

Modelado Matemático de la Interacción Parásito-Sistema Inmune Durante la Enfermedad de Chagas

Shirlene Vega Royero

Director: Dr. Gustavo Sibona

Grupo de la Teoría Condensada
Facultad de Matemática Astronomía y Física
Universidad Nacional de Córdoba



Modelado Matemático de la Interacción Parásito-Sistema Inmune Durante la Enfermedad de Chagas por Shirlene Vega se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional.

Modelado Matemático de la Interacción Parásito-Sistema Inmune Durante la Enfermedad de Chagas

Shirlene Vega Royero

Presentado ante la Facultad de Matemática,
Astronomía y Física como parte de los requerimientos
para la obtención del grado de Doctor en Física de la
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

Grupo de la Teoría Condensada
Facultad de Matemática Astronomía y Física
Universidad Nacional de Córdoba

*Dedicado a mi madre Leticia Royero,
y mi abuela Elia Sinning,
mis amores*

*No importa que tan inteligente seas,
ni que tan hermosa sea tu teoría.
Si tu teoría no concuerda con el experimento,
no importa, es incorrecta.*

Richard Feynman

Agradecimientos

Son muchos los que me ayudaron a la culminación de este proyecto, y por tanto debo agradecer a:

A las instituciones: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Facultad de Matemática, Astronomía y Física (FAMAF-UNC).

Al Dr. Gustavo Sibona por aceptarme como su pupila, por su paciencia y dedicación a lo largo de estos últimos cinco años.

Al Dr. Carlos Condat por sus enseñanzas no solo a nivel académico si no también por sus consejos y ayuda cada vez que lo he necesitado.

Al personal administrativo, docente y no docente por tenderme una mano cada vez que he ido a consultarlos.

A mis compañeros y amigos, por ser actores de este sueño y colocar una sonrisa en mi cara cuando se ha tenido la oportunidad.

A mis padres Leticia Royero y Cornelio Vega. A mis hermanos, tíos y primos, por su apoyo a lo largo de estos años.

A mi novio Juan E. Lawrie y su familia por acogerme en su hogar y brindarme su amistad.

Resumen

En este trabajo se extiende un modelo matemático que en principio solo describía la interacción de la respuesta inmune humoral de un mamífero con el parásito protozoario *Tripanosoma cruzi* (causante de la enfermedad de Chagas) durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas.

La primera ampliación del modelo fue considerar una infección simultánea de dos cepas distintas del parásito y una especie de anticuerpo. En este caso se obtiene un espectro más amplio de los estados estacionarios que se tenían anteriormente (curación, enfermedad crónica y muerte), los cuales son mejor entendidos a través de diferentes diagramas de fase que se obtienen al establecer las condiciones de Routh-Hurwitz para evaluar su estabilidad. El principal aporte con esta primera extensión al modelo original fue el haber demostrado la no coexistencia en estado estacionario de las dos cepas parasitarias y la respuesta inmune. Este resultado coincide con las observaciones clínicas reportadas en la literatura, donde la coexistencia de dos cepas del *T. cruzi* no ha sido encontrada en ningún test hemocultural practicado a algún mamífero infectado, aún en lugares donde más de una cepa se encuentra circulando.

Otro hallazgo importante de esta extensión del modelo muestra como una primera infección puede proveer inmunidad en contra de posteriores infecciones. Siguiendo esta idea se desarrolló un nuevo modelo para describir la competición dinámica entre el parásito *Tripanosoma rangeli* (*T. rangeli*) y sus anticuerpos durante la fase aguda de la infección. A partir de este se observó que el sistema inmune es capaz de erradicar al parásito, regresando el sistema a sus condiciones iniciales saludables. Existen algunos investigadores que han demostrado que una preinfección con *T. rangeli* puede servir como agente inmunizador en una infección posterior con *T. cruzi*. El modelo incluye la descripción de la replicación intracelular del *T. cruzi* y sus estragos en el organismo como es la destrucción de las células donde se hospeda. Se concluye, que el efecto inmunizador del *T. rangeli* es solo transitorio ya que

al ser un parásito erradicable por el sistema inmune, no puede mantener los niveles de anticuerpos elevados permitiendo que una vez estos vuelvan a sus niveles iniciales se pierda la inmunidad en contra del *T. cruzi*

En la tercera parte de la investigación se extiende el modelo al incluir la respuesta inmune celular generada por un organismo mamífero cuando es infectado con el *T. cruzi*. Encontramos que la introducción de esta respuesta inmune no modifica la zona de curación en el diagrama de fase, pero aparecen dos estados crónicos distintos y desaparece la zona asociada al estado de muerte que obteníamos anteriormente. Resaltamos que la desaparición del estado de muerte es beneficiosa para el parásito ya que no destruye el organismo hospedero y su propio hábitat. Aunque ya no aparezca un estado de muerte, esta puede darse en el organismo hospedador debido a los efectos dañinos acumulativos en los tejidos del mismo.

PACS:

87.10.Ed Ordinary differential equations (ODE), partial differential equation (PDE), integrodifferential models.

87.18.Vf Systems biology.

87.19.xe Parasitic diseases.

Palabras Claves: Enfermedad de Chagas, Modelo Matemático, Estados Estacionarios, Diagrama de Fase, Retratos de fase, Sistema Inmune, Anticuerpos, Linfocitos T citotóxicos, Células T Citotóxicos.

Índice general

Agradecimientos	V
Resumen	VII
Índice de figuras	XI
Índice de cuadros	XVII
1. La Enfermedad de Chagas	1
1.1. Etapas de la Enfermedad	1
1.2. Transmisión de la Enfermedad	3
1.3. Tratamientos Disponibles	6
2. Marco Teórico	7
2.1. Introducción	7
2.2. Modelo de Lotka-Volterra	7
2.2.1. Ecuaciones de Lotka-Volterra Presa-Depredador	8
2.3. Análisis de un Plano de Fase	11
2.3.1. Clasificación de los Puntos de Equilibrios en Sistemas Lineales	13
2.4. Condiciones de Routh-Hurwitz	18
2.4.1. Procedimiento en el Criterio de Routh-Hurwitz	19
3. Modelos Para la Enfermedad de Chagas	21
3.1. Modelo de Velasco-Hernandez y Perez-Chavela	21
3.2. Modelo de Oliveira	25
3.3. Modelo Sibona-Condât	31
3.3.1. Estados Estacionarios	33
3.3.2. Dinámica: Propiedades Generales	36
3.3.3. Retraso en la Respuesta Inmune	40
3.3.4. Replicación Intracelular	42
3.3.5. Comparación con Experimentos	45

4. Modelo Para una Infección Heteróloga	49
4.1. Introducción	49
4.2. Modelo Para Una Infección Mixta con T. Cruzi	51
4.3. Estados Estacionarios y sus Propiedades	52
4.4. Dinámica	58
4.5. Discusión	59
5. Pre-infectando para Curar	65
5.1. Introducción	65
5.2. Modelo Para el Tripanosoma Rangeli	67
5.2.1. Estados Estacionarios	68
5.2.2. Validación del Modelo	69
5.3. Reacción Cruzada	71
5.3.1. Modelo para una infección mixta T. rangeli-T. cruzi . .	71
5.3.2. Estados Estacionarios de una Infección Mixta de T. rangeli-T. cruzi	72
5.3.3. Comparación con Experimentos	74
5.4. Discusión	79
6. Respuesta Inmune Celular	85
6.1. Introducción	85
6.1.1. Linfocitos B	86
6.1.2. Linfocitos T	86
6.1.3. Células Presentadoras de Antígeno	87
6.2. Modelo para la Respuesta Inmune Celular y Humoral	89
6.3. Estados Estacionarios y sus Propiedades	91
6.3.1. Diagrama de Fase	93
6.4. Dinámica	94
6.5. Discusión	96
7. Conclusiones y Comentarios Finales	101
Apéndices	106
A. Condiciones de Routh-Hurwitz	109
B. Coeficientes	119
C. Gráficos Complementarios	123
Bibliografía	127

