

Nuevos Avances en el Desarrollo del Tratamiento Etiológico de la Enfermedad de Chagas*

Julio A. Urbina

Laboratorio de Química Biológica, Centro de Bioquímica y Biofísica,
Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas Caracas,
Venezuela. International Research Scholar, Howard Hughes Medical
Institute, Chevy Chase, Maryland, USA.

Resumen

Aunque la relevancia del tratamiento antiparasítico en el manejo de la enfermedad de Chagas crónica ha sido motivo de muchas controversias, recientes estudios sobre la patogénesis de esta dolencia han llevado a un consenso creciente en el sentido de que la eliminación del agente etiológico, *Trypanosoma cruzi*, de los pacientes infectados sería un requisito necesario y suficiente para frenar la evolución de la enfermedad y evitar sus serias consecuencias a largo plazo. Desafortunadamente, los tratamientos específicos actualmente disponibles para esta parasitosis (nifurtimox y benznidazol) poseen una eficacia muy limitada en la fase crónica y tienen frecuentes efectos colaterales indeseables. Actualmente se adelantan varios nuevos enfoques para el tratamiento específico de la dolencia, basados en el notable avance de nuestro conocimiento de la bioquímica y fisiología del *T. cruzi* en los últimos 25 años, que prometen ser mucho más eficaces contra el parásito y tolerables para el paciente.

Entre los agentes más promisorios y avanzados en su desarrollo se encuentran inhibidores específicos (triazoles) de la biosíntesis de ergosterol, que actúan al nivel del enzima C14 demetilasa de esteroides, y pueden entrar en pruebas clínicas en pacientes con enfermedad de Chagas a corto plazo (5 años). Hay otros compuestos que podrían entrar en desarrollo clínico en la próxima década, incluyendo inhibidores de proteasas específicas del parásito (cruzipaina) y bisfosfonatos, inhibidores de la enzima farnesildifosfato sintetasa.

Finalmente, otros compuestos que actúan selectivamente contra el parásito han sido identificados e incluyen inhibidores de la tripanotión reductasa, hipoxantina-guanina fosforibosil-transferasa, prenil-transferasa de proteínas y nuevos inhibidores de la biosíntesis de ergosterol que actúan a nivel de escualeno sintetasa y oxidoescualeno ciclasa; tales compuestos también han iniciado desarrollo preclínico, pero su desarrollo clínico se estima en el mediano a largo plazo (10 a 15 años).

Introducción

Relevancia del tratamiento etiológico en el manejo de la enfermedad de Chagas

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, la Tripanosomiasis Americana o enfermedad de Chagas continúa siendo la mayor carga de morbi-mortalidad de origen parasitario en el continente Americano, a pesar de importantes avances en el control de la transmisión vectorial y transfusional de su agente etiológico, el protozoario *Trypanosoma cruzi* (W.H.O., 2002). No hay vacunas disponibles para la prevención de esta infección y la perspectiva actual sobre el eventual desarrollo de las mismas es incierta [Brenner and Gazzinelli, 1997; Tarleton, 2001].

Aunque la participación del *Trypanosoma cruzi* en la patogénesis de la fase aguda de la enfermedad de Chagas es ampliamente aceptada [Brenner and Gazzinelli, 1997; Cançado, 1999], el papel del parásito en el origen de las características manifestaciones patológicas de la fase crónica ha sido muy controvertida [Cunha-Neto et al., 1995; Engman and Leon, 2002; Kalil and Cunha-Neto, 1996; Tarleton, 2001; Tarleton and Zhang, 1999]. Desde los años 70 del siglo pasado numerosos estudios habían concluido que las manifestaciones patológicas presentes en la fase crónica de la dolencia, incluyendo la miocardiopatía

chagásica, son de origen principalmente autoinmune [6,7]. Dicha hipótesis se basó principalmente en la aparente ausencia de parásitos en las características lesiones inflamatorias presentes en el miocardio y tracto gastro-intestinal de pacientes crónicos de enfermedad de Chagas.

Se postula que tales procesos inflamatorios resultarían del "mimetismo molecular" entre antígenos parasitarios y ciertos componentes de los tejidos del huésped [6,7], así como por liberación de autoantígenos resultante de la citólisis inducida por el parásito intracelular [Engman and Leon, 2002; Leon and Engman, 2003]. De acuerdo a dicha hipótesis, luego de que los procesos autoinmunes se establecen en el hospedero, la persistencia del parásito no jugaría un papel determinante en la patogénesis de la enfermedad y aunque el tratamiento anti-parasítico fuera exitoso, este no conllevaría a un mejoramiento clínico de los pacientes. Esta conceptualización de hecho desestimuló el desarrollo de nuevos agentes tripanocidas por décadas, al considerarse estos irrelevantes [Urbina, 1999b; Urbina and Docampo, 2003].

Sin embargo, la hipótesis del origen autoinmune de la enfermedad de Chagas ha sido seriamente cuestionada por los resultados de estudios más recientes, resumidos en [Tarleton, 2001; Urbina and Docampo, 2003], que han concluido que la persistencia del parásito, combinada con un desbalance del sistema inmune que puede incluir procesos autoinmunes, es la condición necesaria y suficiente para generar y mantener los procesos inflamatorios que subyacen las lesiones presentes en la etapa crónica de la enfermedad [Tarleton, 2001; Urbina and Docampo, 2003]. Tales hallazgos indicarían que la eliminación del *T. cruzi* de los pacientes infectados sería un prerrequisito para detener la evolución de la enfermedad y evitar sus consecuencias terminales. *Así pues, el consenso que prevalece actualmente es que esta dolencia debe ser tratada como una enfermedad parasitaria, no autoinmune* [Luquetti, 1997; Sosa Estani and Segura, 1999; Tarleton, 2001; Urbina and Docampo, 2003].

Tratamientos etiológicos disponibles para la enfermedad de Chagas y sus limitaciones

Las drogas actualmente usadas para el tratamiento etiológico de la enfermedad de Chagas son el nitrofurano nifurtimox (Lampit®, Bayer) y el nitroimidazol benznidazol [Rochagan®, Radanil®, Roche], cuya actividad anti- *T. cruzi* fue descubierta empíricamente hace más de tres décadas. El nifurtimox actúa por vía de la reducción del grupo nitro de la molécula a radicales nitroaniónicos, que a su vez reaccionan con el oxígeno molecular para generar metabolitos reducidos del mismo, altamente tóxicos (anión superóxido, peróxido). Estudios por Docampo y colaboradores han demostrado que el *T. cruzi* es deficiente en algunos de los mecanismos de detoxificación de metabolitos de oxígeno, particularmente del peróxido de hidrógeno, y es por ende más susceptible al stress oxidativo que las células de vertebrados [Docampo, 1990]. El benznidazol parece actuar por una vía diferente, resultante de la reacción de sus derivados nitroreducidos con macromoléculas como DNA, RNA, proteínas y posiblemente lípidos insaturados [Docampo, 1990].

Estos resultados han llevado a la conclusión que la actividad antiparasítica de estos compuestos está indisolublemente asociada a su toxicidad hacia el hospedero vertebrado.

Ambas drogas son activas en la fase aguda (hasta un 80% de éxitos terapéuticos, definidos como cura parasitológica radical indicada por negativización de todas las pruebas parasitológicas y serológicas) [Cançado, 1999]), así como en la fase crónica temprana de la enfermedad (hasta 60% de curas) [de Andrade et al., 1996; de Andrade et al., 1998; Sosa Estani and Segura, 1999; Sosa Estani et al., 1998], aunque hay reportes recientes que discrepan de esos resultados [Silveira et al., 2000; Solari et al., 2001]. Mas aun, la eficacia antiparasítica de los compuestos varía según la región geográfica, probablemente como resultado de la diferente susceptibilidad intrínseca a las drogas de las cepas del *T. cruzi* que circulan en diferentes zonas endémicas [Andrade et al., 1992; Cançado, 1999].

Asimismo, estos compuestos presentan frecuentemente efectos colaterales deletéreos, que incluyen anorexia, vómitos, polineuropatía periférica y dermatopatía alérgica, que pueden conllevar a la interrupción del tratamiento (Cançado, 1999). Sin embargo, la mayor limitación de los tratamientos actualmente disponibles es su baja eficacia en la fase crónica establecida de la enfermedad (= 80% de fracasos terapéuticos), que es la presentación clínica más frecuente actualmente en Latinoamérica [Cançado,

1999]. Esta conclusión, inicialmente basada en la persistencia de la serología anti- *T. cruzi* y la evolución clínica de los pacientes tratados, ha sido recientemente confirmada usando métodos de PCR [Añez et al., 1999; Braga et al., 2000; Britto et al., 2001; Lauria-Pires et al., 2000].

Las razones de la marcada diferencia en la eficacia de estas drogas en las dos fases de la enfermedad no están claras aun, pero posiblemente resulten de la inadecuada farmacocinética de estos compuestos frente a la ubicación de los parásitos en tejidos profundos en la fase crónica de la infección [Urbina, 1999a; Urbina, 2002].

Aun así, algunos estudios han demostrado que el tratamiento antiparasítico con benznidazol en pacientes crónicos, aunque incapaz de inducir cura parasitológica en la mayoría de los pacientes, conllevó a una marcada reducción en la ocurrencia de cambios electrocardiográficos y a una menor frecuencia de deterioro del cuadro clínico de los pacientes [Bahia-Oliveira et al., 2000; Viotti et al., 1994]. Se ha argumentado que estos resultados son compatibles con la hipótesis de la persistencia parasitológica como factor primario desencadenante de las lesiones características de esta fase de la dolencia, pues al reducirse (sin necesariamente eliminarse) la carga parasitaria de los tejidos debería bajar la severidad de los procesos inflamatorios que subyacen tales lesiones [Bahia-Oliveira et al., 2000; Tarleton, 2001; Viotti et al., 1994]; esta interpretación ha recibido un apoyo experimental directo en un estudio en un modelo murino de la enfermedad [García et al., 2005].

