) 145 : 4311-4316.
52. Hermoso, T.; Fishelson, Z, Backer, S; Hirschberg, K ; Jaffe , C.L.; Leishmanial protein kinases phosphorylate components of the complement cascade. *EMBO J.* (1991) 10 : 4061- 4067.
53. Sacerdoti-Sierra N.; Siman-Tov, M.M.; Shapira, M.; Jaffe, C. L. Leishmanial protein kinases and parasite survival. *Abstr. I. Acta Parasitol. Turc.* (1997) ; 21 (Suppl) : 3
54. Brittingham, A.; Morrison, C.J.; McMaster, W.R.; McCrwire, B. S. Chang, K-P ; Mosser, D.M. Role of the *Leishmania* surface protease gp63 in complement fixation, cell adhesion and resistance to complement-mediated lysis. *J. Immunol* (1995) 155 : 3102-3111.
55. Titus, R.G.; Theodos, C M.; Shsnkar, A.; Hall, L.R Interactions between *Leishmania major* and macrophages. In : Zwillig T, Eisenstein, T.; editors. *Macrophage-pathogen interactions* New York: Marcel Dekker, (1993) ; 437-459.
56. Moll, H.; Ritter, U, Flohe, S.; Erb, K , Bauer, C.; Blank, C. Cutaneous leishmaniasis: a model for analysis of the immunoregulation by accessory cells. *Med. Microbiol. Immunol.* (1996) 184 : 163-168.
57. Moore, K. J., Matlashewski, G Intracellular infection by *Leishmania donovani* inhibits macrophage apoptosis. *J. Immunol.* (1994); 152 : 2930-2937.
58. Alexander, J.; Russel, D.G. The interaction of *Leishmania* species with macrophages. *Adv. Parasitol* (1992) ; 31 : 175-253.

59. Culley, F.J.; Harris, R.A.; Kaye, P.M., McAdsm, KPWJ; Ragynes, J.G. C-Reactive protein binds to novel ligand on *Leishmania donovani* and increases uptake into human macrophage. *J Immunol.* (1996); 156 : 469-4696.
60. Blank, C.; Bogdan, C.; Bauer, C.; Erb, K.; Moll, H. Murine epidermal langerhans cells do not express inducible nitric oxide synthase. *Eur. J. Immunol.* (1992); 26 : 792-796.
61. Bogdan, C.; Nathann, C.; Modulation of macrophage function by transforming growth factor β , Interleukin 4 and Interleukin 10. *Ann N.Y. Acad. Sci.* 1993; 685 : 713-719.
62. Hoover, D.L.; Nacy, C.A. Macrophage activation to kill *Leishmania tropica*: defective intracellular killing of amastigotes by macrophages elicited with sterile inflammatory agents. *J. Immunol.* 1984; 132 : 1487-1493.
63. Sunderkötter, C.; Kunz, M.; Steinbrink, K.; Resistance of mice to experimental leishmaniasis is associated with more rapid appearance of mature macrophage in vitro and in vivo. *J. Immunol.* (1993); 151 : 4891-4901
64. Murray, H.W.; Blood monocytes: differing effector role in experimental visceral versus cutaneous leishmaniasis. *Parasitol. Today* (1994); 10 : 220-223.
65. McNeely, T. B.; Turco, S. J. Requirement of lipophosphoglycan for intracellular survival of *Leishmania donovani* within human monocytes. *J. Immunol.* 1990; 14 : 2745-2750.
66. Ghan, J.; Fujiwara, T.; Brennan, P. Microbial glycolipids : possible virulence factors that scavenge oxygen radicals. *Proc. Natl. Acad. USA.* 1989; 86 : 2453-2457.
67. Medina-Acosta, E.; Karess, R.E.; Schwartz, R.; Russell, D.G. The promastigote surface protease (gp63) of *Leishmania* is expressed but differentially processed and localized in the amastigote stage. *Mol. Biochem. Parasitol.* (1989); 37 : 263-274.
68. Bogdan, C.; Röllinghoff, M.; Solbach, M. Evasion strategies of *Leishmania* parasites. *Parasitol. Today.* 1990; 6 : 183-187.

69. Seay, M.B., Heard, P.L.; Chaudhuri, G; Surface Zn-proteinase as a molecule for defence of *Leishmania mexicana*, *Leishmania amazonensis* promastigotes against cytolysis inside macrophage phagolysosomes Infect Immun. (1996), 64 : 5129-5137.
70. Noronha, FSM.; Ramalho, Pinto, P.J.; Horta, M.P. Cytolytic activity in the genus *Leishmania*: involvement of a putative pore-forming protein. Infect. Immu. (1996); 64 : 3975-3982 .
71. Iig., T.; Stierhof, Y D; Craig, D.; Buchmuller-Rouiller, Y.; Mauel J. Impairment of the oxidative metabolism of mouse peritoneal macrophages by intracellular *Leishmania spp.* Infect. Immun. 1987; 55; 587-593.
72. Passwel, J.H.; Shor, R.; Smolen, J.; Jaffe, C.L. Infection of human monocytes by *Leishmanis* results in a defective oxidative burst. Int. J. Exp. Pathol. (1994), 75:277-284.
73. Severn, A.; Xu, D.; Doyle, J.; Leal, M.C.; Odonnell, C.A.; Brett, S.J.; Moss, D.W., Liew, F.Y. Preexposure of murine macrophages to lipopolysaccharidae inhibits the induction of nitric oxide synthase and reduces leishmanicidal activity. European J. of Immun. (1993) 23 (7) I711-I714.
74. Barral-Netto, M.; Barrel, A.; Brownell, C.E.; Skeiky, Y.A.W.; Elligsworth, L.P.; Transforming growth factor- β in leishmanial infection : a parasite escape mechanism. Science (Washington) (1992) 257 (5069) 595-548.
75. Jardim, A.; Funk, V.; Caprioli, R.M.; Olafson, R.W. Isolation and characterization of the *Leishmania donovani* kinetoplastid membrane protein-11, a major immunoreactive membrane glycoprotein. Biochem. J (1995); 305 : 307-313.
76. Barral, A., Texeira, M.; Reis, P Transforming growth factor- β in human cutaneous leishmaniasis Am. J. Pathol. 1995; 147 : 947-954.
77. Ritter, U; Moll, H; Laskay, T, Differential expression of chemokines in skin lesions of patients with localized and diffuse American cutaneous leishmaniasis. J. Infect Dis. (1996); 173 : 699-709.