Índice de figuras

1.1. Niño con el signo de Romaña	2
1.2. <i>Triatoma infestans</i> , vector de la enfermedad de Chagas	3
1.3. Anatomía del <i>Tripanosoma cruzi</i> en estado tripomastigote	4
1.4. Ciclo de vida del parásito <i>Tripanosoma cruzi</i>	5
2.1. Soluciones numéricas a las Ecs 2.3 del modelo presa-depredador de Lotka Volterra, para $a = 1$	10
2.2. Curvas cerradas en el plano de fase (u, v) a partir de la Ec. 2.6, para $a = 1$	11
2.3. Curvas de Fase con un punto de equilibrio denominado nodo (Tipo I)	14
2.4. Curva de fase con el punto de equilibrio: punto de silla o <i>saddle-point</i>	15
2.5. Curvas de fase con forma de espiral	16
2.6. Curvas de fase mostrando elipses	17
2.7. Curvas de fase mostrando un nodo tipo II	17
2.8. Curvas de fase mostrando una estrella	18
3.1. Diagrama de fase que describe el resultado de la infección parasitaria en términos de la tasa de reproducción del parásito (κ) y de producción de anticuerpos (γ). La localización de la frontera entre los casos III y IIIb depende del número inicial de parásitos n_0 . Los valores de los parámetros son $a_0 = \tau = 0.1$ y $\alpha = 40$	36

- 3.2. Retratos de fase que describen la trayectoria de la población de parásitos y anticuerpos. En todos los casos, $\tau = 10$ y $\kappa = 3$. (a) Caso I: Curación, $\gamma = 4$, el sistema converge a $(a_s = a_0, n_s = 0) = (2, 0)$. (b) Caso II: Crónico, $\alpha = 0.4$ y $\gamma = 4$. Se nota una convergencia oscilatoria hacia $(a_s, n_s) = (7.5, 0.55)$ sin importar el tamaño de la inoculación n_0 . (c) Caso IIIb, $\alpha = 2$ y $\gamma = 2$. Evolución hacia el caso de muerte $(1, \infty)$ o curación dependiendo del tamaño de la inoculación inicial n_0 . (d) Caso fronterizo $\gamma = \kappa = 3$, $\alpha = 0.4$. Si $\kappa > \alpha a_0$ las trayectorias de fase convergen a $(\kappa/\alpha, \infty)$, mientras que si $\kappa < \alpha a_0$ las poblaciones tienden al atractor $(a_0, 0)$, su convergencia no depende de n_0 38
- 3.3. Trayectorias de fase para los tiempos de retrasos indicados. Para retrasos pequeños, las poblaciones convergen al atractor $(a_0, 0)$ (curación) mientras para retrasos grandes convergen hacia el caso de muerte $(0, \infty)$. Los valores de los parámetros son $a_0 = 1$, $n_0 = 0.04$, $\alpha = 4.6$, $\tau = 8.3$, $\kappa = 4$ y $\gamma = 3$ 41
- 3.4. Diagrama de fase que describe el resultado de la infección parasitaria en términos de la tasa de producción de anticuerpos (γ) y el número de tripomastigotes que salen de la ruptura de una célula infectada N_r . La localización de la frontera entre los casos III y IIIb depende del tamaño de la población inicial de parásitos n_0 . Los valores de los parámetros son $a_0 = 2$, $\tau = 10$, $\xi = 10$, $\eta = 1$ y $\alpha = 2.5$ 44
- 3.5. Diagrama de fase que describe el resultado de la infección parasitaria en términos de la tasa de producción de anticuerpos (γ) y la variable κ_n 45
- 3.6. Comparación del modelo original (línea continua) con datos experimentales (puntos) obtenidos por El Bouhdidi [33]. (a) Evolución de la población de parásitos *T. cruzi*. (b)-(d) Evolución de la población de anticuerpos IgM, IgG1 e IgG2a respectivamente. 46
- 3.7. Comparación de los datos experimentales de El Bouhdidi [33] con el modelo original y su versión extendida (incluyendo replicación intracelular en células infectadas). 48

4.1. Diagramas de fase que describen el resultado de la infección parasitaria en términos de las tasas de generación de anticuerpos (γ_1) y la tasa de reproducción (κ_1) de la cepa parasitaria n_1 . La línea sólida esta dada por la condición 4.11, pero como una igualdad. Las valores de las otras fronteras están especificados en la figura. Los valores de los parámetros para ambos paneles son $\alpha_1 = 3$, $\tau = 10$, y $a_0 = 2$; (a) $\alpha_2 = 2.5$, $\gamma_2 = 4$, $\kappa_2 = 3$; (b) $\alpha_2 = 1.5$, $\gamma_2 = 5$, $\kappa_2 = 4.5$ 56

4.2. Diagrama de fase que describe el resultado de la infección parasitaria en términos de la tasa de generación de anticuerpos (γ_1) y la de parásitos (κ_1) de la cepa n_1 . La localización de la frontera entre los casos I.b y II.b, depende de los tamaños n_{j0} de ambas poblaciones infectivas. La curación depende del tamaño inicial. Tres posibles fronteras para los casos de curación y muerte estan trazadas. La línea sólida esta dada por la condición (1.11), tomada como una igualdad. Las otras fronteras estan dadas por $\kappa_1 = \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \gamma_2$ (-), $\kappa_1 = \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \kappa_2$ (-.-), $\kappa_1 = \alpha_1 a_0$ (- -), $\gamma_1 = \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \kappa_2$ (....), y por último $\gamma_1 = \kappa_1$ (-.-.-). Los valores de los parámetros son $\alpha_1 = 3$, $\alpha_2 = 2.5$, $\gamma_2 = 3$, $\kappa_2 = 4$, $\tau = 10$, y $a_0 = 2$ 57

4.3. Retratos de fase de las poblaciones parásito-anticuerpos para los valores de κ_1 indicados en el panel (b) manteniendo constante γ_1 ($= 10$). Los parámetros de n_2 son los mismos de la Fig. 4.2. Los tamaños de las inoculaciones son $n_{10} = n_{20} = 5$. . . 60

4.4. Retratos de fase de las poblaciones parásito-anticuerpos para los valores de κ_1 indicado en el panel (b) manteniendo constante γ_1 ($= 2$). Los parámetros de la cepa n_2 son los mismos que en la Fig. 4.2. Los tamaños de las inoculaciones son $n_{10} = n_{20} = 5$. 61

4.5. Retrato de fase n_2 vs. a , para varios tamaños de inoculación de la cepa n_1 (n_{10}). Si incrementamos el tamaño de n_{10} , el atractor del sistema se corre desde la muerte (caso III.d) hacia el de curación (caso I). En todos los casos, n_1 desaparece. Los parámetros de la cepa n_2 son los mismos que en la Fig. 4.2. $n_{20} = 5$, y los valores de n_{10} están expuestos en la figura. . . . 63

5.1. Comparación del modelo con datos experimentales de la población del T. rangeli. Datos tomados de (a) *Barbosa et al.* (2002) [89], y (b) *Zuñiga et al.* (1997) [79]. 70

5.2. Evolución de la población de anticuerpos específicos del T. rangeli en el experimento de *Zuñiga* [79]. 70

- 5.3. Diagrama de fase que describe el resultado de una infección mixta *T. rangeli*-*T. cruzi* en términos de la tasa efectiva de reproducción κ_n del parásito *T. cruzi* y la tasa de generación de anticuerpos γ_n . Casos: I. Curación, II. Crónico, III. Muerte del Hospedero subdividido en dos subcasos: III.a (III.b) por el crecimiento exponencial de la población del *T. cruzi* (*T. cruzi* y *T. rangeli* simultáneamente). 75
- 5.4. Comparación de los datos experimentales de la población parasitaria del *T. cruzi* obtenidos por *Zuñiga et al.* (1997) con la predicción del modelo. Los valores de los parámetros son mostrados en los Cuadros 5.1 y 5.2 76
- 5.5. Comparación del modelo con los datos experimentales obtenidos por *Zuñiga* [79] en una infección mezclada *T. rangeli*-*T. cruzi* cuando el hospedero es preinfectado con diferentes tamaños de inoculación de parásitos del *T. rangeli*. 77
- 5.6. Comparación de los niveles de anticuerpos pronosticados por el modelo en ratones no-preinfectados y preinfectados con *T. rangeli*. Los valores de los parámetros y datos usados fueron aquellos que se obtuvieron del ajuste del experimento de *Zuñiga*. 78
- 5.7. Comparación del daño celular en un ratón preinfectado y no-preinfectado con *T. rangeli* predichos por el modelo. Los valores de los parámetros y datos usados fueron aquellos que se obtuvieron del ajuste del experimento de *Zuñiga*. 78
- 5.8. Transición de casos crónicos de una infección con *T. cruzi* a casos de curación. $N_r = [1 + \alpha_{i,n}a_0]/\xi = 3.47$, $N_r(t^* = 22.56 \text{ días}) = [1 + \alpha_{i,n}a_0(t^*)]/\xi = 14.5$ y $\xi = 0.3[1/\text{días}]$ 80
- 5.9. Evolución de la población del *T. cruzi* en un ratón preinfectado con *T. rangeli*. La re-infección es hecha a los tiempos (t^*) indicados en la gráfica. 83
- 5.10. Nivel parasitario máximo en una infección con las cepas de *T. cruzi* usadas en los experimentos de *El Bouhdidi* y *Andersson*. Una pre-inoculación con *T. rangeli* es supuesta. 84