En base a esos hallazgos un grupo de expertos reunidos en 1998 en Rio de Janeiro, Brasil, produjo un conjunto de recomendaciones para el tratamiento específico de pacientes seropositivos para *T. cruzi* (Oficina Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud, documento OPS/HCP/HCT140/99).

Sin embargo, aunque existe un amplio consenso en el sentido de que a todos los pacientes seropositivos deben recibir tratamiento específico para eliminar o reducir su carga parasitaria, muchos médicos mantienen serias reservas con relación al uso de nifurtimox o benznidazol en pacientes crónicos, debido a la desfavorable relación riesgo/beneficio de esas drogas.

Nuevos enfoques para el tratamientos etiológico de la enfermedad de Chagas

1. Inhibidores de biosíntesis de ergosterol

Estudios llevados a cabo en las últimas dos décadas han demostrado consistentemente que el *T. cruzi*, como la mayoría de los hongos y levaduras patógenas, requiere de esteroides específicos para mantener su viabilidad y capacidad de proliferación a lo largo de todo su ciclo de vida y que inhibidores específicos de la biosíntesis de ergosterol (IBE) son potentes agentes antiproliferativos contra este parásito, tanto in vitro como in vivo [Urbina, 2002; Urbina and Docampo, 2003].

Sin embargo, varios estudios han conseguido que IBE comercialmente disponibles, como el ketoconazol, itraconazol o terbinafina, son incapaces de erradicar el *T. cruzi* de humanos o animales con infecciones crónicas o detener el progreso de la dolencia, indicando que su actividad in vivo es tripanostática, no tripanocida [Urbina, 2002; Urbina and Docampo, 2003].

Una excepción son los estudios de Apt y colaboradores en Chile, quienes reportan que el itraconazol, aunque incapaz de curar parasitológicamente a los pacientes, puede retardar o detener la progresión del compromiso cardíaco de los mismos [Apt et al., 1998; Apt et al., 2003]; la discrepancia con los resultados obtenidos en otras partes del continente puede ser probablemente explicada por la mayor susceptibilidad a la droga de las cepas de *T. cruzi* que circulan en el área endémica chilena, también observada con el alopurinol (ver abajo) [Apt et al., 1998; Apt et al., 2003]. Por otro lado, estudios en la última década han demostrado que nuevos derivados triazólicos, inhibidores de la C14 demetilasa de esteroides en hongos y levaduras (Figura 1), como D0870 (Zeneca Pharmaceuticals, Macclesfield, Reino Unido) y posaconazol [SCH 56592, Schering-Plough Research Institute, Kenilworth, N.J., EUA], son capaces de inducir cura parasitológica radical en modelos murinos de enfermedad de Chagas, tanto aguda como crónica [Urbina,

2002; Urbina and Docampo, 2003; Urbina et al., 1996], siendo los primeros compuestos capaces de curar infecciones crónicas de este parásito en animales. Mas aun, los compuestos demostraron ser activos contra cepas de *T. cruzi* naturalmente resistentes a nifurtimox y/o benznidazol, aun si el hospedero estaba inmunosuprimido [Urbina, 2002; Urbina and Docampo, 2003].

La actividad tripanocida in vivo de estos compuestos ha sido atribuida a su potente y selectiva actividad intrínseca contra el parásito (las concentraciones mínimas inhibitorias contra la forma amastigote intracelular del parásito, cultivada en células de mamífero in vitro, esta en el rango nanomolar a sub-nanomolar), así como a propiedades farmacocinéticas muy apropiadas para esta aplicación (grandes volúmenes de distribución y largos tiempos de eliminación) [Urbina, 1999b; Urbina, 2002; Urbina and Docampo, 2003].

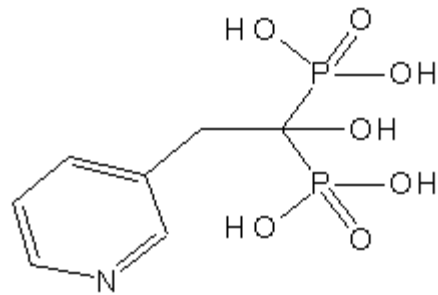
El posaconazol (Figura 1), un análogo estructural del itraconazol que esta actualmente en estudios clinicos Fase III como antimicótico sistémico en EUA, America Latina y Europa, es un candidato obvio a corto plazo para estudios clínicos en pacientes con enfermedad de Chagas, ya que además de sus demostradas propiedades antiparasitarias, se ha comprobado su eficacia como antimicótico y su excelente perfil de seguridad en humanos, aun en tratamientos prolongados [Negroni et al., 2004].

Otros triazoles (Figura 1) como TAK-187 (Takeda Chemical Industries, Osaka, Japon) [Corrales et al., 2005b; Urbina et al., 2003b], UR-9825 (albaconazol, Uriach y Compañia, Barcelona, España) [Guedes et al., 2004; Urbina et al., 2000] y ravuconazol [ER-30346; BMS 207,147, Eisai Chemical Company, Tsukuba, Japon] [Urbina et al., 2003a], tambien han demostrado ser tripanocidas, tanto in vitro como in vivo. TAK-187 es un triazol con largos tiempos de vida media en varios mamíferos y una actividad antimicótica de amplio espectro, que tiene una potente actividad anti- *T. cruzi* in vitro e, igual que el posaconazol, es capaz de curar infecciones agudas y crónicas en ratones, aun cuando la cepa infectante es refractaria al tratamiento con nifurtimox o benznidazol (Urbina et al., 2003b); en un trabajo muy reciente se demostró que este compuesto es significativamente superior al benznidazol en la prevención de daño cardiaco en un modelo murino de enfermedad de Chagas (Corrales et al., 2005a). UR-9825 es otro potente inhibidor de la C14 demetilasa de esteroides en hongos y protozoarios y tiene una notable actividad anti- *T. cruzi* in vitro (Urbina et al., 2000); aunque su corto tiempo de vida media (<0.5 h) en ratones no permitió evaluar su actividad en modelos murinos de la enfermedad, un estudio reciente en un modelo canino demostró que el compuesto puede curar infecciones establecidas de la virulenta cepa Y, sin aparente toxicidad a las dosis terapéuticas, aunque tambien se encontró resistencia natural a la droga con la cepa Berenice-78 (Guedes et al., 2004).

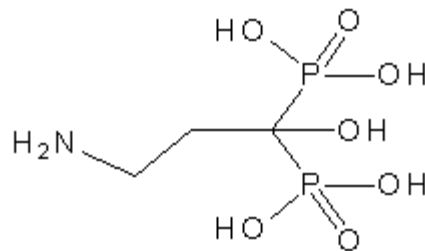
Finalmente, el ravuconazol es un triazol desarrollado originalmente por Eisai Company en Japon y luego por Bristol-Myers Squibb en los EUA, de nuevo como antimicótico sistémico, con una muy potente actividad anti- *T. cruzi* in vitro, pero su actividad in vivo en modelos murinos fue limitada debido a inadecuadas propiedades farmacocinéticas de la droga en ratones (Urbina et al., 2003a); sin embargo, tales resultados no niegan su potencial utilidad para el tratamiento de la enfermedad de Chagas humana pues la concentración mínima inhibitoria del crecimiento de los amastigotes intracelulares por este compuesto (1 nM) es 1.000 a 5.000 veces mas baja que los niveles obtenidos en plasma a dosis terapéuticas contra hongos en humanos y el tiempo de vida media es =120 h (Andes et al., 2003; Mikamo et al., 2002).

El desarrollo como antimicótico sistémico del compuesto ha sido ahora retomado por Eisai Company y se adelantan estudios en modelos caninos de enfermedad de Chagas, como un prelude para posibles pruebas clínicas en humanos (Bahia, M.T. y Urbina, J.A., en progreso). La mayoría de estos compuestos han completado sus estudios preclínicos como agentes anti- *T. cruzi* y la totalidad han completado estudios de farmacocinética y seguridad en humanos, como paso previo a su desarrollo clínico como antimicóticos.

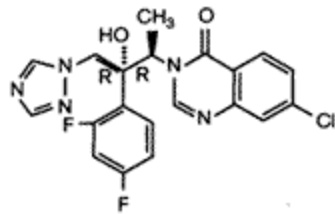
Así pues, dependiendo de la conclusión de acuerdos económicos y legales con las empresas que originalmente desarrollaron estos compuestos como antimicóticos, los nuevos triazoles podrían entrar en desarrollo clínico para el tratamiento de enfermedad de Chagas humana en el corto plazo (5 años).



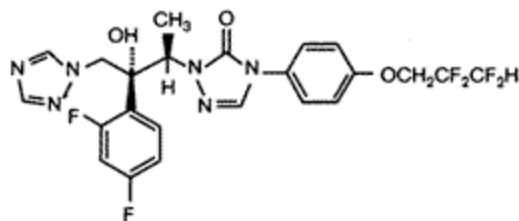
RISEDRONATE



PAMIDRONATE



UR-9625



TAK-187

Figura 1

Otro grupo prometedor de IBE son los inhibidores la escualeno sintetasa (SQS). SQS cataliza el primer paso específico para la síntesis de esteroides y ha sido el objeto de un gran número de estudios, tanto en el sector académico como en el industrial, como un potencial blanco de nuevos agentes hipocolesterolémicos, que tendrían significativas ventajas sobre las estatinas actualmente disponibles (Menys and Durrington, 2003; Tansey and Shechter, 2001).