78. Scharton-Kersten, T.; Afonso, L.C.C.; Wysocka, M.; Trinchieri G.; Scott, P. IL-12 is required for natural killer cell activation and subsequent T helper cell development in experimental leishmaniasis. *J. Immunol.* 1995; 154 : 5320-5330.
79. Carrera, L.; Gazzinelli, R.T.; Badolato, R. *Leishmania* promastigotes selectively inhibit interleukin-12 induction in bone marrow-derived macrophages from susceptible and resistant mice. *J. exp. Med.* 1996; 183 : 515-526.
80. Sartori, A.; Oliveira, MAP.; Scott, P., Trinchieri, G. Metacyclogenesis modulates the ability of *Leishmania* promastigotes to induce IL-12 production in human mononuclear cells. *J. Immunol.* (1997), 159 : 2849-2857.
81. Akuffo, H.; Maasho, K.; Blomstedt, M., Höjeberg, B., Britton, S Bakhiet, M. *Leishmania aethiops* derived from diffuse leishmaniasis patients preferentially induce mRNA for interleukin while those from localized leishmaniasis patients induce interferon- γ . *J. Infect. Dis.* (1997), 175 : 737-741.
82. Reiner, N.E.; Parasite accessory cell interactions in murine leishmaniasis. Evasion and stimulus-dependent suppression of the macrophage interleukin 1 response by *Leishmania donovani*. *J. Immunol.* (1987); 138 : 1919-1925.
83. Reiner, N.E.; Ng W.; Wilson, C.B.; McMaster, W.R.; Burchett S.K. Modulation of in vitro monocyte cytokine responses to *leishmania donovani*. Interferon γ prevents parasite induced inhibition of interleukin-1 production and primes monocytes to respond to *Leishmania* by producing both tumor necrosis factor α and interleukin 1. *J. Clin. Invest.* 1990; 85 : 1994-1924.
84. Descoteaux, A.; Matlashewski, G. c-fos and tumor necrosis factor gene expression in *Leishmania donovani* infected macrophages. *Mol. Cell. Biol.* 1989; 9 : 5223-5227.

85. Bogdan, G.; Röllinghoff, M. The impact of the type 1 and type 2 T helper cell concept on novel vaccine design with emphasis on protection against *Leishmania* parasites. In Kaufmann SHE, editor. Concepts in vaccine development Berlin : Walter de Gruyter, (1996); I43-I80
86. Launois, P.; Maillerd, I.; Pingel, S. IL-4 rapidly produced by V β 8 CD⁺ T cells instructs Th² development and susceptibility to in BALB/c mice. Immunity. (1997); 6 : 541-549. *Leishmania major*
87. Demant, P.; Lipoldova, M.; Svobodova, M.; Resistance to *Leishmania major* in mice. Science (1996); 274 : I392.
88. Roberts, L.J.; Baldwin, T.M.; Curtis, J.M., Handman, E. Foote, S.J. Resistance to *Leishmania major* is linked to the H2 region on chromosome I7 and to chromosome 9. J. Exp. Med. (1997); 185 : 1705-1710.
89. Tanowitz, H.B.; L.V. Kirchhoff, D.; Simon, S.A. : Chagas'disease. Clin. Microbiol. Rev. 5:400.
90. Burleigh, B.A.; and Andrews, N.W. (1995). The mechanisms of *Trypanosoma cruzi* invasion of mammalian cells. Annu. Rev Microbiol. (1995); 49 : 175.
91. Hall, B.F. *Trypanosoma cruzi* mechanisms for entry into host cells. Semin. Cell. Bio. (1993); 4 : 323.
92. Fernandez, M.A, M.A Muñoz-Fernandez, and M. Fresno. Involvement of β 1- integrins in the binding and entry of *Trypanosoma cruzi* into human macrophages. Eur, J. Immunol. (1993); 23 : 552.
93. Docampo, R.; and S.N.J. Moreno. The role of Ca⁺⁺ in the process of cell invasion by intracellular parasites. Parasitol. Today (1996); I2 : 61
94. Tardieux, I.; M.H. Nathanson, and N.M. Andrew. Role in host cell invasion of the *Trypanosoma cruzi*- induced cytosolic-free Ca⁺⁺ Transients J. Exp. Med. I79 : I017. (1994).