6.1. Diagrama de fase que describe el resultado de una infección con *T. cruzi* teniendo en cuenta la respuesta inmune celular y humoral, en términos del número promedio de tripomastigotes emergiendo de la ruptura de una célula N_r y la tasa de generación de anticuerpos γ . Casos: I. Curación, II. Crónico subdivido en dos subcasos: II.a y II.b donde las poblaciones van a valores asintóticos distintos. Los valores de los parámetros son: $\alpha = 3$, $\kappa = 2.5$, $\sigma = 3$, $\tau_a = \tau_T = \tau_c = 10$, $\phi = 2$, $\eta = 1$, $\xi = 10$, $a_0 = 2$ y $\delta = 2.5$ 94

6.2. Transición de n_s por los tres estados estacionarios en función de N_r . $\gamma = 40$, el resto de los valores de los parámetros son los mismos que los de la Fig. 6.1. 95

6.3. (a) Retrato de fase que describe la trayectoria de la población de parásitos y anticuerpos en el estado de curación (Caso I). Evolución (b) del número de células infectadas (r), (c) del número de células citotóxicas precursoras (T), y (d) de las células citotóxicas (c), en el estado de curación. Las condiciones iniciales son: $n_0 = 20$, $T_0 = 30$ y $c_0 = 0$. El acortamiento del eje del tiempo en las Figs. 6.3(c)-(d) se debe al querer mostrar el comportamiento rápido a tiempos cortos de de las poblaciones de los linfocitos T citotóxicos no activos T y linfocitos T citotóxicos activos c . El gráfico completo es mostrado en el Apéndice C.1. 97

6.4. (a) Retrato de fase que describe la trayectoria de la población de parásitos y anticuerpos en los estados crónicos II.a y II.b. Evolución (b) del número de células infectadas (r), (c) del número de células citotóxicas precursoras (T), y (d) de las células citotóxicas (c) en los estados crónicos II.a y II.b. Las condiciones iniciales son: $n_0 = 20$, $T_0 = 30$ y $c_0 = 0$. El acortamiento del eje del tiempo en las Figs. 6.4(c)-(d) se debe al querer mostrar el comportamiento rápido a tiempos cortos de de las poblaciones de los linfocitos T citotóxicos no activos T y linfocitos T citotóxicos activos c . El gráfico completo es mostrado en el Apéndice C.2. 98

A.1. Análisis de estabilidad con las condiciones de Routh-Hurwitz del punto crítico $(m_s, n_s, r_s, a_s) = (0, 0, 0, a_0)$ en el diagrama de fase $(N_r - \gamma)$ 113

A.2. Análisis de estabilidad con las condiciones de Routh-Hurwitz del punto crítico $(m_s, n_s, r_s, a_s) = (\frac{\kappa_m - \alpha_m a_0}{\alpha_m \tau (\gamma_m - \kappa_m)}, 0, 0, \frac{\kappa_m}{\alpha_m})$ en el diagrama de fase $(N_r - \gamma)$ 114

A.3. Análisis de estabilidad con las condiciones de Routh-Hurwitz del punto crítico $(m_s, n_s, r_s, a_s) = (0, \frac{(N_r-1)\xi - \alpha_n a_0}{\alpha_m \tau (\gamma_m - (N_r-1)\xi)}, \frac{\xi}{\eta} n_s, \frac{(N_r-1)\xi}{\alpha_n})$ en el diagrama de fase $(N_r - \gamma)$ 115

C.1. Evolución (c) del número de células citotóxicas precursoras (T), y (d) de las células citotóxicas (c), en el estado de curación. Las condiciones iniciales son: $n_0 = 20, T_0 = 30$ y $c_0 = 0$. . . 124

C.2. Evolución (c) del número de células citotóxicas precursoras (T), y (d) de las células citotóxicas (c) en los estados crónicos II.a y II.b. Las condiciones iniciales son: $n_0 = 20, T_0 = 30$ y $c_0 = 0$ 125

Índice de cuadros

3.1. Definición de las variables y parámetros que intervienen en el modelo. Conc. y t significan concentración y tiempo respectivamente.	27
3.2. Definición de las variables y parámetros que intervienen en el modelo de inmunidad celular. Conc., t y LTC significan concentración, tiempo y linfocitos T citóxicos respectivamente.	29
3.3. Valores de los parámetros de los anticuerpos específicos del T. cruzi obtenidos del ajuste de los datos de El Bouhdidi [33]. w representa semanas. Los parámetros del parásito son $n_0 = 100$ (1/ml), $\kappa = 4$ (1/w).	47
5.1. Valores de los parámetros correspondientes al ajuste de los datos experimentales de Barbosa <i>et al</i> (2002) [89] y Zuñiga <i>et al</i> (1997) [79]. $\alpha_{i,m}$ es medido en (ml/días) y $\gamma_{i,m}$ es medido en días ⁻¹	69
5.2. Valores de los parámetros para los anticuerpos específicos del T. cruzi y el T. rangeli. T, τ y θ son medidos en días.	70
5.3. Valores de los parámetros de los anticuerpos específicos del T. cruzi obtenidos del ajuste de los datos de El Bouhdidi [33] en días. d representa días. Los valores de γ son distintos en el caso de las experiencias de Andersson [95].	80
6.1. Definición de las variables y parámetros que intervienen en el modelo para las respuestas inmunes celular y humoral. Conc., t y LTC significan concentración, tiempo y linfocitos T citóxicos respectivamente.	90

Capítulo 1

La Enfermedad de Chagas

La enfermedad de Chagas también conocida como Tripanosomiasis americana o Mal de Chagas, es una enfermedad endémica de América Latina que afecta aproximadamente a 10-12 millones de personas y causa la muerte de unas 15000 cada año [1, 2]. La enfermedad también es portada por cientos de miles de personas en Europa (mayormente en España y Portugal), Estados Unidos, Canadá, Japón y Australia. Los portadores son principalmente inmigrantes sudamericanos, quienes no saben de su infección, y la transmiten en situaciones de transfusión de sangre o donación de órganos [3]. La enfermedad representa un gran problema de salud pública en el manejo de bancos de sangre y provisiones de cuidados de la salud. Su nombre se debe a Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, médico brasileño quien descubrió el parásito *Tripanosoma cruzi*, agente causante de la enfermedad, en 1909.

1.1. Etapas de la Enfermedad

Cuando un humano ha sido infectado con la enfermedad de Chagas, este experimenta tres etapas o fases en la enfermedad [4, 5]:

- Fase Aguda: se inicia en el momento de adquirir la infección y su duración aproximada es de 6 a 8 semanas. Durante esta fase aguda circulan por el torrente sanguíneo una gran cantidad de parásitos. Algunos de sus síntomas son fiebre, dolor de cabeza, agrandamiento de ganglios linfáticos, palidez, dolores musculares, dificultad para respirar, hinchazón y dolor abdominal o torácico. En menos del 50 % de los casos puede aparecer en el lugar de la inoculación un nódulo cutáneo local llamado *chagoma*, o en casos de inoculación ocular es posible identificar el signo de Romana (ver Fig. 1.1). El signo de Romana es un



Figura 1.1: Niño con el signo de Romaña

edema palpebral unilateral, sin dolor, frecuentemente acompañado de conjuntivitis y agrandamiento del nódulo linfático local [6, 7].