Esta enzima ha sido recientemente validada químicamente con un blanco quimioterapéutico en *T. cruzi* y *Leishmania mexicana*, usando el inhibidor prototipo 3-(bifenil-4-yl)-3-hidroxyquinuclidine (BPQ-OH) (Urbina et al., 2002b).

Ulteriores estudios demostraron que los compuestos E5700 and ER-119884 (Fig. 2), dos nuevos derivados quinclidínicos inhibidores de SQS que están siendo desarrollados como agentes reductores de colesterol y triglicéridos en humanos por Eisai (Fig. 2), tienen muy potente y selectiva actividad anti- *T. cruzi* in vitro y uno de ellos (E5700), administrado por vía oral, fue capaz de inducir supresión completa de la parasitemia y conferir protección total contra la muerte en un modelo murino de enfermedad de Chagas fulminante (Urbina et al., 2004) ; este es el primer reporte de la actividad como anti-infectivo de un inhibidor de SQS suministrado oralmente.

Aunque estos compuestos y otras aril-quinclidinas son también inhibidores de la SQS de mamíferos (Ishihara et al., 2004; Urbina et al., 2004; Urbina et al., 2002b; Ward et al., 1996), su selectiva actividad antiparasítica in vitro e in vivo es probablemente explicada por la capacidad de las células hospederas de compensar por la reducción de la síntesis endógena de colesterol por vía de incrementar la expresión de los receptores de LDL de la membrana plasmática y tomar este esteroles del plasma sanguíneo o del medio de cultivo (Goldstein and Brown, 2001); en contraste, el parásito no puede compensar de manera análoga la inhibición de la síntesis de sus esteroides endógenos (ergosterol y análogos), pues no hay cantidades apreciables de los mismos en las células hospederas o el medio extracelular.

Sin embargo, el requerimiento de algunos órganos esenciales como las gónadas (en particular los testículos) de elevados niveles de síntesis endógena de colesterol para sostener la producción de hormonas sexuales requerida por organismos adultos plantea una limitación fundamental para el uso prolongado de inhibidores de SQS que actúen sobre la enzima del hospedero y sugiere que el uso de los mismos como anti-infectivos probablemente requerirá el desarrollo de compuestos selectivos para la SQS del patógeno.

En base a esas consideraciones, el desarrollo clínico de inhibidores de SQS para el tratamiento de la enfermedad de Chagas solo puede esperarse a mediano plazo (10 años).

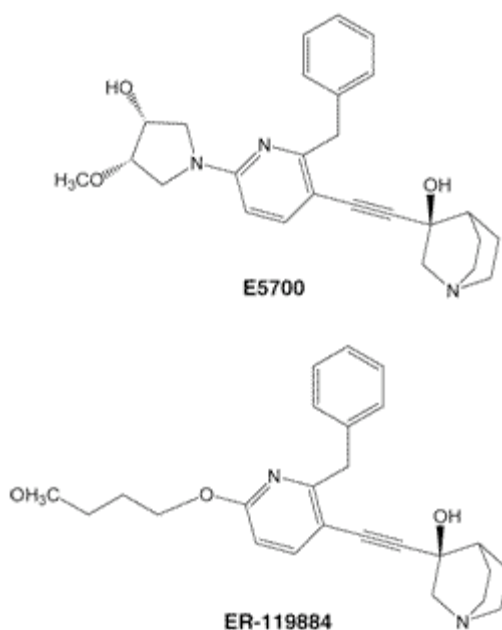


Figura 2

Otro desarrollo reciente de interés en esta área es la validación de la oxidoescualeno ciclasa (OSC ó lanosterol sintetasa) como un nuevo blanco terapéutico en *T. cruzi* y parásitos relacionados (Buckner et al., 2001; Buckner et al., 2000; Joubert et al., 2001). Buckner et al. (Buckner et al., 2001) han

demostrado que ciertos inhibidores de la OSC son potentes y selectivos agentes anti- *T. cruzi in vitro*. Aunque no se han publicado resultados in vivo en la literatura científica, una patente reciente de los mismos autores describe una serie de inhibidores de SQS como eficaces agentes para el tratamiento de enfermedades parasitarias, incluyendo la enfermedad de Chagas en varios modelos animales (U.S Patent WO0076316, ver ref. (Urbina, 2003)). Dado este limitado desarrollo pre-clínico, el desarrollo clínico de *inhibidores de OSC para el tratamiento de la enfermedad de Chagas solo puede esperarse a largo plazo (10 a 15 años)*.

Nuevos enfoques para el tratamientos etiológico de la enfermedad de Chagas

2. Inhibidores de cisteína-proteasas (cruzipaína)

T. cruzi contiene elevadas cantidades de una cisteína-proteasa análoga a la cathepsina L, que ha sido denominada cruzipaína (también conocida como gp51/57 o cruzaina, en su forma recombinante) que es responsable de la mayor parte de la actividad proteolítica de este parásito, en todos los estadios de su ciclo de vida (Caffrey et al., 2000; Cazzulo, 2002). Inhibidores selectivos de esta proteasa son capaces de bloquear la proliferación tanto de la forma extracelular (epimastigotes) como de los amastigotes intracelulares, así como de impedir la metacicloénesis (transformación de epimastigotes a tripomastigotes metacíclicos), lo que indica que la proteína tiene funciones esenciales en el ciclo de vida del parásito (Caffrey et al., 2000; Cazzulo, 2002).

El gen codificante para esta proteína (que presenta un elevado número de repeticiones en el genoma del parásito) ha sido clonado, secuenciado y expresado heterológamente. La estructura tridimensional de la proteína recombinante, en ausencia y presencia de inhibidores, ha sido determinada usando cristalografía de rayos-x (Fig.3) y a partir de la misma y de consideraciones sobre el mecanismo de la enzima se han diseñado inhibidores específicos, como la N-metil-piperazina-urea -F-hF-vinyl-sulfona-fenil, también conocida como CRA-3316 or K-777 (Fig. 4A).

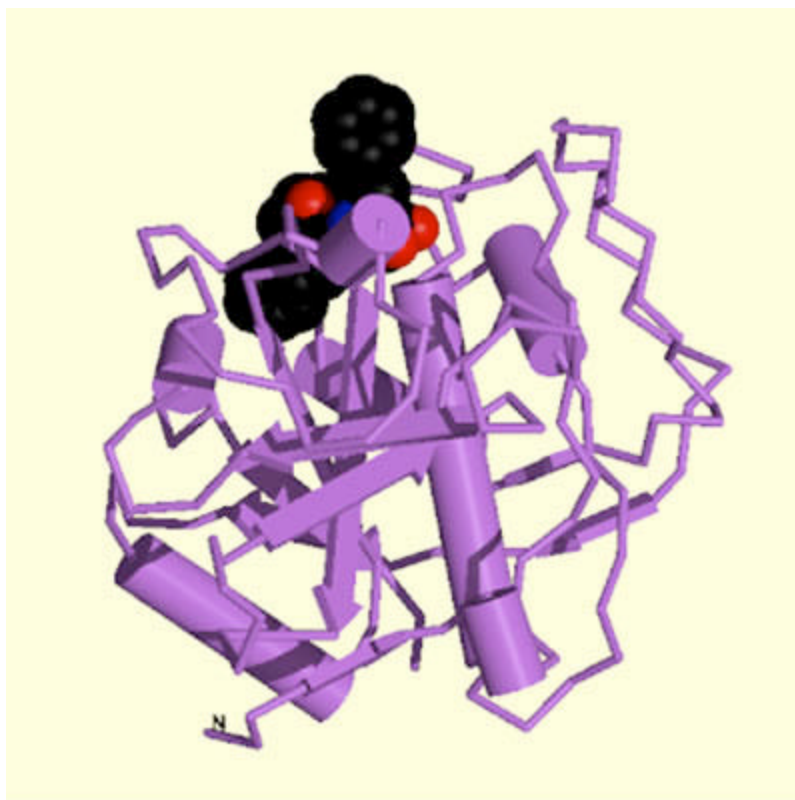


Figura 3

Este compuesto y análogos son capaces de reducir dramáticamente la parasitemia e incrementar la supervivencia en modelos murinos de enfermedad de Chagas, con mínima toxicidad, lo que indica su potente actividad in vivo (Engel et al., 1998). Sin embargo, no se han publicado hasta ahora reportes que

demuestren que este tipo de compuestos sean capaces de inducir cura parasitológica radical en modelos animales.

Una limitación de los compuestos hasta ahora reportados es su limitada biodisponibilidad oral y cortos tiempos de vida media. Recientemente se han descrito nuevos motivos estructurales para inhibidores de la cruzipaina, con potente y selectiva actividad anti- *T. cruzi* in vitro (Caffrey et al., 2002; Du et al., 2002): entre ellos se encuentran inhibidores no peptídicos de la enzima, basados en la estructura de la tio-semicarbazona (Fig. 4B), para los cuales se ha hecho un estudio detallado de correlación estructura-actividad, racionalizada en términos de la estructura y mecanismo de la enzima (Du et al., 2002).

Estos compuestos son activos contra la forma amastigote intracelular del *T. cruzi* a concentraciones nanomolares in vitro (Du et al., 2002) y su simplicidad y bajo costo de síntesis los hacen ideales como punto de partida para el desarrollo de nuevos agentes tripanocidas.