95. Dorta, M.L., A.T. Ferreira, M.E.M. Oshiro, and N. Yoshida. Ca^{++} Signal induced by *Trypanosoma cruzi* metacyclic trypomastigotes surface molecules implicated in mammalian cell invasion. *Mol. Biochem. Parasitol.* (1995); 72 : 285.
96. Burleigh, B.A.; and N.W. Andrews. A 120 kDa alkaline peptidase from *Trypanosoma cruzi* is involved in the generation of a novel calcium signaling factor for mammalian cells. *J. Biol. Chem.* 1995; 270 : 5172.
97. Rottenber, M., L. Cardoni, R. Andersson.; E.L.Segura, and A. Orn. Role of T helper/inducer cells as well as natural killer cell in resistance to *Trypanosoma cruzi* infection. *Scand. J. Immunol.* (1988); 28 : 573.
98. Tarleton, R.L. Regulation of immunity in *Trypanosoma cruzi* infection. *Exp. Parasitol.* (1991); 73 : 106.
99. Levitz, S.M.; Mathews, H.L.; and murphy. J.W. Direct antimicrobial activity of cells T. *Immunology Today* (1995); 16; 387-391
100. Tarleton, R.L. Depletion of $CD8^{+}$ T Cells increases susceptibility and reverses vaccine-induced immunity in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *The J. of Immunology* 144; 717-724 (1990).
101. Rottenberg, M.E. A Differential susceptibilities of mice genomically deleted of CD4 and CD8 to infection with *Trypanosoma cruzi* or *Trypanosoma brucei*. *Infectin and Immunity.* (1993); 61; 5129-5133.
102. Rottenberg, M.E.; Cardoni R.L. Role of T helper inducer cells as well as natural killer cells in resistance to *Trypanosoma cruzi* infection *Scandinavian J. of Immunol.* (1988); 28 : 573-582.
103. Heatcher, F.M. and Kuhn, R.E.; 1982. Destruction of *Trypanosoma cruzi* by natural killer cells. *Science.* (1982); 218 : 295-296.

104. Berke, G.; PELs and perforing and granzime independent mechanism of CTL- mediated lysis. Immunological Reviews. 1995; 146, 2I-3I.
105. Liu, C.C.; Persechini. P.M. and Young, J.DE. Perforin and limphocytes, mediated cytotoxicity. Immunological Reviews (1995) 146;145-175.
106. Liu, C.C.; Walsh, C.M.; and Young, J.D.E. Perforin : Structure and function. Immunological Today. (1995); 16; 194-201.
107. Sher, A.; and R.L. Coffman. (1992). Regulation of immunity to parasite by T Cells and T cell derived cytokines. Annu. Rev. Immunol. (1992); 10 : 385.
108. Araujo-Jorge, TC.; E.P. Sampaio, W. de Souza, and M.N. Meirelles 1989. *Trypanosoma cruzi* : The effect of variations in experimental conditions on the levels of macrophage infection in vitro. Parasitol. (1989) 75:257.
109. Aliberti, J.C.; M.A. Cardoso, G.A. Martinez, R.T. Gazzinelli, L.Q. Vieira, and J.S. Silva. (1996). Interleukin-12 mediates resistance in mice and is produced by murine macrophages in response to live *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes. Infect. Immunol. 64 :1961.
110. Muñoz-Fernandez, M.A.; M.A. Fernandez; and M. Fresno. Synergism between TNF γ and INF γ on macrophage activation against intracellular *Trypanosoma cruzi* through a nitric oxide mechanism. Eur. J. Immunol. (1992); 22:301.
111. Metz,G.; Y.Carlier, and B. Vray. *Trypanosoma cruzi* upregulates nitric oxide release by IFN γ preactivated macrophages, limiting cell infection independently of the respiratory burst. Parasite Immunol. (1993); 15 : 693.
112. Silva, J.S.; P.J. Morrissey. IL-10 and interferón γ regulation of experimental *Trypanosoma cruzi* infection J. Exp. Med. (1992); 175 : 169.

113. Torrico.F; H. Heremans.; M.T. Rivera; E, Van Marck; A. Billiau, and Y. Carlier. Endogenous INF γ is required resistance to acute *Trypanosoma cruzi* infection in mice. J. Immunol. (1991); 146 : 3626.
114. Rottenberg, M.E.; E. Castaños-Velez, R. de Mesquita; O Gofí Laguardia, P. Biberfeld, and A. Or. Intracellular co-localization of *Trypanosoma cruzi* and inducible nitric oxide synthase ; evidence for a dual pathway of iNOS induction. Eur. J. Immunol. (1990); 26 : 3203.
115. Santos, Lima ; E.C.I. Carcia; M.H. Vicentelli, P. vesslli, and Minoprio. Evidence for a protective role of tumor necrosis factor in the acute phase of *Trypanosoma cruzi* infection in mice. Infect. Immun. (1997); 65 : 457.
116. Petray, P.; M.E. Rottenberg; S. Grinstein; and A. Or. Release of nitric oxide during the experimental infection with *Trypanosoma cruzi*. Parasite Immunol. (1994); 16 : 193.
117. TVespa, G.N.; F.Q. Cunha, and J.S. Silva. Nitric oxide is involved in control of *Trypanosoma cruzi*-induced parasitemia and directly kills the parasite in vitro. Infect. Immuno. (1994) 62 : 5177.
118. Gazzinelli, R.T.; I.P. Oswald; S. Hieny, S.L. James, and A. sher. The microbicidal activity of interferon- γ -treated macrophages against *Trypanosoma cruzi* involves an L-arginine dependent, nitrogen oxide-mediated mechanism inhibitable by IL-10 and transforming growth factor-beta. Eur. J. Immunol (1992); 22 : 2501.
119. Silva, J.S.; D.R. Twardzik, and S.G. Reed. 1991. Regulation of *Trypanosoma cruzi* infection in vitro by transforming growth with factor beta TGF-beta. J. Exp. Med. (1991); 174 : 539.
120. Diego, J. de : Punzon, C.; Duarte, M; Fresno, M. Alteration of macrophage function by a *Trypanosoma cruzi* membrane mucin. j. of Immunology (Baltimore) (1997); 159(10) 4983-4989.
121. Berke, G. The CTL's kiss of death. Cell. (1995); 81,9-12.