- Fase Indeterminada o Latente: suele ser asintomática, pero en algunos casos particulares puede presentarse fiebre, anorexia, linfadenopatía, hepatosplenomegalia leve y miocarditis. Esta fase crónica asintomática ahora llamada fase indeterminada, se caracteriza por la persistencia de la infección sin presentar problemas clínicos, reapareciendo sólo varios años más tarde [8, 9].
- Fase Crónica: es sintomática y puede aparecer años o décadas después de la infección inicial. La enfermedad afecta al sistema nervioso, al sistema digestivo y al corazón. Infecciones crónicas dan como resultado desórdenes neurológicos como por ejemplo la demencia, daño en el músculo cardíaco (miocardiopatía), algunas veces la dilatación del tracto digestivo (megacolon y megaesófago), pérdida de peso y problemas de deglución. Los problemas de deglución pueden desembocar en la desnutrición del paciente. Con el paso de los años, la infección puede causar muerte súbita o insuficiencia cardíaca por la destrucción progresiva del músculo cardíaco [6, 10, 11].



Figura 1.2: *Triatoma infestans*, vector de la enfermedad de Chagas

1.2. Transmisión de la Enfermedad

La enfermedad de Chagas es producida por un parásito protozoario de nombre *Tripanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Este parásito se mueve entre mamíferos (reservorio natural), humanos y algunos insectos del género de los *Triatoma* durante su ciclo de vida. Existen cerca de más de 100 especies de insectos triatominos con el potencial para transmitir el *T. cruzi*, tres de los cuales son importantes especies domésticas: *Triatoma infestans* (también conocidos como vinchucas o chinches en Argentina, Fig. 1.2), *Rhodnius prolixus* y *Triatoma dimidiata*. Estos insectos se caracterizan por ser insectos hematófagos, es decir que solo se alimentan de sangre. Entre los animales considerados reservorios del parásito se destacan los armadillos, marsupiales (zarigüellas), roedores, murciélagos y primates silvestres, además de ciertos animales domésticos como perros, gatos, gallinas y otras aves.

El ciclo transmisivo se inicia cuando un insecto succiona sangre de un animal o individuo infectado. Una vez dentro del insecto, el parásito se divide rápidamente en sus intestinos por fisión binaria (tomando su estado metacíclico de epimastigote) antes de emerger en las heces. Cuando los triatominos vuelven a alimentarse, ellos defecan inmediatamente después sobre la piel de la víctima, depositando los *T. cruzi* en el proceso. La víctima al sentir la molestia de la picadura se rasca provocando cortes o heridas en la

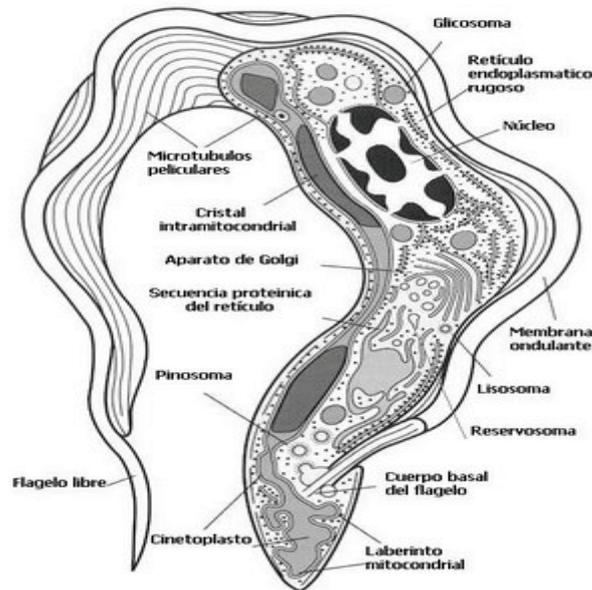


Figura 1.3: Anatomía del *Tripanosoma cruzi* en estado tripomastigote

piel, las cuales son las puertas de acceso del parásito en el organismo. Una vez dentro del organismo, el parásito se convierte en tripomastigote (forma circulante en sangre, Fig. 1.3). Los tripomastigotes pueden seguir circulando por el flujo sanguíneo o entrar en las células. Si entran en las células del hospedador, los tripomastigotes se diferencian en amastigotes (forma intracelular) y empiezan a multiplicarse por fisión binaria hasta colonizar completamente la célula. Cuando la célula está totalmente colonizada se rompe la membrana celular, lo cual libera los parásitos al espacio extracelular. Luego, los amastigotes vuelven a su forma tripomastigótica, y pueden seguir por el flujo sanguíneo o colonizar otra célula. El ciclo transmisor se cierra cuando un triatomino no-infectado vuelve a alimentarse de este nuevo hospedador del parásito adquiriendo la infección [4, 12]. Los diferentes estados del *T. cruzi* son ilustrados en la Fig. 1.4. Esta es la forma más común de transmisión del *T. cruzi* (transmisión horizontal). Esta transmisión se lleva a cabo en tres ciclos: el doméstico, en el cual el vector infecta de manera exclusiva la vivienda humana en áreas rurales y suburbanas; el peridoméstico, donde se mantiene alrededor de núcleos de población humana, y el enzoonótico, que se presenta alejado de asentamientos humanos y con participación exclusiva de reservorios naturales y ecotopos naturales.

Existen también otras formas de transmisión de la enfermedad de Chagas:

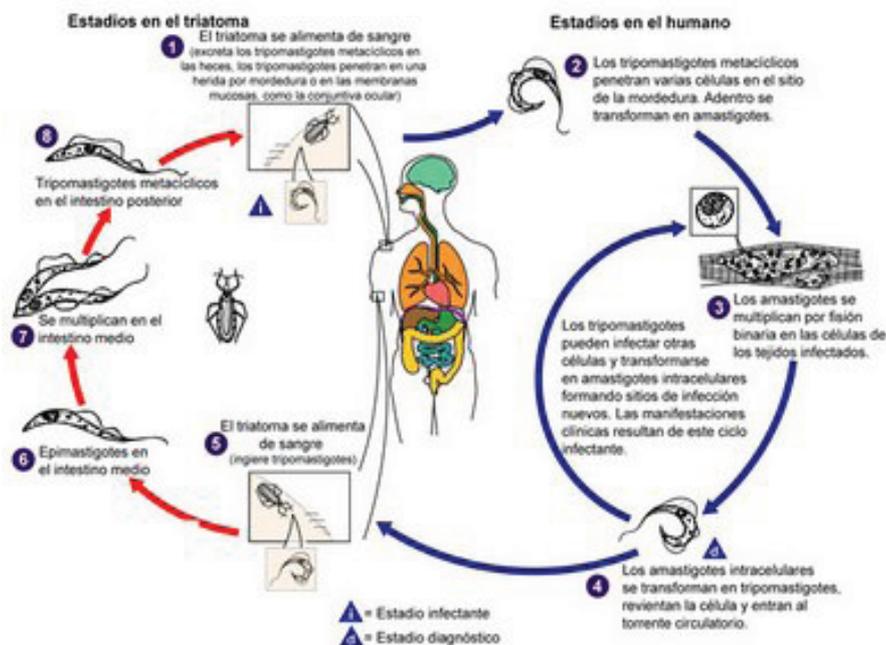


Figura 1.4: Ciclo de vida del parásito *Tripanosoma cruzi*

- Transmisión congénita: aquella transmitida a través de la placenta por madres embarazadas infectadas al feto.
- Por leche materna: la posibilidad de infección del hijo por la leche de la madre que padece la enfermedad de Chagas.
- Hemotransfusión: es aquella forma de transmisión que se produce por transfusión de sangre proveniente de donadores infectados con el *T. cruzi*, generando cuadros clínicos agudos en los receptores.
- Por contaminación accidental en laboratorio, aquella que resulta de la manipulación de insectos infectados, cultivos de *T. cruzi* o material biológico provenientes de enfermos con cuadros muy infectivos.
- Por transplante de órganos: de donantes infectados.
- Por ingestión de alimentos contaminados, como la carne poco cocida de mamíferos silvestres o aquellos contaminados con las heces de un triatomino infectado con el parásito.