En conclusión, este conjunto de resultados indica que la cruzipaina es otro atractivo blanco quimioterapéutico rigurosamente validado en el *T. cruzi* y esta percepción es consistente con el reciente registro, por grupos independientes, de una serie de patentes de inhibidores de cruzipaina como potenciales agentes para el tratamiento de la enfermedad de Chagas (Urbina, 2003).

En 2002, la división farmacéutica de Celera Genomics, anuncio que el Institute for One World Health (California, EUA) y los Institutos Nacionales de Salud de los EUA habían iniciado el desarrollo del K-777 para el tratamiento etiológico de esta dolencia (http://www.celera.com/company/celeraPress_frameset.cfm?ppage=3E79F3CCE7DFDFDEF88256C1B005A99D3).

Sin embargo, en base a la información disponible en este momento en la literatura científica y de patentes sobre el grado de avance del desarrollo preclínico de estos compuestos, su desarrollo clínico para el tratamiento de la enfermedad de Chagas solo puede esperarse a mediano plazo (10 años).

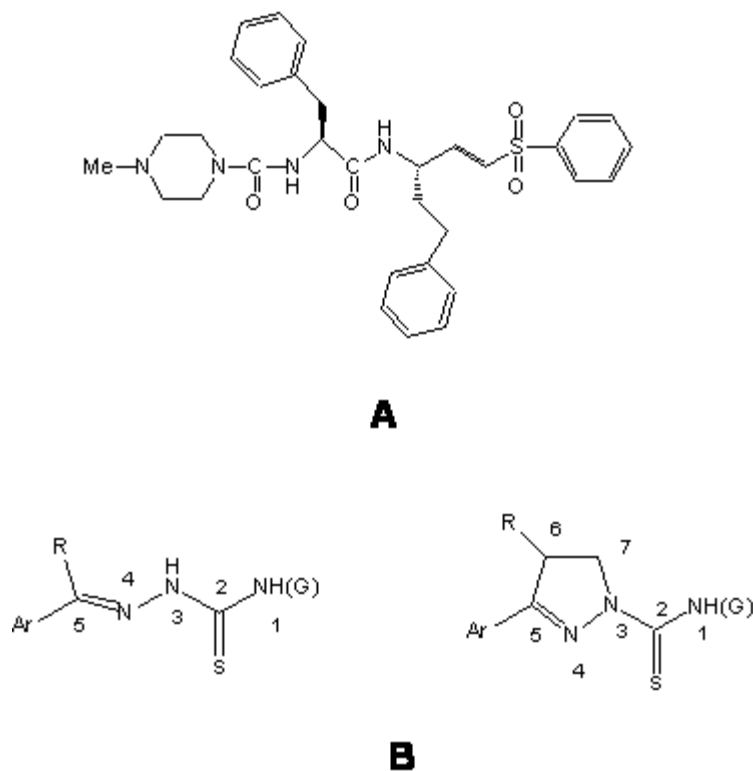


Figura 4

Nuevos enfoques para el tratamientos etiológico de la enfermedad de Chagas

3. Inhibidores del metabolismo del pirofosfato.

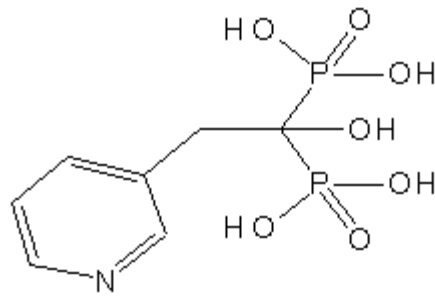
Los parásitos de Tripanosomatídeos, así como aquellos pertenecientes al orden Apicomplexa (*Toxoplasma*, *Plasmodium*) contienen organelas especializadas en el almacenamiento de calcio y polifosfatos, llamados acidocalcisomas, no presentes en la mayoría de las células de vertebrados (Docampo et al., 2005; Docampo and Moreno, 2001a). La toma y descarga de iones Ca^{2+} hacia y desde la matriz del acidocalcisoma es controlada por una serie de mecanismos, que incluyen una Ca^{2+} ATPasa, un intercambiador Na^+ / H^+ , bombas de protones energizadas por ATP y pirofosfato inorgánico (PPI), así como por pirofosfatasas (Docampo et al., 2005; Docampo and Moreno, 2001a).

Polifosfatos de cadena corta (principalmente el PPI y trifosfato inorgánico), están involucrados en la respuesta de este organismo a stress osmótico, así como en el mantenimiento del status energético del parásito (Docampo et al., 2005; Docampo and Moreno, 2001a). Los bisfosfonatos, análogos metabólicamente inertes del PPI, se acumulan selectivamente en *T. cruzi* y otros Tripanosomatídeos (probablemente por su afinidad por los acidocalcisomas) y pueden inhibir enzimas esenciales del parásito involucradas en el metabolismo de pirofosfato inorgánico y orgánico, como la farnesil-difosfato sintetasa (FPPS) (Martin et al., 1999; Montalvetti et al., 2001), SQS (Urbina et al., 2002a) or bombas de protones dependientes de PPI.

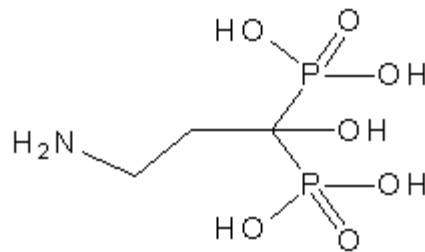
Así pues, se ha demostrado que los N-alkil-bisfosfonatos (Fig. 5), inhibidores específicos de la FPPS que son ampliamente usados actualmente en el manejo de problemas de resorción ósea como la osteoporosis y la enfermedad de Paget (Rodan and Martin, 2000), tienen también una potente y selectiva acción contra el *T. cruzi*, tanto *in vitro* como *in vivo* (Docampo and Moreno, 2001b; Garzoni et al., 2004a; Garzoni et al., 2004b) ; sin embargo, aunque se ha reportado que el pamidronato (Aredia®, Novartis) puede inducir cura parasitológica radical en un modelo murino de leishmaniasis cutánea (Rodríguez et al., 2002), no se reportaron curas parasitológicas completas en un estudio con risedronato (Actonel®, Procter & Gamble) en un modelo murino de enfermedad de Chagas aguda (Garzoni et al., 2004b), hecho probablemente debido al carácter diseminado de la infección, las propiedades farmacocinéticas del compuesto y el corto período de tratamiento usado (7 días).

Así pues, aunque los bisfosfonatos ya aprobados para uso en humanos (osteoporosis) son promisorios compuestos-guía para el desarrollo de nuevos antiparasitarios de amplio espectro su eventual desarrollo para esta nueva aplicación probablemente requiera nuevas formulaciones de los compuestos existentes (incluyendo pro-drogas), con propiedades farmacocinéticas más apropiadas, así como compuestos selectivos contra enzimas de los parásitos.

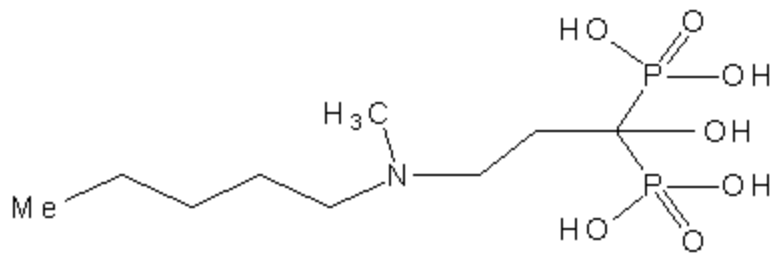
En base a esas consideraciones, el desarrollo clínico de los bisfosfonatos para el tratamiento de la enfermedad de Chagas solo puede esperarse a mediano plazo (10 años).



RISEDRONATE



PAMIDRONATE



IBANDRONATE

Figura 5

Nuevos enfoques para el tratamientos etiológico de la enfermedad de Chagas

4. Inhibidores de la síntesis y metabolismo del tripanotión.

Trabajo independiente de varios grupos ha identificado las enzimas involucradas en la síntesis y metabolismo redox del tripanotión (N 1, N 8 -bis(glutationil)-spermidina, Fig. 6) como potenciales blancos quimioterapéuticos en Tripanosomatídeos patógenos (Schmidt and Krauth-Siegel, 2002).

Esta ruta bioquímica es única de protozoarios del orden Kinetoplastida, en los cuales cumple funciones análogas a las del glutatión y la glutatión reductasa de otras células, en el mantenimiento del estado redox de los grupos tiol (Salmon-Chemin et al., 2001; Schmidt and Krauth-Siegel, 2002). Los genes de todas las enzimas de esta ruta bioquímica han sido clonados, expresados heterológamente y las estructuras tridimensionales de todas las enzimas determinadas por cristalografía de rayos-X (Fig.5).

Asimismo, varias enzimas de la ruta, incluyendo la tripanotión reductasa (TR) y la tripanotión sintetasa han sido validadas genéticamente como esenciales para estos parásitos (Schmidt and Krauth-Siegel,

2002). El diseño y prueba de inhibidores específicos de la TR esta en progreso y se han identificado varias familias de compuestos que son potentes inhibidores de la enzima pura y del crecimiento del *T. cruzi* in vitro (Gutierrez-Correa et al., 2001; Li et al., 2001; Rivarola and Paglini-Oliva, 2002; Salmon-Chemin et al., 2001), pero hay muy pocos estudios sobre la acción de tales compuestos como agentes anti-parasíticos in vivo. En uno de los pocos estudios publicados, se demostró que la tioridazina, un conocido inhibidor de la TR in vitro (Gutierrez-Correa et al., 2001), es capaz de reducir la parasitemia, incrementar la sobrevivencia y prevenir daño cardíaco en modelos murinos de enfermedad de Chagas aguda (Lo Presti et al., 2004; Rivarola et al., 1999), pero no se pudo obtener cura parasitológica de los animales y la selectividad de la acción del compuesto sobre la TR no esta demostrada.