122. Jiang, S.; Ojcius, D.M. Persechini, P.M.; and Young, J.D.E. Resistance of cytolytic lymphocytes to perforin - mediated killing : Inhibition of perforin binding activity by surface membrane proteins. *J. Of Immunology.* (1990); 144 ; 998-1003.
123. Persechini, P.M. Young, J.D.E.; Amers, W. Membrane Channel formation by the lymphocyte pore-forming protein : Comparison between susceptible and resistant target cells. *J. of cell Biology* (1990); 110 ; 2109-2116.
124. C.C. young, J.D.E. and Clark, W.R. Resistance of cloned cytotoxic T lymphocytes to cell-mediated cytotoxicity. *J of Exp. Med.* (1995); 166 ; 1070-1083.
125. Kranz, D.M.; and Eisen, H.N. Resistance of cytotoxic T lymphocytes. *Immunology.* (1987) ; 64 ; 3375-3379.
126. Young, J.D.E.; Cohn, Z.A.; and Podack, E.R. The ninth component of complement and the pore-forming protein (perforin 1) from cytotoxic T cells : Structural, immunological, and functional similarities. *Science.* 1986 ; 233 ; 184-190.
127. Bisaggio, R. Da C.; Castro, S.L. de; *Trypanosoma cruzi*: resistance to the pore forming protein of cytotoxic lymphocytes perforin. *Experimental Parasitology* (1997) 86 (2) 144-154.
128. Fisher, E.; M.A. Ouaisi; P Velve; J. Cornete. gp58/68, a parasite component that contributes to the escape of the Trypomastigote from the damage by the human alternative complement pathway. *Immunol.* (1988); 65 : 299-303.
129. Norris, K.A.; G. Harth, and M.So. Purification of a *Trypanosoma cruzi* membrane protein which elicits lytic antibodies *Infection and Immunity.* (1989); 57 : 2372 : 23 77.
130. Teixeira, R.L.; and J.M. Santana. *Trypanosoma cruzi* : Endocytosis and degradation of specific antibodies by parasite forms. *Ame. J. of the Trop. Med. and Hyg.* (1989); 40 : 165-170.

131. Almeida, I. C.; M.A.J. Ferguson. GPI-anchored glycoconjugates from *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes are recognized by lytic anti-galactosil antibodies from patients with chronic Chagas disease. Brazilian J. of Med. Research. (1994); 27 : 443-447.
132. Krettli, A.U. efeito de anticorpos T e do complemento sobre tripomastigotes sanguineos de camundongos infectados com *Trypanosoma cruzi* ph. D. Thesis Universidade de Mines Gerais, Belo Horizonte, M.G.; Brasil, 61 p.; 1978.
133. Garcia, I.E.; Lima, I.M d'I.; Alvarez, J.M. Role of membrane bound IgM in *Trypanosoma cruzi* evasion from immune clearance. J. of parasitology. (1997) 83 (2) 230-233.
134. Lida, K.; M.B. Whitlow, and V. Nussenzweig. Amôstigotes of *Trypanosoma cruzi* escape destruction by the terminal complement components. J. Exp. Med. (1989) ; 169 : 881.
135. Joiner, K.A.; A. Sher; T. Gaither, and C. Hammer. Evasion of alternative complement pathway by *Trypanosoma cruzi* results from inefficient binding of factor β . Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1988) ; 83 : 6593.
136. Schenkman, S; M.L.S. Guether, and N. Yoshida. Mechanism of resistance to lysis by the alternative complement pathway in *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes: effect of specific monoclonal antibody. J. Immunol. (1986) : 137 : 1623.
137. Graham, V.S.; Barry, J.D. Is point mutagenesis e mechanisms for antigen variation in *Trypanosoma brucei*? Mol. And Bioche. Parasitology. (1996) 79 (1) 35-43.
138. Barbet, A.P : Kamper, S. M. The importance of mosaic genes to trypanosome survival. Parasitology Today. (1993) 9 (2) 63-66.
139. Borst, P and Rudenko, G. Antigenic variation in African trypanosomes. Science. (1994); 264 : 7872-7873.
140. Pays, E, Yanhamme, L. and Berberof, M Genetic controls for the expression of surface antigens in African trypanosomes Annu Rev. Microbiol. (1994), 48 ; 2 5-52.