1.3. Tratamientos Disponibles

La enfermedad de Chagas puede tratarse con Benznidazol (Rochagam®), Radanil®) y Nifurtimox (Bayer 2502, Lampit®) que matan al parásito [13]-[17]. Estos medicamentos fueron introducidos en el mercado hace más de 40 años. Ambos medicamentos son eficaces casi al 100 % para curar la enfermedad, si se administran al comienzo de la infección en la etapa aguda. Sin embargo, su eficacia disminuye a medida que transcurre más tiempo desde el inicio de la infección. El tratamiento con estos medicamentos también está indicado en caso de reactivación de la infección en niños que padecen infección congénita y en los pacientes al principio de la fase crónica. Los posibles beneficios de la medicación para prevenir o retrasar el avance de la enfermedad de Chagas deben sopesarse contra la duración prolongada del tratamiento (hasta dos meses) y las posibles reacciones adversas (que se presentan hasta en un 40 % de los pacientes tratados) [18], las cuales son erupciones en la piel, náuseas, insuficiencia renal y de hígado.

Mayormente las investigaciones en nuevas terapias se estancaron a finales del siglo XX, debido a la falta de interés de los comités gubernamentales y las grandes industrias farmacéuticas en el desarrollo de drogas para el tratamiento de las enfermedades tropicales. La razón principal de este estancamiento es que la mayoría de los consumidores de estas drogas y tratamientos serían gente pobre de países subdesarrollados que no poseen los medios económicos para comprarlas, debido a sus altos costos.

Aunque actualmente se están desarrollando nuevas drogas para combatir la enfermedad de Chagas, ninguna cuenta con la aprobación oficial de los organismos de salud pertinentes. Algunas como el Posaconazole, (Schering Plough, ahora Merck & Co., Inc.) han demostrado eficiencia de hasta el 100 % en algunos casos; pero sus costos elevados (alrededor de los €8000), las hacen inasequibles para los pacientes [19].

Otra droga que se ha reportado como efectiva al ser probada en ratones, es el monosialogangliosido GM1 [20]. Este medicamento arrojó una alta efectividad en el control de la parasitemia y bajas tasas de mortalidad en ratones infectados con una cantidad letal de parásitos *T. cruzi*. El problema con esta droga es que la dosis debe ser administrada en un rango específico, ya que si se administra una dosis mayor a la estipulada pueden producirse una exacerbación del número de parásitos, y por consecuencia un mayor deterioro del organismo infectado.

Capítulo 2

Marco Teórico

2.1. Introducción

En este capítulo se muestran herramientas teórico-matemáticas usadas para proponer y evaluar el modelo a estudiar en este trabajo de tesis. En la primera parte de este capítulo se hace un repaso del modelo de presa-depredador de Lotka-Volterra. En el modelo presa-depredador el resultado inmediato es el fortalecimiento de la población depredadora a expensas de la población de la presa, en modelos de invasión parasitaria (como el nuestro) el resultado es la eliminación de ambas especies. Otra diferencia entre ambos modelos es que en ambas poblaciones el término de acoplamiento tiene el mismo signo, lo cual cambia la existencia de órbitas cerradas a resultados distintos en el plano de fase. Es por esto que vale la pena recordar las diferentes curvas (retratos de fase) que se pueden obtener de un sistema dinámico según sus correspondientes autovalores y la evaluación de la estabilidad de los estados estacionarios con el criterio de Routh-Hurwitz [28]-[30].

2.2. Modelo de Lotka-Volterra

En 1926, el matemático Vito Volterra propuso un modelo para la depredación de una especie por otra para explicar los niveles oscilatorios de la cantidad de pescados capturados en el Adriático. Alfred Lotka había propuesto las mismas ecuaciones para un sistema presa-depredador en su libro *Elements of Physical Biology* publicado en 1925. Lotka, junto con Volterra son considerados los precursores de la edad dorada de la ecología teórica [29].

Cuando diferentes especies interactúan la dinámica de las poblaciones de cada especie se ve afectada. En general, existe una red de especies interac-

tuantes, algunas veces llamada una red trófica para comunidades estructuralmente complejas [28]. Hay tres principales tipos de interacción:

- **Presa-Depredador:** si la tasa de crecimiento de una especie decrece, mientras la tasa de crecimiento de la otra especie aumenta por la presencia de la otra especie.
- **Competición:** esta interacción se da cuando la tasa de crecimiento de ambas especies decrece por la presencia de la otra especie.
- **Mutualismo o Simbiosis:** esta interacción se da cuando la tasa de crecimiento de ambas especies se incrementa debido a la presencia de la otra especie.

2.2.1. Ecuaciones de Lotka-Volterra Presa-Depredador

En una interacción presa-depredador, sea U el número de presas y V el número de depredadores. En ausencia de la especie depredadora, la población de presas crecería exponencialmente, y en ausencia de la población de presas la población depredadora se extinguiría exponencialmente también. Pero como ambas especies conviven e interactúan en un mismo tiempo, dicha interacción es beneficiosa para los depredadores, pero desfavorable para las presas. En otras palabras, $\{\text{tasa de cambio de } U\} = \{\text{tasa neta de crecimiento de } U \text{ sin depredación}\} - \{\text{tasa de pérdida de } U \text{ debido a la depredación}\}$, y $\{\text{tasa de cambio de } V\} = -\{\text{tasa neta de pérdida de } V \text{ sin depredación}\} + \{\text{tasa neta de crecimiento de } V \text{ debido a la depredación}\}$.

Esto supone implícitamente, y de manera irrealista, que las interacciones presa-depredador son las únicas interacciones determinantes de la dinámica de ambas poblaciones. Otras consideraciones hechas para modelar estas interacciones son:

- La presa está limitada únicamente por el depredador, y en su ausencia crece exponencialmente (en forma malthusiana).
- La *respuesta funcional* del depredador es lineal. En otras palabras, el término de depredación es lineal en U .
- No existe *interferencia* entre depredadores en la búsqueda-encuentro de la presa. En otras palabras, los encuentros entre depredadores no toman tiempo o reducen la eficiencia en la búsqueda de la presa. Matemáticamente, el término de depredación es lineal en V .

- En la ausencia de la presa, la población depredadora decae exponencialmente.
- Cada captura de una presa contribuye idénticamente al crecimiento de la población del depredador.

Luego, al combinar todas estas consideraciones las ecuaciones serán,

$$\frac{dU}{d\tau} = \alpha U - \gamma UV, \quad \frac{dV}{d\tau} = e\gamma UV - \beta V \quad (2.1)$$

Los parámetros α , β , γ y e son todos positivos. α representa la tasa de crecimiento de las presas, γ es la tasa de encuentro entre la población de presas y la población de depredadores, e es la proporción de presas consumidas por la población de depredadores en un encuentro, y β representa la tasa de muerte de la población de presas.

Los estados estacionarios del sistema de ecuaciones 2.1 están dados por uno trivial $(0,0)$, y otro no-trivial (U^*, V^*) donde

$$U^* = \frac{\beta}{e\gamma}, \quad V^* = \frac{\alpha}{\gamma} \quad (2.2)$$

Haciendo al análisis del sistema de ecuaciones 2.1, se busca el jacobiano del sistema resultando en

$$J = \begin{pmatrix} \alpha U - \gamma V & -\gamma U \\ -e\gamma V & e\gamma U - \beta \end{pmatrix}.$$

Al analizar la estabilidad de estado no trivial (U^*, V^*) , el jacobiano respectivo queda

$$J(U^*, V^*) = \begin{pmatrix} 0 & -\gamma U^* \\ -e\gamma V^* & 0 \end{pmatrix}.$$

La matriz anterior tiene traza cero y determinante positivo, puesto que sus valores propios son puramente imaginarios. Las ecuaciones linealizadas con respecto al estado estacionario tienen soluciones periódicas (órbitas cerradas), pero las no-lineales pueden tener soluciones periódicas o en forma de espiral (hacia adentro o hacia afuera) dependiendo de los términos no-lineales.