Dado este limitado desarrollo pre-clínico, el desarrollo clínico de inhibidores de TR para el tratamiento de la enfermedad de Chagas solo puede esperarse a largo plazo (10 a 15 años).

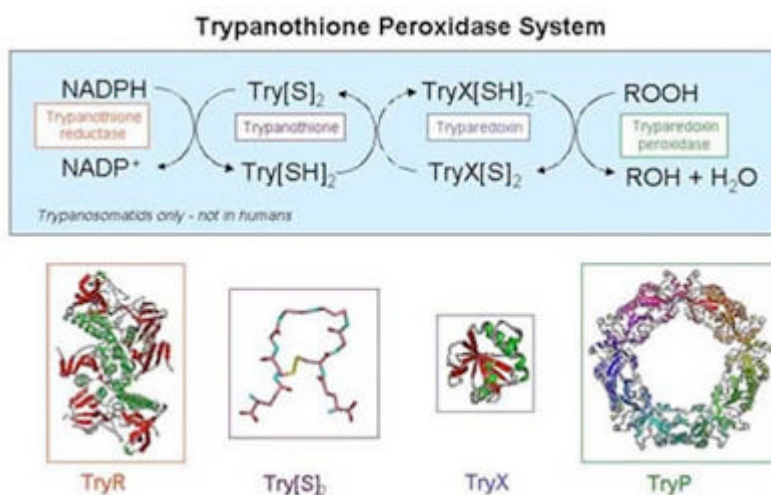


Figura 6

Nuevos enfoques para el tratamientos etiológico de la enfermedad de Chagas

5. Inhibidores de la captura de purinas

Los Tripanosomatideos parasitos son organismos absolutamente deficientes en la síntesis de novo de las purinas, por lo que deben obtener estos compuestos esenciales del hospedero o medios de cultivo. Una enzima esencial en este proceso es la hipoxantina-guanina fosforibosil transferasa (HGPRT), un blanco bioquímico validado es estos organismos (Stoppani, 1999).

El alopurinol (4-hidroxi-pyrazol-(3,4d)-pirimidina) ha sido usado por décadas en humanos para el tratamiento de la gota, pues es transformado en vertebrados al oxipurinol, que es potente inhibidor de la xantina oxidasa.

El Tripanosomatideos, que no tienen xantina oxidasa, el alopurinol actúa como un análogo de purinas y es incorporado, vía HGPRT, a los ácidos nucleicos, lo que conlleva a un bloqueo secuencial en la síntesis de ADN, ARN y proteínas (Stoppani, 1999). Se ha demostrado que este compuesto es un potente inhibidor del crecimiento de *T. cruzi* in vitro, pero in vivo se ha encontrado que hay fuertes diferencias en la susceptibilidad de diferentes cepas del parásito a la droga (Stoppani, 1999).

La eficacia del alopurinol en el tratamiento etiológico de la enfermedad de Chagas en humanos ha sido controversial. Estudios pioneros en Brasil reportaron que el compuesto era ineficaz aun en la fase aguda de la infección (Lauria-Pires et al., 1988), lo cual fue confirmado por un estudio multicéntrico en pacientes crónicos llevado a cabo durante 1992 en Argentina, Brasil y Bolivia bajo los auspicios de la Organización Mundial de la Salud, el cual fue interrumpido por la patente ineficacia terapéutica del compuesto (W.H.O., 1995).

De nuevo, los estudios de Apt y colaboradores en Chile reportan resultados discrepantes con los obtenidos en otras partes del continente: de acuerdo con estos autores el alopurinol, suministrado a 8.5 mg.Kg⁻¹ .day⁻¹ por 60 días a pacientes en fase crónica, aunque incapaz de inducir cura parasitológica, pudo prevenir (75% de los casos) o revertir (49% de los casos) el desarrollo de anomalías electrocardiográficas, luego de un seguimiento de 9 años (Apt et al., 1998; Apt et al., 2003).

Freymann y colaboradores (Freymann et al., 2000) found, usando la estructura cristalográfica de la HGPRT del *T. cruzi* en una conformación analoga a la del estado de transición de la reacción y un programa de reconocimiento molecular flexible, identificaron 22 compuestos in silico, 16 de los cuales demostraron ser potentes inhibidores de la HGPRT pura y 8 de ellos efectivos agentes antiproliferativos contra la forma amastigote intracelular del parásito, in vitro [Freymann et al., 2000]. No se ha reportado la actividad de esos compuestos in vivo.

Dado este limitado desarrollo pre-clínico, el desarrollo clínico de nuevos inhibidores de HGPRT para el tratamiento de la enfermedad de Chagas solo puede esperarse a largo plazo (10 a 15 años).

Conclusiones

En los últimos 25 años ha ocurrido un enorme avance en nuestro conocimiento de la bioquímica y biología celular del *T. cruzi* y organismos relacionados como el *Trypanosoma brucei* y varios miembros del género *Leishmania*, incluyendo el secuenciamiento del genoma completo de esos organismos, recientemente reportado (Berriman et al., 2005; El-Sayed et al., 2005a; El-Sayed et al., 2005b; Ivens et al., 2005); estos logros son productos principalmente del esfuerzo del sector académico, con financiamiento público. En principio pues, todos los posibles blancos quimioterapéuticos en tales parásitos ahora son accesibles, pero en el caso del *T. cruzi* la situación es más avanzada pues se han validado varios blancos químicamente, genéticamente o de ambas formas, siendo los mejor caracterizados la biosíntesis de ergosterol, cruzipaina y el metabolismo de pirofosfato y tripanotión. Aun así, las únicas drogas disponibles actualmente para los pacientes de enfermedad de Chagas siguen siendo las mismas disponibles desde los años 60 y 70 del siglo pasado, con sus bien conocidas limitaciones.

La razón de este lento desarrollo de los conocimientos básicos hacia productos farmacéuticos usables reside fundamentalmente en la falta de estímulos económicos para la industria farmacéutica dentro del modelo prevalente de desarrollo de drogas con fines de lucro y de la ausencia, hasta muy recientemente, de modelos alternativos para ese fin. El costo estimado actual para el desarrollo de una droga que alcance el mercado de los países desarrollados es del orden de 800 millones de \$ EUA (Preziosi, 2004) y refleja el elevado número de fracasos en el desarrollo de compuestos candidatos a drogas (particularmente en las pruebas clínicas), los elevados costos inherentes a los sistemas de salud de los países industrializados y la continua declinación de la productividad de esta industria, que ha bajado por más de un orden de magnitud en el último cuarto de siglo (Booth and Zimmel, 2004).

Para las enfermedades tropicales, que afligen a poblaciones humanas con muy bajos recursos económicos, los resultados de este modelo han sido catastróficos: apenas el 1% de las drogas registradas en ese mismo periodo fueron para el tratamiento de dolencias principalmente prevalentes en zonas tropicales (Pécoul et al., 2002; Trouiller et al., 2002; Trouiller et al., 2001) y 90% de la inversión en investigación y desarrollo en la industria se destina a productos farmacéuticos y cosméticos demandados por el 10% de la población mundial con recursos adecuados o abundantes, lo que es obviamente un fracaso, tanto de la economía de mercado como de las políticas públicas en los países endémicos (Pécoul et al., 2002; Trouiller et al., 2002; Trouiller et al., 2001).

Sin embargo, el costo del desarrollo de medicamentos en países en vías de desarrollo no tiene que ser tan elevado como en los países desarrollados y en reconocimiento de este hecho han surgido en años recientes varias iniciativas para el desarrollo de drogas sin fines de lucro, que reúnen los esfuerzos del sector público y el privado y entre las que se encuentran la Drug for Neglected Diseases initiative (DNDi,

www.dndi.org), Medicines for Malaria Venture (MMV, www.mmv.org) y el Institute for One World Health (IOWH, www.oneworldhealth.org), junto al programa de Investigación y Docencia en Enfermedades Tropicales (TDR) de la Organización Mundial de la Salud.

Estas iniciativas están desarrollando nuevos modelos para el desarrollo de drogas que se apoyan en el sector académico internacional, en alianzas estratégicas con el sector industrial público y privado y en los servicios de salud de los países endémicos, donde los costos de investigación y servicios son mucho más bajos (Morel et al., 2005). Tales iniciativas constituyen actualmente la más realista opción para atacar las enormes necesidades de medicamentos en los países en desarrollo.

* Esta conferencia es una versión revisada y actualizada de un documento de trabajo presentado en la reunión del Grupo Científico de Trabajo sobre Enfermedad de Chagas del Programa de Investigación y Docencia en Enfermedades Tropicales (TDR) de la Organización Mundial de la Salud/Oficina Panamericana de la Salud, que tuvo lugar en Buenos Aires, Argentina, entre el 17 y el 20 de Abril del 2005.