141. Capbern, A.; Giroud, C.; *Trypanosoma equiperdum*: Etude des variations antigeniques au cours de la trypanosomose experimental du lapin Exp.Parasitol.(1977); 42,6-13.142.
142. Van der Ploeg; L.H.T. ; Valerio, D. An analisis of cosmid clones of nuclear DNA from *Trypanosoma brucei* shows that the genes for variant surface glycoproteins are clustered in the genome. Nucl. Acids Res. 10 ; 5905-5923. (1982).
143. Allison, A.C.; The role of cell-mediated immune responses in protection against Plasmodia and in the pathogenesis of malaria. In malaria principles and Practice of Malariology. I. Mcgregor, ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, p.501. (T989).
144. Shear, H.L.; The role of macrophages in resistance to malaria. In malaria : Host responses to infection. M. M. Stevenson, ed. C.R.C. Press, Boca Raton, FL, p. 87.
145. Abdel-hafez, H.A.; H.A.K. Rowland, and N.M. El-kady. Immune T cells and their limphokines enhance phagocytosis of merozoites by macrophages. J. Egypt. Soc. Parasitol. (1986), 16 : 37.
146. Khusmith, S.; P. Druilhe, and Gentilini. Enhanced *Plasmodium falciparum* merozoite phagocytosis by monocytes from immune individuals. Infect. Immun. 35 : 874 (1982).
147. Ockenhouse, C.F.: S. Schulman,; And H.L. Shear. 1984. Induction of crisis forms in the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* by interferon activated, monocyte derived macrophages J. Immunol. (1984) 133 : 1601.
148. Playfair, J.H.L.; K.H. Jones and J., Taverne. Cell-mediated immunity and its role in protection. In malaria · Host Responses to Infection. M.M. Stevenson, ed. C.R.C. Press, Boca Ratonp. 65. (1989).
149. Cohn, S.; G.A. Butcher, and R.B. Crandall. Action of anti-malarial antibody in vitro. Nature. (1970) 223 : 368.

150. Taylor, D.W.; Humoral. Immune responses in mice and man to malaria parasites. In malaria host response to infection. M. M. Stevenson, ed. C.R.C. Press, Boca Raton, F.L. p.2. (1999).
151. Playfair, J.H.L.; Dockrell and J. Taverne. Macrophages as effector cells in immunity to malaria. *Immunol. Lett.* (1985); II : 233.
152. Clark, I.A.; J.L. Virelizier, E.A. Carswell, and P.A Wood. Possible importance of macrophage-derived mediators in acute malaria. *Infect. Immunol.* 32 : 1058. (1981).
153. Cavacini, L.A.; L.A. Parke and W.P. Weidanz. Resolution of acute malarial infections by T cells-dependent non-antibodymediated mechanisms in immunity. *Infect. Immun.* (1990); 58 : 2946.
154. Grun, J.L. and W.P. Weidanz. Immunity to *P. chabaudi* adami in the B cell deficient mouse. *Nature.* (1981); 290 : 143.
155. Ferrante, A.L.; Kumaratilake, C.M. Rzepczyk, and J; M. Dayer. Killing of *Plasmodium falciparum* by cytokine activated effector cells (neutrophils and macrophages). *Immunol. Lett.* (1990) 25 : 179.
156. Jones, K.B.; B.J. Cottrell. Killing of *Plasmodium falciparum* by human monocyte-derived macrophages. *Parasitology Immunology* (1989) ; II : 585.
157. Taverne, J.; H.M. Dockrell, and J.H.L. Playfair. Killing of the malarial parasite *Plasmodium yoelii* in vitro by cells of myeloid origin. *Parasitol. Immunol.* (1982); 4:77.
158. Kumaratilake, L.M.; Ferrante, A. IL-4 Inhibits macrophage-mediated killing of *Plasmodium falciparum* in vitro. A possible parasite-immune evasion mechanism. (1984); 6 : 79.
159. Da silva, L.P. Genetic aspects of malaria parasite infection and the host immune response in relation to parasite evasion. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*(1990); 65 (Supplement I) : 15.
160. Barnwell, J.W.; Howard, R.J.; Miller, L.H. Influence of the spleen on the expression of surface antigens on parasitized erythrocytes. *Ciba Found Symp* 1983 ; 94 : 117-136.

161. David, P.H.; Hommel, M; Miller L.H; Udeinya, I.J.; Oliginio L.D. Parasite sequestration in *Plasmodium falciparum* malaria: spleen and antibody modulation of cytoadherence of infected erythrocytes Proc Natl. Acad. Sci. USA, 1983; 80 : 5057-5059.
162. Howard, R J.; Antigenic variation and antigenic diversity in malaria. Contr. Microbiol. Immunol (1987); 8 : 176-218.
163. Thaithong, S.; Beale G.H.; Fenton, B.; McBride, J.; Rosario V.; Walker, A Clonal diversity in a single isolate of the Malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Trans. Roy Soc. Trop. Med. Hyg. (1984); 78 : 242-245.
164. Walliker, D.; Quakyi, I.A.; Welles, T.E. Genetic analysis of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Science . (1987); 236 : 1661-1666.
165. Hommel, M.; David, P.H.; Oligino, L.D.; Surface alteration of erythrocytes in *Plasmodium falciparum* malaria. Antigenic variation, antigenic diversity, and the role of the spleen J. Exp. Med. (1983); 157 . 1137-1148.
166. Marsh, K; Howard, R.J. Antigen induced on erythrocytes by *Plasmodium falciparum*: expression of diverse and conserved determinants. Science . (1986); 231 : 150-152 .
167. de la Cruz, V F.; Lal., A A.; McCutchan, T.F. Sequence variation in putative functional domains of the circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum*. implications for vaccine development J. Biol. Chem. (1987); 262 · 11935-11939.
168. Kemp, D.J.; Coppel, R.L.; Anders, R P. Repetitive proteins and genes of malaria. Ann Rev. Microbiol (1987); 41 : 181-208.
169. Anders, R.F. Multiple cross-reactivities amongst antigens of *Plasmodium falciparum* impair the development of protective immunity against malaria Parasite Immunol. (1986); 8 . 529-539.