Adimensionalizando las ecuaciones de Lotka- Volterra, desde Ecs. 2.2, haciendo $u = \frac{U}{U^*}$ y $v = \frac{V}{V^*}$ y $t = \alpha\tau$,

$$\begin{aligned} \frac{1}{\alpha U^*} \frac{dU}{d\tau} &= \frac{U}{U^*} - \frac{\gamma}{\alpha} \frac{U}{U^*} V, \\ \frac{1}{\alpha V^*} \frac{dV}{d\tau} &= \frac{e\gamma\beta}{\beta\alpha} U \frac{V}{V^*} - \frac{\beta}{\alpha} \frac{V}{V^*} \end{aligned}$$

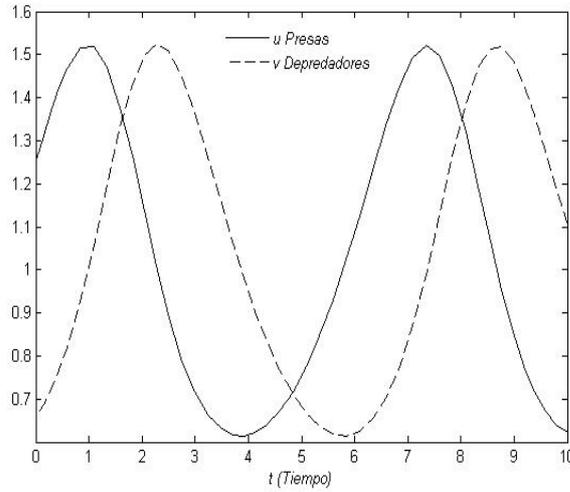


Figura 2.1: Soluciones numéricas a las Ecs 2.3 del modelo presa-depredador de Lotka Volterra, para $a = 1$.

Pero $\frac{\gamma}{\alpha} = (V^*)^{-1}$ y $\frac{e\gamma}{\beta} = (U^*)^{-1}$, luego el sistema de ecuaciones se transforma en

$$\begin{aligned}\frac{du}{dt} &= u - uv, \\ \frac{dv}{dt} &= auv - av\end{aligned}$$

Haciendo $a = \frac{\beta}{\alpha}$, y tomando factor común,

$$\frac{du}{dt} = u(1 - v) \quad \frac{dv}{dt} = av(u - 1) \quad (2.3)$$

Un ejemplo a la solución de este sistema de ecuaciones puede ser observado en la Fig. 2.1. Si se divide la segunda ecuación por la primera se obtiene,

$$\frac{dv}{du} = \frac{av(u - 1)}{u(1 - v)} \quad (2.4)$$

esta es una ecuación en el plano (u, v) , también conocido como **plano de fase**. La ecuación 2.4 es separable,

$$\frac{a(u - 1)du}{u} + \frac{(1 - v)dv}{v} = 0 \quad (2.5)$$

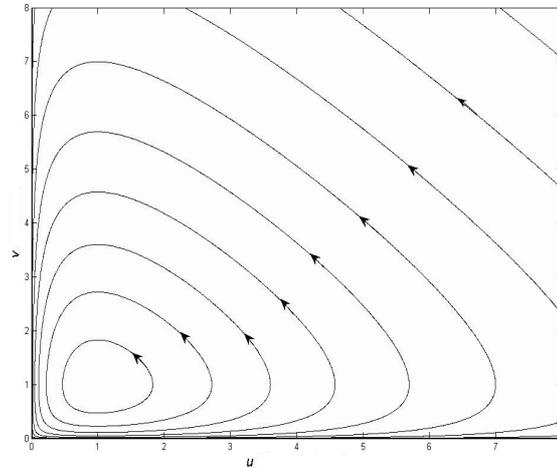


Figura 2.2: Curvas cerradas en el plano de fase (u, v) a partir de la Ec. 2.6, para $a = 1$

y también integrable, por tanto se tiene

$$\phi(u, v) = a(u - \log u) + v - \log v = A, \quad (2.6)$$

Donde A es una constante de integración. Esas curvas en el plano de fase (u, v) son curvas cerradas y corresponden a soluciones periódicas (ver Fig. 2.2).

2.3. Análisis de un Plano de Fase

Brevemente se analiza un sistema de ecuaciones diferenciales de segundo orden general autónomo¹ de la forma:

$$\frac{dx}{dt} = f(x, y), \quad \frac{dy}{dt} = g(x, y) \quad (2.7)$$

Cada solución del sistema de Ecs. 2.7 es un par de funciones $x(t)$ y $y(t)$ que definen una curva $C \equiv [x(t), y(t)]$ en el plano xy o plano de fase. Cada punto de la curva determina el estado del sistema en un instante t correspondiente a unas condiciones iniciales determinadas, y por ello son de gran interés el

¹la variable independiente t no aparece explícitamente en el miembro derecho de las ecuaciones dadas.

conocimiento de este tipo de curvas que se suelen llamar *trayectorias de fase* u *órbitas*. Las trayectorias de fase de la ecuación 2.7 son soluciones de

$$\frac{dx}{dy} = \frac{f(x, y)}{g(x, y)} \quad (2.8)$$

En cada punto (x, y) de una órbita, el vector $(f(x, y), g(x, y))$ es un vector tangente a dicha órbita. El conjunto de vectores $(f(x, y), g(x, y))$ se llama campo de vectores.

Debe observarse que una solución en la que $x(t) = x_s$, $y(t) = y_s$ para todo $t \in \mathbb{R}$, define únicamente un punto (x_s, y_s) en el plano de fase y satisface que $f(x_s, y_s) = g(x_s, y_s) = 0$. Se dice entonces que (x_s, y_s) es un punto crítico o de equilibrio del sistema. Cada punto del plano de fase puede ser un punto de equilibrio o por él pasa una única trayectoria.

Se asumirá en lo que sigue que los puntos críticos de los sistemas autónomos considerados están aislados, es decir, existe un entorno del punto crítico donde no hay otro punto crítico. También se supondrá que el punto crítico aislado es $(0, 0)$ (o sea $f(0, 0) = g(0, 0) = 0$), lo cual no implica ningún tipo de restricción pues de no ser así bastará hacer un cambio de coordenadas adecuado: si (x_s, y_s) es un punto de equilibrio del sistema 2.7, el cambio de variable

$$X = x - x_s, \quad Y = y - y_s \quad (2.9)$$

Transforma dicho sistema en

$$\frac{dX}{dt} = f(X + x_s, Y + y_s), \quad \frac{dY}{dt} = g(X + x_s, Y + y_s) \quad (2.10)$$

Si f y g son analíticas cerca de $(0, 0)$, se puede expandir f y g en serie de Taylor, y reteniendo únicamente los términos lineales se obtiene:

$$\frac{dx}{dy} = \frac{ax + by}{cx + dy} \quad (2.11)$$

Luego,

$$\frac{dx}{dt} = ax + by, \quad (2.12)$$

$$\frac{dy}{dt} = cx + dy \quad (2.13)$$

donde podemos definir

$$A = \begin{pmatrix} a & b \\ c & d \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} f_x & f_y \\ g_x & g_y \end{pmatrix}_{(0,0)}$$

para expresar el problema en notación matricial: $\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{x}$. Las ecuaciones 2.12 y 2.13 se denominan aproximación lineal o sistema linealizado.

Las soluciones de las ecuaciones 2.12 y 2.13 dan las formas paramétricas de las curvas de fase, siendo t dicho parámetro.

Puesto que el origen es también un punto crítico aislado del sistema lineal, entonces la matriz del sistema es regular; lo cual indica que el $\det \mathbf{A}$ es no nulo y por ende sus autovalores son diferentes de cero. Sean λ_1 y λ_2 los autovalores de la matriz \mathbf{A} definida anteriormente

$$\begin{vmatrix} a - \lambda & b \\ c & d - \lambda \end{vmatrix} = 0$$

Luego los autovalores son $\lambda_1, \lambda_2 = \frac{1}{2}(a + d \pm [(a + d)^2 - 4\det \mathbf{A}]^{\frac{1}{2}})$ y las soluciones a las ecuaciones 2.12 y 2.13 son de la forma:

$$\begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} = c_1 \mathbf{v}_1 e^{\lambda_1 t} + c_2 \mathbf{v}_2 e^{\lambda_2 t} \quad (2.14)$$

donde c_1 y c_2 son constantes arbitrarias. \mathbf{v}_1 y \mathbf{v}_2 son los autovectores normalizados de \mathbf{A} correspondientes a λ_1 y λ_2 respectivamente, los cuales están dados por

$$\mathbf{v}_i = (1 + p_i^2)^{-1/2} \begin{pmatrix} 1 \\ p_i \end{pmatrix}$$

donde $p_i = \frac{\lambda_i - a}{b}$, $b \neq 0$ e $i = 1, 2$. Al eliminar t en las soluciones de la ecuación se obtienen las curvas de fase en el plano (x, y) . La forma de estas soluciones varía de acuerdo al valor de los autovalores [30].