Bibliografía

- Andes, D., Marchillo, K., Stamstad, T., Conklin, R., 2003. In vivo pharmacodynamics of a new triazole, ravuconazole, in a murine candidiasis model. *Antimicrob Agents Chemother* 47(4),1193-1199.
- Andrade, S.G., Rassi, A., Magalhães, J.B., Ferrioli Filho, F., Luquetti, A.O., 1992. Specific chemotherapy of Chagas' disease: a comparison between the response in patients and experimental animals infected with the same strains. *Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg.* 86,624-626.
- Añez, N., Carrasco, H., Parada, H., Crisante, G., Rojas, A., Fuenmayor, C., Gonzalez, N., Percoco, G., Borges, R., Guevara, P., Ramirez, J.L., 1999. Myocardial parasite persistence in chronic chagasic patients. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 60,726-732.
- Apt, W., Aguilera, X., Arribada, A., Pérez, C., Miranda, C., Sánchez, G., Zulantay, I., Cortés, P., Rodriguez, J., Juri, D., 1998. Treatment of chronic Chagas' disease with itraconazole and allopurinol. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 59,133-138.
- Apt, W., Arribada, A., Zulantay, I., Sanchez, G., Vargas, S.L., Rodriguez, J., 2003. Itraconazole or allopurinol in the treatment of chronic American trypanosomiasis: the regression and prevention of electrocardiographic abnormalities during 9 years of follow-up. *Ann Trop Med Parasitol* 97(1),23-29.
- Bahia-Oliveira, L.M.G., Gomes, J.A.S., Cançado, J.R., Ferrari, T.C., Lemos, E.M., Luz, Z.M.P., Moreira, M.C., Gazzinelli, G., Correa-Oliveira, R., 2000. Immunological and clinical evaluation of chagasic patients subjected to chemotherapy during the acute phase of *Trypanosoma cruzi* infection 14-30 years ago. *J.Infect.Dis.* 182,634-638.
- Berriman, M., Ghedin, E., Hertz-Fowler, C., Blandin, G., Renauld, H., Bartholomeu, D.C., Lennard, N.J., Caler, E., Hamlin, N.E., Haas, B., Bohme, U., Hannick, L., Aslett, M.A., Shallom, J., Marcello, L., Hou, L., Wickstead, B., Alsmark, U.C., Arrowsmith, C., Atkin, R.J., Barron, A.J., Bringaud, F., Brooks, K., Carrington, M., Cherevach, I., Chillingworth, T.J., Churcher, C., Clark, L.N., Corton, C.H., Cronin, A., Davies, R.M., Doggett, J., Djikeng, A., Feldblyum, T., Field, M.C., Fraser, A., Goodhead, I., Hance, Z., Harper, D., Harris, B.R., Hauser, H., Hostetler, J., Ivens, A., Jagels, K., Johnson, D., Johnson, J., Jones, K., Kerhornou, A.X., Koo, H., Larke, N., Landfear, S., Larkin, C., Leech, V., Line, A., Lord, A., Macleod, A., Mooney, P.J., Moule, S., Martin, D.M., Morgan, G.W., Mungall, K., Norbertczak, H., Ormond, D., Pai, G., Peacock, C.S., Peterson, J., Quail, M.A., Rabinowitsch, E., Rajandream, M.A., Reitter, C., Salzberg, S.L., Sanders, M., Schobel, S., Sharp, S., Simmonds, M., Simpson, A.J., Tallon, L., Turner, C.M., Tait, A., Tivey, A.R., Van Aken, S., Walker, D., Wanless, D., Wang, S., White, B., White, O., Whitehead, S., Woodward, J., Wortman, J., Adams, M.D., Embley, T.M., Gull, K., Ullu, E., Barry, J.D., Fairlamb, A.H., Opperdoes, F., Barrell, B.G., Donelson, J.E., Hall, N., Fraser, C.M., Melville, S.E., El-Sayed, N.M., 2005. The Genome of the African Trypanosome *Trypanosoma brucei*. *Science* 309(5733),416-422.
- Booth, B., Zimmel, R., 2004. Prospects for productivity. *Nat Rev Drug Discov* 3(5),451-456.
- Braga, M.S., Lauria-Pires, L., Argañaraz, E.R., Nascimento, R.J., Teixeira, A.R.L., 2000. Persistent infections in chronic Chagas disease patients treated with anti-*Trypanosoma cruzi* nitroderivatives. *Rev.Inst.Med.Trop.Sao Paulo* 42,157-161.
- Brener, Z., Gazzinelli, R.T., 1997. Immunological control of *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas' disease. *Int.Arch.Allergy Immunol.* 114,103-110.
- Britto, C., Silveira, C., Cardoso, M.A., Marques, P., Luquetti, A., Macedo, V., Fernandes, O., 2001. Parasite persistence in treated chagasic patients revealed by xenodiagnosis and polymerase chain reaction. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz* 96,823-826.
- Buckner, F.S., Griffin, J.H., Wilson, A.J., Van Voorhis, W.C., 2001. Potent anti-*Trypanosoma cruzi* activities of oxidosqualene cyclase inhibitors. *Antimicrob.Agents Chemother.* 45,1210-1215.

- Buckner, F.S., Nguyen, L.N., Joubert, B.M., Matsuda, S.P., 2000. Cloning and expression of the *Trypanosoma brucei* lanosterol synthase gene. *Mol.Biochem.Parasitol.* 110,399-403.
- Caffrey, C.R., Schanz, M., Nkemgu-Njinkeng, J., Brush, M., Hansell, E., Cohen, F.E., Flaherty, T.M., McKerrow, J.H., Steverding, D., 2002. Screening of acyl hydrazide proteinase inhibitors for antiparasitic activity against *Trypanosoma brucei*. *Intern.J.Antimicrob.Agents* 19,227-231.
- Caffrey, C.R., Scory, S., Steverding, D., 2000. Cysteine proteinases of *trypanosoma* parasites: novel targets for chemotherapy. *Curr.Drug Targets* 1,155-162.
- Cançado, J.R., 1999. Criteria of Chagas disease cure. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz* 94 (Sup.1),331-336.
- Cazzulo, J.J., 2002. Proteinases of *Trypanosoma cruzi*: potential targets for the chemotherapy of Chagas disease. *Curr Top Med Chem* 2(11),1261-1271.
- Corrales, M., Cardozo, R., Segura, M.A., Urbina, J.A., Basombrio, M.A., 2005a. Comparative efficacies of TAK-187, a long-lasting ergosterol biosynthesis inhibitor, and benznidazole in preventing cardiac damage in a murine model of Chagas' disease. *Antimicrob Agents Chemother* 49(4),1556-1560.
- Corrales, M., Cardozo, R., Segura, M.A., Urbina, J.A., Basombrio, M.A., 2005b. Efficacy of TAK-187, a long lasting ergosterol biosynthesis inhibitor, in preventing cardiac damage in a murine model of Chagas disease. A comparative study with benznidazole. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* in press.
- Cunha-Neto, E., Duranti, M., Gruber, A., Zingales, B., De Messias, I., Stolf, N., Bellotti, G., Patarroyo, M.E., Kalil, J., 1995. Autoimmunity in Chagas disease cardiopathy: Biological relevance of a cardiac myosin-specific epitope crossreactive to an immunodominant *Trypanosoma cruzi* antigen. *Proc.Natl.Acad.Sci.(U.S.A.)* 92,3541-3545.
- de Andrade, A.L.S., Zicker, F., Oliveira, R.M., Silva, S.A., Luquetti, A., Travassos, L.R., Almeida, I.C., de Andrade, S.S.S., Andrade, J.G., Martelli, C.M.T., 1996. Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *Lancet* 348,1407-1413.
- de Andrade, A.L.S., Zicker, F., Rassi, A., Rassi, A.G., Oliveira, R.M., Silva, S.A., de Andrade, S.S.S., Martelli, C.M.T., 1998. Early electrocardiographic abnormalities in *Trypanosoma cruzi*-seropositive children. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 59,530-534.
- Docampo, R., 1990. Sensitivity of Parasites to Free Radical Damage by Antiparasitic Drugs. *Chem. - Biol.Interactions* 73,1-27.
- Docampo, R., de Souza, W., Miranda, K., Rohloff, P., Moreno, S.N., 2005. Acidocalcisomes - conserved from bacteria to man. *Nat Rev Microbiol* 3(3),251-261.
- Docampo, R., Moreno, S.N.J., 2001a. The acidocalcisome. *Mol.Biochem.Parasitol.* 33,151-159.
- Docampo, R., Moreno, S.N.J., 2001b. Bisphosphonates as chemotherapeutic agents against Trypanosomatid and Apicomplexan parasites. *Curr.Drug Targets -Infec.Disord.* 1,51-61.
- Du, X., Guo, C., Hansell, E., Doyle, P.S., Caffrey, C.R., Holler, T.P., McKerrow, J.H., Cohen, F.E., 2002. Synthesis and structure-activity relationship study of potent trypanocidal thiosemicarbazone inhibitors of the trypanosomal cysteine protease cruzain. *J.Med.Chem.* 45,2695-2707.
- El-Sayed, N.M., Myler, P.J., Bartholomeu, D.C., Nilsson, D., Aggarwal, G., Tran, A.N., Ghedin, E., Worthey, E.A., Delcher, A.L., Blandin, G., Westenberger, S.J., Caler, E., Cerqueira, G.C., Branche, C., Haas, B., Anupama, A., Arner, E., Aslund, L., Attipoe, P., Bontempi, E., Bringaud, F., Burton, P., Cadag, E., Campbell, D.A., Carrington, M., Crabtree, J., Darban, H., da Silveira, J.F., de Jong, P., Edwards, K., Englund, P.T., Fazelina, G., Feldblyum, T., Ferella, M., Frasch, A.C., Gull, K., Horn, D., Hou, L., Huang, Y., Kindlund, E., Klingbeil, M., Kluge, S., Koo, H., Lacerda, D., Levin, M.J., Lorenzi, H., Louie, T., Machado, C.R., McCulloch, R., McKenna, A., Mizuno, Y., Mottram, J.C., Nelson, S., Ochaya, S., Osoegawa, K., Pai, G., Parsons, M., Pentony, M., Pettersson, U., Pop, M., Ramirez, J.L., Rinta, J., Robertson, L., Salzberg, S.L., Sanchez, D.O., Seyler, A., Sharma, R., Shetty, J., Simpson, A.J., Sisk, E., Tammi, M.T., Tarleton, R., Teixeira, S., Van Aken, S., Vogt, C., Ward, P.N., Wickstead, B., Wortman, J., White, O., Fraser, C.M., Stuart, K.D., Andersson, B., 2005a. The Genome Sequence of *Trypanosoma cruzi*, Etiologic Agent of Chagas Disease. *Science* 309 (5733),409-415.
- El-Sayed, N.M., Myler, P.J., Blandin, G., Berriman, M., Crabtree, J., Aggarwal, G., Caler, E., Renault, H., Worthey, E.A., Hertz-Fowler, C., Ghedin, E., Peacock, C., Bartholomeu, D.C., Haas, B.J., Tran, A.N., Wortman, J.R., Alsmark, U.C., Angiuoli, S., Anupama, A., Badger, J., Bringaud, F., Cadag, E., Carlton, J.M., Cerqueira, G.C., Creasy, T., Delcher, A.L., Djikeng, A., Embley, T.M., Hauser, C., Ivens, A.C., Kummerfeld, S.K., Pereira-Leal, J.B., Nilsson, D., Peterson, J., Salzberg, S.L., Shallom, J., Silva, J.C., Sundaram, J., Westenberger, S., White, O., Melville, S.E., Donelson, J.E., Andersson, B., Stuart, K.D., Hall, N., 2005b. Comparative genomics of trypanosomatid parasitic protozoa. *Science* 309(5733),404-409.
- Engel, J.C., Doyle, P.S., Hsieh, I., McKerrow, J.H., 1998. Cysteine protease inhibitors cure experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *J.Exp.Med.* 188,725-734.
- Engman, D.M., Leon, J.S., 2002. Pathogenesis of Chagas heart disease: role of autoimmunity. *Acta Tropica* 81,123-132.
- Freymann, D.M., Wenck, M.A., Engel, J.C., Feng, J., Focia, P.J., Eakin, A.E., Craig, S.P., 2000. Efficient incorporation of inhibitors targeting the closed active site conformation of HPRT from *Trypanosoma cruzi*. *Chem.Biol.* 7,957-968.
- Garcia, S., Ramos, C.O., Senra, J.F., Vilas-Boas, F., Rodrigues, M.M., Campos-de-Carvalho, A.C., Ribeiro-Dos-Santos, R., Soares, M.B., 2005. Treatment with benznidazole during the chronic phase of experimental Chagas' disease decreases cardiac alterations. *Antimicrob Agents Chemother* 49(4),1521-1528.
- Garzoni, L.R., Caldera, A., Meirelles, M.N.L., de Castro, S.L., Docampo, R., Meints, G.A., Oldfield, E., Urbina, J.A., 2004a. Selective in vitro effects of the farnesyl pyrophosphate synthase inhibitor risedronate on *Trypanosoma cruzi*. *Intern.J.Antimicrob.Agents* 23,273-285.
- Garzoni, L.R., Waghabi, M.C., Baptista, M.M., de Castro, S.L., Meirelles, M.N.L., Britto, C., Docampo, R.,