170. McLaughlin, G.L.; Benedik, M.J.; Campell, G.H.; Repeated immunogenic amino acid sequences of Plasmodium species share sequence homologies with protein from human and human viruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* (1987); 37 : 258-262.
171. Dubois, P.; Pereira de Silva, L. Structure and function of a thymic peptide is mimicked by *Plasmodium falciparum* peptides. *Ann Inst. Pasteur/Immunol.* (1988); 139:557-567.
172. Kaslow, D.C.; A vaccine candidate from sexual stages of human malaria that contains EGF-like domains. *Nature* (1988) : 333 : 74-76.
173. Reinhardt, M.C.; Ambroise-Thomas, P.; Cevallo-Serra, R.; Meylan, C.; Gautier, R.; Malaria at delivery in Abidjan. *Helv. Paed. Acta* (1978) ; 33 : 65-84.
174. McGregor, I.A. Epidemiology, malaria and pregnancy. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* (1984); 33: 517-525.
175. Essner, R., K. Rhoades, W.H. McBride, D.L. IL-4 down regulates IL-1 and TNF gene expression in human monocytes. *J. Immunol* (1989), 142 : 3857.
176. Abramson, S.L.; and J.I. Gallin. IL-4 inhibits superoxide production by human mononuclear phagocytes. *J. Immunol.* (1990), 144 : 625.
177. Anderson, R.M. and May, R. M. *Adv. Parasitology.* 24 ; 1-101 (1985).
178. Butterworth, A; E. Felford; A.J.C.; Dunne, D.W.; Ouma, J.H. Sturrock, R.F. *Phil. Trans. R. Soc. B* 321, 495-511 (1988).
179. Maizels, R.M. and Selkirk; M.E. In *the Biology of Parasitism* (eds Englund, P.T. and Sher, A) 285-308 (Liss, New York 1988).
180. Anderson, R.M. *Trans. R. Soc. Trop. Med Hyg.* 80, 686-696, (1986).
181. Schad, G. A. and Anderson, R. M. *Science* 228 , 1537-1540, (1985).
182. Keymer, A. and Pagel, M. In *Hookworm Disease: Current Status and New Directions* (eds Schad, G. A. and Warren, K. S) 177-209 (Taylor and Francis, London, 1990).

183. Warren, K.S. In Bailliere's Clinical Tropical Medicine and Communicable Diseases (ed Mahmoud, A. A. F) 301-313, Balliere, London, 1987.
184. Tielens, A.G.M.; Energy generation in parasitic helminths. *Parasito. Today.* (1994); 10 : 346-350.
185. Hanna REB.; *Fasciola hepatica*: glycocalix replacement in the juvenile as a possible mechanism for protection against host immunity. *Exp. Parasitol.* 1980; 50:103-114.
186. Duffus. W.P.H.; Franks, D. In vitro effect of immune serum and bovine granulocytes on juvenile *Fasciola hepatica*. *Clin. Exp. Immunol.* (1980); 41 : 430-440.
187. Badley, J. E.; Crieve, R.B., Rockey, J.H.; Glickman, L.T. Immune-mediated adherence of eosinophils to *Toxocara canis*. Infective larvae : the role of excretory-secretory antigens. *Parasite Immunol.* 1987, 9 : 133-143.
188. Ashman, K.; Mather, J.; Wiltshire, C , Jacobs, H.J.; Meeusen, E.; Isolation of a larval surface glycoprotein from *Haemonchus contortus* and its possible role in evading hostimmunity. *Mol Biochem Parasitol.* (1995); 70 : 775-179.
189. Hotez, P.J., Le, Trang N.; McKerrow, J.H , Cerami, A. Isolation and characterisation of a proteolytic enzyme from the adult hookworm *Ancylostoma caninum*. *J. Biol. Chem.* (1985) 260 : 7348-7348.
190. Hotez, P J.; H ggety, J. metalloproteases of infective *Ancylostoma* hookworm larvae and their possible functions in tissue invasion and ecdysis *Infect. Immun* (1990); 58 : 3883-3892
- 191 Pratt, D.; Cox, G.N ; Milhausen, M.J.; Boisvenue, R.J.; A developmentally regulated cysteine protease gene family in *Haemonchus contortus* *Mol Biochem. Parasitol.* (1990); 43: 181 -192.
192. Pratt, D.; Boisvenue, R. J ; Cox, G.N. Isolation and Putative cysteine protease genes of *Ostertagia ostertagi* *Mol. Biochem. Parasitol.* (1992), 56: 39-48.