2.3.1. Clasificación de los Puntos de Equilibrios en Sistemas Lineales

En el caso de los sistemas autónomos lineales, la naturaleza y estabilidad del punto crítico quedan caracterizadas por los autovalores de la matriz del sistema. A continuación se clasificarán esos puntos de equilibrio teniendo en cuenta el valor de los autovalores.

1. Si λ_1, λ_2 son reales y distintos:

- (a) Si λ_1 y λ_2 tienen el mismo signo, por ejemplo $\lambda_1 < \lambda_2 < 0$. Los típicos autovectores \mathbf{v}_1 y \mathbf{v}_2 se muestran en la Fig. 2.3. Teniendo en cuenta las soluciones encontradas anteriormente (Ec. 2.14) suponemos $c_2 = 0$ y $c_1 \neq 0$, lo cual queda

$$\begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} = c_1 \mathbf{v}_1 e^{\lambda_1 t} \quad (2.15)$$

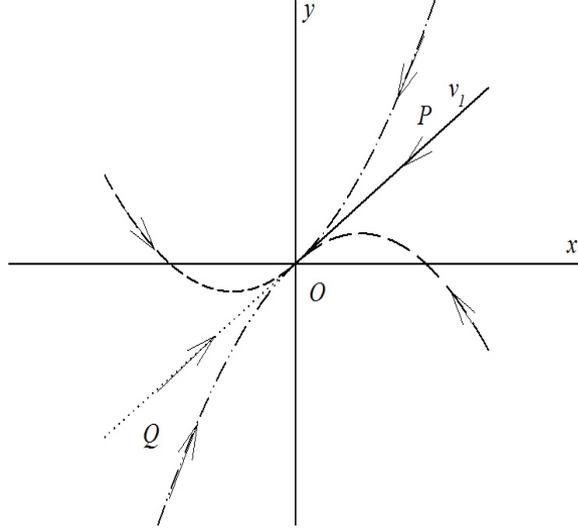


Figura 2.3: Curvas de Fase con un punto de equilibrio denominado nodo (Tipo I)

Considerando ($c_2 = 0$), la solución en el plano de fase se mueve a lo largo de \mathbf{v}_1 hacia el origen en la dirección mostrada a medida que transcurre el tiempo (Fig. 2.3), a lo largo de PO si $c_1 > 0$ y a lo largo de QO si $c_1 < 0$.

Si c_1 y c_2 son diferentes de cero, las soluciones tienden a $(0, 0)$ a medida que el tiempo avanza, debido a que ambos autovalores son menores que cero. Es posible aproximar $\exp[\lambda_2 t] = o(\exp[\lambda_1 t])$, entonces la solución quedaría,

$$\begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} \sim c_1 \mathbf{v}_1 e^{\lambda_1 t}, \quad t \rightarrow \infty \quad (2.16)$$

A medida que se aproximan al origen todas las soluciones tienden a cero a lo largo de \mathbf{v}_1 como se muestra en la Fig 2.3. Esto es llamado un **nodo de singularidad Tipo I**. Si $\lambda_1 \leq \lambda_2 < 0$ se tiene un nodo estable puesto que todas las trayectorias tienden a $(0, 0)$ para tiempos largos. Si $\lambda_1 > \lambda_2 > 0$ se tiene un nodo inestable, debido a que las soluciones se alejan del origen.

- (b) Si λ_1 y λ_2 tienen distintos signos: por ejemplo, $\lambda_1 < 0 < \lambda_2$ entonces $\mathbf{v}_1 \exp[\lambda_1 t] \rightarrow 0$ a lo largo de \mathbf{v}_1 cuando $t \rightarrow \infty$ mientras $\mathbf{v}_2 \exp[\lambda_2 t]$ crece alejándose del origen.

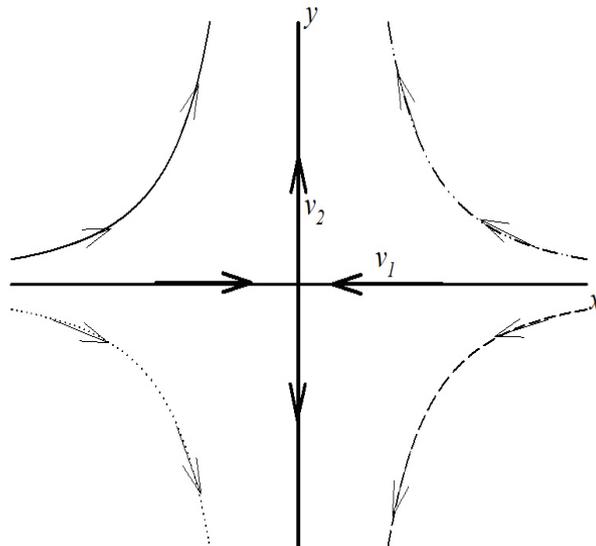


Figura 2.4: Curva de fase con el punto de equilibrio: punto de silla o *saddle-point*

En consecuencia existen diferentes direcciones sobre \mathbf{v}_1 y \mathbf{v}_2 , las soluciones cerca del $(0, 0)$ se muestran en la Fig 2.4. Esto es llamado un *saddle-point* o **punto de silla**. El punto de silla es siempre inestable: excepto estrictamente a lo largo de \mathbf{v}_1 donde cualquier pequeña perturbación que te saque de la recta definida por el autovector \mathbf{v}_1 lo hará crecer exponencialmente en dirección del autovector \mathbf{v}_2 , con autovalor λ_2 .

2. Si λ_1, λ_2 son valores complejos que tienen la forma $\alpha \pm i\beta$, $\beta \neq 0$. Las soluciones aquí involucran $\exp[\alpha t]\exp[\pm i\beta t]$. Dependiendo del valor de α se presentan dos casos:
 - (a) Si $\alpha \neq 0$ se obtiene una **espiral**. La espiral es estable si $\alpha < 0$, lo cual implica una aproximación oscilatoria hacia $(0, 0)$. Es inestable si $\alpha > 0$ e indica un alejamiento oscilatorio de $(0, 0)$; la Fig. 2.5 muestra trayectorias de fase en forma de espiral con $\alpha > 0$.
 - (b) Si $\alpha = 0$ las curvas de fase son elipses. Esta singularidad es llamada un **centro** y se ilustra en la Fig 2.6. Los centros no son estables en el sentido usual; una pequeña perturbación de una curva de fase hace que la solución cambie a otra elipse. Es decir la perturbación no regresa a la curva original no-perturbada sino que nos da otra

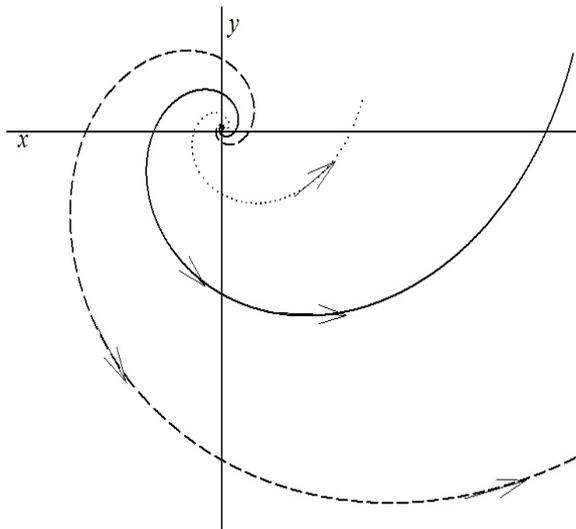


Figura 2.5: Curvas de fase con forma de espiral

solución.