- Oldfield, E., Urbina, J.A., 2004b. Antiparasitic activity of risnedronate in a murine model of acute Chagas' disease. *Intern.J.Antimicrob.Agents* 23,286-290.
- Goldstein, J.L., Brown, M.S., 2001. The Cholesterol Quartet. *Science* 292,1310-1312.
 - Guedes, P.M., Urbina, J.A., de Lana, M., Afonso, L.C., Veloso, V.M., Tafuri, W.L., Machado-Coelho, G.L., Chiari, E., Bahia, M.T., 2004. Activity of the new triazole derivative albaconazole against *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* in dog hosts. *Antimicrob Agents Chemother* 48(11),4286-4292.
 - Gutierrez-Correa, J., Fairlamb, A.H., Stoppani, A.O., 2001. *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase is inactivated by peroxidase-generated phenothiazine cationic radicals. *Free Radic Res* 34(4),363-378.
 - Ishihara, T., Kakuta, H., Moritani, H., Ugawa, T., Yanagisawa, I., 2004. Synthesis and Biological Evaluation of Quinuclidine Derivatives Incorporating Phenothiazine Moieties as Squalene Synthase Inhibitors. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 52(10),1204-1209.
 - Ivens, A.C., Peacock, C.S., Worthey, E.A., Murphy, L., Aggarwal, G., Berriman, M., Sisk, E., Rajandream, M.A., Adlem, E., Aert, R., Anupama, A., Apostolou, Z., Attipoe, P., Bason, N., Bauser, C., Beck, A., Beverley, S.M., Bianchetti, G., Borzym, K., Bothe, G., Bruschi, C.V., Collins, M., Cadag, E., Ciarloni, L., Clayton, C., Coulson, R.M., Cronin, A., Cruz, A.K., Davies, R.M., De Gaudenzi, J., Dobson, D.E., Duesterhoeft, A., Fazelina, G., Fosker, N., Frasch, A.C., Fraser, A., Fuchs, M., Gabel, C., Goble, A., Goffeau, A., Harris, D., Hertz-Fowler, C., Hilbert, H., Horn, D., Huang, Y., Klages, S., Knights, A., Kube, M., Larke, N., Litvin, L., Lord, A., Louie, T., Marra, M., Masuy, D., Matthews, K., Michaeli, S., Mottram, J.C., Muller-Auer, S., Munden, H., Nelson, S., Norbertczak, H., Oliver, K., O'Neil, S., Pentony, M., Pohl, T.M., Price, C., Purnelle, B., Quail, M.A., Rabbinowitsch, E., Reinhardt, R., Rieger, M., Rinta, J., Robben, J., Robertson, L., Ruiz, J.C., Rutter, S., Saunders, D., Schafer, M., Schein, J., Schwartz, D.C., Seeger, K., Seyler, A., Sharp, S., Shin, H., Sivam, D., Squares, R., Squares, S., Tosato, V., Vogt, C., Volckaert, G., Wambutt, R., Warren, T., Wedler, H., Woodward, J., Zhou, S., Zimmermann, W., Smith, D.F., Blackwell, J.M., Stuart, K.D., Barrell, B., Myler, P.J., 2005. The Genome of the Kinetoplastid Parasite, *Leishmania major*. *Science* 309(5733),436-442.
 - Joubert, B.M., Buckner, F.S., Matsuda, S.P., 2001. Trypanosome and animal lanosterol synthases use different catalytic motifs. *Org.Lett.* 14,1957-1960.
 - Kalil, J., Cunha-Neto, E., 1996. Autoimmunity in Chagas Disease Cardiomyopathy: Fulfilling the Criteria at Last? *Parasitol.Today* 12,396-399.
 - Lauria-Pires, L., Braga, M.S., Vexenat, A.C., Nitz, N., Simoes-Barbosa, A., Tinoco, D.L., Teixeira, A.R.L., 2000. Progressive chronic Chagas disease ten years after treatment with anti-*Trypanosoma cruzi* nitroderivatives. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 63,111-118.
 - Lauria-Pires, L., de Castro, C.N., Emanuel, A., Prata, A., 1988. Ineffectiveness of allopurinol in patients in the acute phase Chagas of Chagas disease. *Rev.Soc.Bras.Med.Trop.* 21,79-70.
 - Leon, J.S., Engman, D.M., 2003. The significance of autoimmunity in the pathogenesis of Chagas heart disease. *Front Biosci* 8,e315-322.
 - Li, Z., Fennie, M.W., Ganem, B., Hancock, M.T., Kobaslija, M., Rattendi, D., Bacchi, C.J., O'sullivan, M.C., 2001. Polyamines with N-(3-phenylpropyl) substituents are effective competitive inhibitors of trypanothione reductase and trypanocidal agents. *Bioorg.Med.Chem.Lett.* 11,251-254.
 - Lo Presti, M.S., Rivarola, H.W., Bustamante, J.M., Fernandez, A.R., Enders, J.E., Fretes, R., Gea, S., Paglini-Oliva, P.A., 2004. Thioridazine treatment prevents cardiopathy in *Trypanosoma cruzi* infected mice. *Int J Antimicrob Agents* 23(6),634-636.
 - Luquetti, A.O., 1997. Etiological treatment of Chagas disease. The National Health Foundation of Brazil. *Parasitol.Today* 13,127-128.
 - Martin, M.B., Arnold, W., Heath III, H.T., Urbina, J.A., Oldfield, E., 1999. Nitrogen-containing Bisphosphonates as Carbocation Transition State Analogs for Isoprenoid Biosynthesis. *Biochem.Biophys.Res.Comm.* 263,754-758.
 - Menys, V.C., Durrington, P.N., 2003. Squalene synthase inhibitors. *Br J Pharmacol* 139(5),881-882.
 - Mikamo, H., Yin, X.H., Hayasaki, Y., Shimamura, Y., Uesugi, K., Fukayama, N., Satoh, M., Tamaya, T., 2002. Penetration of ravuconazole, a new triazole antifungal, into rat tissues. *Chemotherapy* 48(1),7-9.
 - Montalvetti, A., Bailey, B.N., Martin, M.B., Severin, G.W., Oldfield, E., Docampo, R., 2001. Bisphosphonates are potent inhibitors of *Trypanosoma cruzi* farnesyl pyrophosphate synthase. *J.Biol.Chem.* 276,33930-33937.
 - Morel, C.M., Acharya, T., Broun, D., Dangi, A., Elias, C., Ganguly, N.K., Gardner, C.A., Gupta, R.K., Haycock, J., Heher, A.D., Hotez, P.J., Kettler, H.E., Keusch, G.T., Krattiger, A.F., Kreutz, F.T., Lall, S., Lee, K., Mahoney, R., Martinez-Palomo, A., Mashelkar, R.A., Matlin, S.A., Mzimba, M., Oehler, J., Ridley, R.G., Senanayake, P., Singer, P., Yun, M., 2005. Health innovation networks to help developing countries address neglected diseases. *Science* 309(5733),401-404.
 - Negroni, R., Helou, S.H., Petri, N., Robles, A.M., Arechavala, A., Bianchi, M.H., 2004. Case study: posaconazole treatment of disseminated phaeohyphomycosis due to *Exophiala spinifera*. *Clin Infect Dis* 38(3),e15-20.
 - Pécoul, B., Chirac, P., Trouiller, P., Pinel, J., 2002. Access to essential drugs in poor countries. A lost battle? *JAMA* 281,361-367.
 - Preziosi, P., 2004. Science, pharmacoeconomics and ethics in drug R&D: a sustainable future scenario? *Nat Rev Drug Discov* 3(6),521-526.
 - Rivarola, H.W., Fernandez, A.R., Enders, J.E., Fretes, R., Gea, S., Suligoy, M., Palma, J.A., Paglini-Oliva, P., 1999. Thioridazine treatment modifies the evolution of *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *Ann Trop Med Parasitol* 93(7),695-702.
 - Rivarola, H.W., Paglini-Oliva, P.A., 2002. *Trypanosoma cruzi* trypanothione reductase inhibitors: phenothiazines and related compounds modify experimental Chagas' disease evolution. *Curr Drug Targets*