193. Rhoads, M.L.; Fetterer, R.H.; Developmentally regulated secretion of cathepsin L-like cysteine proteases by *Haemonchus contortus*. J. Parasitol. (1995); 81 : 505-512
194. Kong, Y.; Chung, Y.B.; Cho, S.Y.; Kang, S.Y. Cleavage of immunoglobulin G by excretory-secretory cathepsin-like protease of *Spirometra mansoni* plerocercoid. Parasitol. (1994); 109:611-621.
195. Auriault, C.; Ousaissi, M.A.; Torpier, G.; Eisen, H.; Capron A. Proteolytic cleavage of IgG bound to the Fc receptor of *Schistosoma mansoni* schistosomula. Parasite Immunol. (1981) 3:33-44.
196. Auriault, C.; Capron, M.; Cesari, I.; Capron, A.; Enhancement of eosinophil effector function by soluble factors released by *Schistosoma mansoni*; role of proteases. J. Immunol (1983); 131 : 464-470.
197. Hamajima, F.; Yamamoto, M.; Tsuru, S. Immunosuppression by a neutral thiol protease from a parasitic helminth larvae in mice Parasite Immunol.(1994);16:261-273.
198. Nicolas-Gaulard I ; Moire, N. ; Boulard, C. Effect of the parasite enzyme, hypodermin A, on bovine IgMphocyte proliferation and interleukin-2 production via the prostaglandin pathway. Immunol. 1995; 85 : 160-165.
199. Hill, D.E.; Gamble, R ; Rhoads, M.C.; Fetterer, R.H.; Urban, J.F. *Trichuris suis* : a zinc metalloprotease from culture fluids of adult parasites. Exp.Parasitol.(1993) ;77:170-178.
200. Leid, R.W.; Suquet, C.M.; Perryman, L.E. Inhibition of antigen and lectin-induced proliferation of rat spleen cells by a *Taenia taeniformis* proteinase inhibitor. Clin Exp. Immunol 1984 ; 57 : 187-194.
201. Burger, C.J.; Rikihisa, Y, Lin Y.C. *Taenia taeniformis* : inhibition of mitogen induced proliferation and IL-2 production in rat splenocytes by larval in vitro product. Exp. Parasitol. (1986); 62 : 216-222.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

202. Pritchard, D.; Ali, NMH ; Behnke, J.M.; Analysis of the mechanism of immunodepression following heterologous antigen stimulation during concurrent infection with *Nematospiroides dubius* Immunology (1984); 51 : 633-642.
203. Pritchard, D; Lawrance, C E Immunosuppressive proteins secreted by the gastrointestinal nematode parasite *Heligmosomoides polygyrus* Int. J. Parasitol. (1994); 24 : 495-500.
204. Behnke, J.M, Wahid, F.N.;Grencis, R.K ; Else, K.J.; Ben-Smith, A.; Goyal, P.K. Immunological relationships during primary infection with: *Heligmosomoides polygyrus* (*Nematospiroides dubius*): down regulation of specific cytokine secretion (L-9 and IL-10) correlates with poor mastocytosis and chronic survival of adult worms. Parasite Immunol. (1993); 15:415-421.
205. Ogilvie, B.M, Wilson, J.M.; Evasion of the immune response by parasites. Br. Med. Bull 1976; 32:177-181.
206. Bruschi, F.; Carulli, G ; Azzars, A.; Minucci, S. : Inhibition of neutrophil oxidative metabolism by Trichinellosis patients sera - parasite origin or host induction. Parasite Immunol. (1995); 17:253-260.
207. Moyle, M.; Foster, D.L.: A hookworm glycoprotein that inhibits neutrophil function is a ligand of the integrin CD11b/CD18.
208. Goose, J, Possible role of excretory-secretory products in evasion of host defences by *Fasciola hepatica*. Nature (1978) 275 : 216-217.
209. Ferreira, A.P.; Faquim, E.S., Immunisation with *Ascaris suum* extract impairs T cell functions in mice. Cell Immunol. (1995); 162 : 202-210
210. Dixon, J.B.; Jenkis, P.; Allan, D. Immune recognition of: *Echinococcus granulosus* I. Parasite activated, primary transforming by normal murine lymph node cells. Parasite Immunol. 1982. 4 : 33-45