Cardiovasc Haematol Disord 2(1),43-52.

- Rodan, G.A., Martin, T.J., 2000. Therapeutic approaches to bone diseases. *Science* 289,1508-1514.
- Rodriguez, N., Bailey, B.N., Martin, M.B., Oldfield, E., Urbina, J.A., Docampo, R., 2002. Radical cure of experimental cutaneous leishmaniasis by the bisphosphonate pamidronate. *J.Infect.Dis.* 186,138-140.
- Salmon-Chemin, L., Buisine, E., Yardley, V., Kohler, S., Debreu, M.A., Landry, V., Sergheraert, C., Croft, S.L., Krauth-Siegel, R.L., Davioud-Chervet, E., 2001. 2- and 3-substituted 1,4-naphthoquinone derivatives as subversive substrates of trypanothione reductase and lipoamide dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*: synthesis and correlation between redox cycling activities and in vitro cytotoxicity. *J.Med.Chem.* 44,548-565.
- Schmidt, A., Krauth-Siegel, R.L., 2002. Enzymes of the trypanothione metabolism as targets for antitrypanosomal drug development. *Curr.Top.Med.Chem.* 2,1239-1259.
- Silveira, C.A.N., Castillo, E., Castro, C., 2000. Avaliação do tratamento específico para o *Trypanosoma cruzi* em crianças, na evolução da fase indeterminada. *Rev.Soc.Bras.Med.Trop.* 33,191-196.
- Solari, A., Ortiz, S., Soto, A., Arancibia, C., Campillay, R., Contreras, M., Salinas, P., Rojas, A., Schenone, H., 2001. Treatment of *Trypanosoma cruzi*-infected children with nifurtimox: a 3-year follow-up study. *J.Antimicrob.Chemother.* 48,515-519.
- Sosa Estani, S., Segura, E.L., 1999. Treatment of *Trypanosoma cruzi* infection in the undetermined phase. Experience and current guidelines in Argentina. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz* 94 (Sup.1),363-365.
- Sosa Estani, S., Segura, E.L., Ruiz, A.M., Velazquez, E., Porcel, B.M., Yampotis, C., 1998. Efficacy of chemotherapy with benznidazole in children in the indeterminate phase of Chagas disease. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 59,526-529.
- Stoppani, A.O.M., 1999. Quimioterapia de la Enfermedad de Chagas. *Medicina* 59 (Supl II),147-165.
- Tansey, T.R., Shechter, I., 2001. Squalene synthase: structure and regulation. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 65,157-195.
- Tarleton, R.L., 2001. Parasite persistence in the aetiology of Chagas disease. *Int.J.Parasitol.* 31,550-554.
- Tarleton, R.L., Zhang, L., 1999. Chagas disease ethiology: Autoimmunity or parasite persistence? *Parasitol.Today* 15,94-99.
- Trouiller, P., Olliaro, P., Torreele, E., Orbinski, J., Laing, R., Ford, N., 2002. Drug development for neglected diseases: a deficient market and a public-health policy failure. *Lancet* 359(9324),2188-2194.
- Trouiller, P., Torreele, E., Olliaro, P., White, N., Foster, S., Wirth, D., Pecoul, B., 2001. Drugs for neglected diseases: a failure of the market and a public health failure? *Trop Med Int Health* 6(11),945-951.
- Urbina, J.A., 1999a. Chemotherapy of Chagas' Disease: The How and The Why. *J.Mol.Med.* 77,332-338.
- Urbina, J.A., 1999b. Parasitological Cure of Chagas Disease: Is it Possible?, Is it Relevant? *Mem.Inst.Oswaldo Cruz* 94, Sup.1,349-355.
- Urbina, J.A., 2002. Chemotherapy of Chagas Disease. *Curr.Pharm.Design* 8,287-295.
- Urbina, J.A., 2003. New chemotherapeutic approaches for the treatment of Chagas disease (American Trypanosomiasis). *Expert Op.Ther.Pat* 13,661-669.
- Urbina, J.A., Concepcion, J.L., Caldera, A., Lira, R., Payares, G., Sanoja, C., 2002a. In Vitro and In Vivo Activities of ER-27856, a Novel Squalene Synthase Inhibitor, Against *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease. *ICAAAC Abstracts* 42, LB-25-20.
- Urbina, J.A., Concepcion, J.L., Caldera, A., Payares, G., Sanoja, C., Otomo, T., Hiyoshi, H., 2004. In vitro and in vivo activities of E5700 and ER-119884, two novel orally active squalene synthase inhibitors, against *Trypanosoma cruzi*. *Antimicrob Agents Chemother* 48(7),2379-2387.
- Urbina, J.A., Concepcion, J.L., Rangel, S., Visbal, G., Lira, R., 2002b. Squalene synthase as a chemotherapeutic target in *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania mexicana*. *Mol.Biochem.Parasitol.* 125,35-45.
- Urbina, J.A., Docampo, R., 2003. Specific Chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends in Parasitology* 19(11),495-501.
- Urbina, J.A., Lira, R., Visbal, G., Bartrolí, J., 2000. In Vitro Antiproliferative Effects and Mechanism of Action of the New Triazole Derivative UR-9825 Against the Protozoan Parasite *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. *Antimicrob.Agents Chemother.* 44,2498-2502.
- Urbina, J.A., Payares, G., Molina, J., Sanoja, C., Liendo, A., Lazardí, K., Piras, M.M., Piras, R., Perez, N., Wincker, P., Ryley, J.F., 1996. Cure of Short- and Long-Term Experimental Chagas Disease using D0870. *Science* 273,969-971.
- Urbina, J.A., Payares, G., Sanoja, C., Lira, R., Romanha, A.J., 2003a. In vitro and in vivo activities of ravuconazole on *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease. *Intern.J.Antimicrob.Agents* 21,27-38.
- Urbina, J.A., Payares, G., Sanoja, C., Molina, J., Lira, R., Brener, Z., Romanha, A.J., 2003b. Parasitological cure of acute and chronic experimental Chagas disease using the long-acting experimental triazole TAK-187. Activity against drug-resistant *Trypanosoma cruzi* strains. *Intern.J.Antimicrob.Agents* 21,39-48.
- Viotti, R., Vigliano, C., Armenti, H., Segura, E., 1994. Treatment of chronic Chagas' disease with benznidazole: Clinical and serologic evolution of patients with long-term follow-up. *Am.Heart J.* 127,151-162.
- W.H.O., 1995. Tropical Disease Research
- Twelfth Programme Report, UNDP/World Bank/World Health Organization Programme for Research and Training in Tropical Diseases. 0 ed. p 129-133.
- W.H.O., 2002. Control of Chagas Disease. Technical Reports Series 905,1-109.
- Ward, W.H.J., Holdgate, G.A., Freeman, S., McTaggart, F., Girdwood, P.A., Davidson, R.G., Mallion, K.B., Brown, G.R., Eakin, M.A., 1996. Inhibition of squalene synthase in vitro by 3-(biphenyl-4-yl)-quinuclidine. *Biochem.Pharmacol.* 51,1489-1501.

Publicación: Septiembre 2005

[Tope](#)

Preguntas, aportes y comentarios serán respondidos por el relator o por expertos en el tema a través de la lista de Enfermedad de Chagas
Llene los campos del formulario y oprima el botón "Enviar"

Preguntas, aportes o comentarios:

Nombre y apellido:

País:

Dirección de E-Mail:

Dr. Diego Esandi
Co-Presidente
Comité Científico
[Correo electrónico](#)

Dra. Silvia Nanfara
Co-Presidente
Comité Científico
[Correo electrónico](#)

Prof. Dr. Armando Pacher
Presidente
Comité Técnico/Organizador
[Correo electrónico](#)

©1994-2005  **CETIFAC** - **Bioingeniería UNER**

Webmaster Actualización: 19-sep-05