211. Judson, D.G.; Dixon J.B.; Skerrit, G.C.; Stallbaumer, M. Mitogenic effect of *Coenurus cerebralis* cyst fluid. Res. Vet. Sci. (1984); 37 : I28.
212. Allan, D.; Jenkins, P , Connor, R J.; Dixon, J.B. A study of immunoregulation of BALB/c mice by *Echinococcus granulosus* equinus during prolonged infection. Parasite Immunol. 1981 ; 3 : I37-I42.
213. Rakha, N.K.; Dixon, J.B.; Jenkis, P.; Carter. S.D., Skerrit, G.C.; Marsahl-Clarke, S. Modification of cellular immunity by *Taenia multiceps* (cestoda): accessory macrophage and CD4⁺ lymphocytes are affected by two different coenurus factors. Parasitology. (1991); I03 : I39-I47.
214. Yamaoka, K.b.; Kolb, J.P.; MiyssakA, N.; Inuo, G.; Fujita, K. Purified excretory-secretory component of filarial parasite enhances FcεRII/CD23 expression on human splenic B and Tcell and IgE synthesis while potentiating T-helper Type 2-related cytokine generation from T cells Immunology. (1994), 8I.507-512.
215. Lawrance, R.A ; Allen, J.F.; Osborne, J.; Maizel, R.M. Adult and microfilarial stages of the filarial parasite *Brugia malayi* stimulate contrasting cytokine and Ig isotype responses in BALB/c mice J. Immunol. (1994); I53:I2I6-I224.
216. Urban, J.F., Madden, K B.; Cheever, A.W.; Trotta PP ; Katona, I.M.; Finkelman, F.D.; IFN inhibits inflammatory responses and protective immunity in mice infected with the nematode parasite *Nippostrongylus brasiliensis* J. Immunol 1993; I5I: 7086-7094.
217. Foster, N.; Lee, D.L. A vasoactive intestinal polypeptide like protein excreted by *Nippostrongylus brasiliensis* and its effect on contraction of uninfected rat intestine Parasitology. (1996), II2.97-I04.

218. Savin, K.W.; Dopheide T.A.A.; Frenkel, M.J.; Characterisation, cloning and host-protective activity of a 30-kilodalton glycoprotein secreted by the parasitic stages of *Trichostrongylus colubriformis*. Mol. Biochem. Parasitol. (1990); 41 : 167-176.
219. Wang, H-Y.; Xin, Z.; Tang, H.; Ganea, D.; Vasoactive intestinal peptide inhibits IL-4 production in murine T cells by a post-transcriptional mechanism. J. Immunol.(1996); 156; 3243-3253.
220. Dopheidee, TAA.; Tachedjian, M.; Phillips, C.; Frenkel, M.J. Molecular characterisation of a protective, 11kDa excretory-secretory protein from the parasitic stages of *Trichostrongylus colubriformis*. Mol. Biochem. Parasitol. (1991); 45: 101-108.
221. Blomstrom, D.C., Fahey, D.; Kutny, R.; Korant, B.D.; Knigh, E. Molecular characterisation of the interferon-induced 15kDa protein : Molecular cloning and nucleotide and amino acid sequence. J Biol. Chem. (1986); 261:8811-8816.
222. Knigh, E.; Cordova, B. IFN-induced 15-kDa protein is released from human lymphocytes and monocytes. J. Immunol. (1991) 146 : 2280-2284.
223. Erttmann, K D.; Buttner, D.W.; Gallin, M.Y.; A putative protein related to human chemokines encode antisense to the cDNA of an *Onchocerca volvulus* antigen. Trop. Med. Parasitol.(1995); 46 . 123-130.
224. Milbourne, E.A ; Howell, M.J.; Eosinophil differentiation in response to *Fasciola hepatica* and its excretory/secretory antigens. Int J. Parasitol (1993); 23: 1005-1009.
225. Colley. D.C.; Nix, N.A. Do schistosomes exploit the host proinflammatory cytokine TNF α for their own survival? Parasitol. Today (1992); 8 : 355-357
226. Barcinski, M.A ; Costa-Moreira, M E.; Cellular response of protozoan parasites to host derived cytokines. Parasitol. Today. (1994); 10: 352-355.

227. Roelants, G.E and Pinder, M Immunobiology of African tripanosomiasis, en J. J. MARCHALONIS (editor), Immunobiology of parasites and Parasitic Infections. Plenum Press, N.Y. (1984) pp. 225-274.
228. Chapman, C.B. and Mitchell, G.F. (1983). Proteolytic cleavage of immunoglobulin by enzymes released *Fasciola hepatica*, Vet. Parasitol; II : 165-178.
229. Suquet, C.M. ; Creen-Edwards, C and Leid R.M. Isolation and partial characterization of a proteinase inhibitor from the larval stage of the cestode *Taenia taeniaeformis*. Int. J. Parasitol.; (1984); 14:165-172.
230. Nemeth, I. and Juhasz, S. Properties of a trypsin and chymotrypsin inhibitor secreted by larval *Taenia pisiformis*. Int. J. Parasitol. (1981), II : 137-144.
231. Mesnick, S.R. and Eaton, J.W. Leishmanial superoxide dismutase : A posible target for chemotherapy. Bioch. Biophys. Res. Commun.; 1981; 102 : 970-976.
232. Paul, J.M. and Barret. J. Peroxide metabolism in the cestodes *Hymenolepis diminuta* and *Moniezia expansa*. Int. J. Parasitol. (1980); 10 : 121-124.
233. Kazura, J.W. and Meshnick, S.R. Scavenger enzymes and resistance to oxigen mediated damage in *Trichinella spiralis*, Mol. Bio chem. Parasitol.; (1984), 10 : 1-10.
234. Leid, R.W. Immunity to the metacestode of *Taenia taeniaeformis* in the laboratory rat. Amer. J. Trop. Med. Hyg. (1977). 26; 54-60.
235. Hammerberg, B. and Wiliams, J.F. Physicochemical characterization of complement-interacting factors from *Taenia taeniaeformis*. J. Immunol (1978); 120 : I039-I045.
236. Phillips, S.M.; Fox, E.G. Immunopathology of parasitic diseases : A conceptual approach. En J.J. marchalonie (editor), Immunobiology of parasites and Parasitic Infections. Plenum Press, New York, pp. 421-462. (1984).