3. Si $\lambda_1 = \lambda_2 = \lambda$, es decir si los autovalores son iguales las soluciones son proporcionales a $(c_1 + c_2 t)e^{\lambda t}$.

- (a) Si la matriz \mathbf{A} tiene únicamente un autovector independiente \mathbf{v} , su solución general es de la forma

$$\begin{pmatrix} x(t) \\ y(t) \end{pmatrix} = c_1 \mathbf{v} e^{\lambda t} + c_2 (\mathbf{v} t + \mathbf{z}) e^{\lambda t} \quad (2.17)$$

donde \mathbf{z} es un autovector generalizado que satisface

$$(\mathbf{A} - \lambda \mathbf{I}) \mathbf{z} = \mathbf{v} \quad (2.18)$$

Como se puede observar la solución ahora envuelve términos como $t \exp[\lambda t]$ y existe únicamente un autovector \mathbf{v} a lo largo del cual las soluciones tienden a $(0, 0)$. El término $t \exp[\lambda t]$ es la expresión dominante en la solución en lugares lejanos del $(0, 0)$. Esto es llamado un **nodo de singularidad Tipo II**, un ejemplo es mostrado en la Fig. 2.7. El nodo es estable si $\lambda < 0$ e inestable si $\lambda > 0$.

- (b) Si las soluciones no contienen el término $t \exp[\lambda t]$ se tiene una **estrella**, la cual puede ser estable ($\lambda < 0$) o inestable ($\lambda > 0$). Las trayectorias en forma de estrella se muestran en la Fig. 2.8.

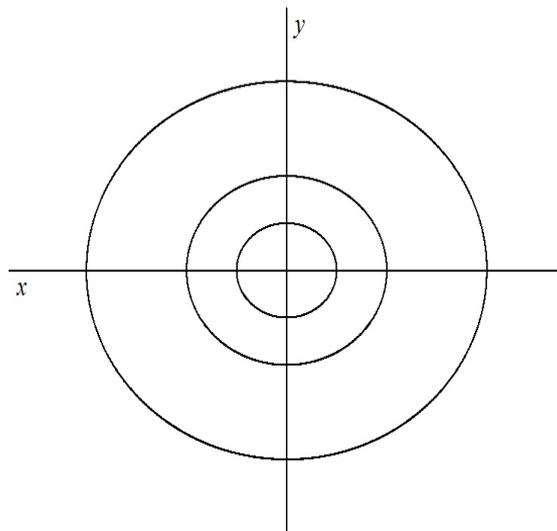


Figura 2.6: Curvas de fase mostrando elipses

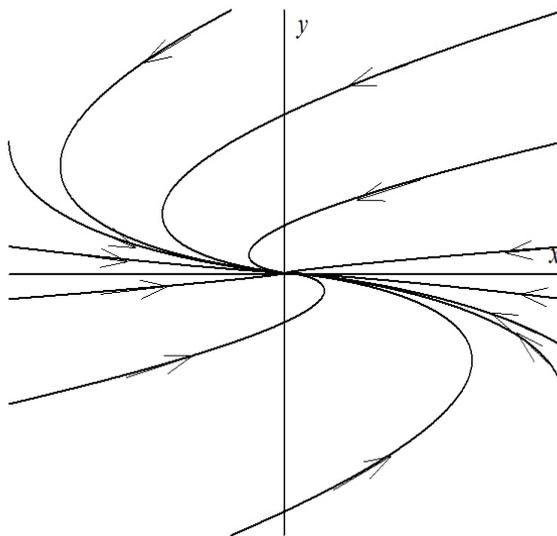


Figura 2.7: Curvas de fase mostrando un nodo tipo II

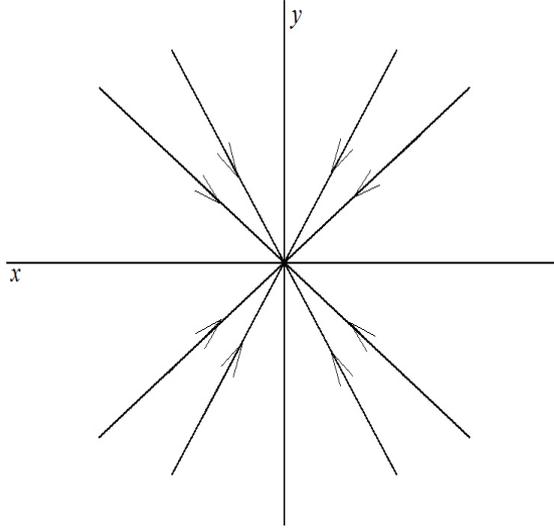


Figura 2.8: Curvas de fase mostrando una estrella

2.4. Condiciones de Routh-Hurwitz

La estabilidad lineal de los sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias concernientes a modelos de poblaciones interactuantes es determinado por las raíces de un polinomio. El análisis de estabilidad referido envuelve sistemas lineales de la forma:

$$\frac{d\mathbf{X}}{dt} = \mathbf{A}\mathbf{X} \quad (2.19)$$

donde $\mathbf{X} = x - x_s$ es la perturbación hecha al sistema a partir del estado estacionario x_s y \mathbf{A} es la matriz de los términos linealizados de la interacción no-lineal. \mathbf{A} es la matriz Jacobiana con respecto del estado estacionario. Las soluciones son obtenidas haciendo

$$\mathbf{X} = \mathbf{X}_0 e^{\lambda t} \quad (2.20)$$

donde \mathbf{X}_0 es el autovector correspondiente a cada uno de los autovalores λ , estos autovalores λ son raíces del **polinomio característico**

$$|A - \lambda I| = 0 \quad (2.21)$$

donde I es la matriz identidad. La solución $\mathbf{X} = 0$ es estable si todas las raíces λ del polinomio característico caen en el lado izquierdo del plano complejo; es decir si $\text{Re}\lambda < 0$ para todas las raíces λ . Si esto se cumple entonces

$\mathbf{X} \rightarrow 0$ exponencialmente cuando $t \rightarrow \infty$ y por consecuencia $\mathbf{X} = 0$ es estable a pequeñas perturbaciones (lineales).

Si el sistema es de orden n -ésimo, el polinomio característico puede ser tomado de forma general

$$P(\lambda) = a_0\lambda^n + a_1\lambda^{n-1} + \dots + a_n = 0 \quad (2.22)$$

donde los coeficientes a_i , $i = 0, 1, \dots, n$ son todos reales. Se asume $a_n \neq 0$ ya que de no ser así $\lambda = 0$ es una solución y el polinomio sería de orden $n - 1$. El criterio de Routh-Hurwitz sirve para analizar la estabilidad de los sistemas dinámicos. El criterio es establecido a partir de los coeficientes del polinomio característico.

2.4.1. Procedimiento en el Criterio de Routh-Hurwitz

1. Escribir el polinomio en λ de la siguiente forma

$$P(\lambda) = a_0\lambda^n + a_1\lambda^{n-1} + \dots + a_n = 0$$

2. Si alguno de los coeficientes es cero o negativo, ante la presencia de al menos un coeficiente positivo, hay una raíz o raíces imaginarias que tienen parte real positiva. En tal caso el sistema no es estable. La condición necesaria pero no suficiente es que todos los coeficientes deben estar presentes y tengan el mismo signo, por ejemplo que todos sean positivos.
3. Si todos los coeficientes son positivos, ordene los coeficientes del polinomio en renglones y columnas de acuerdo con el patrón o arreglo siguiente:

$$\begin{array}{cccccc} s^n & a_0 & a_2 & a_4 & a_6 & \dots \\ s^{n-1} & a_1 & a_3 & a_5 & a_7 & \dots \\ s^{n-2} & b_1 & b_2 & b_3 & b_4 & \dots \\ s^{n-3} & c_1 & c_2 & c_3 & c_4 & \dots \\ s^{n-4} & d_1 & d_2 & d_3 & d_4 & \dots \\ \vdots & \vdots & \vdots & & & \\ s^2 & e_1 & e_2 & & & \\ s^1 & f_1 & & & & \\ s^0 & g_1 & & & & \end{array}$$

Los coeficientes $b_1, b_2, b_3, b_4, c_1, c_2, c_3, c_4, \dots, f_1$ y g_1 , se evalúan del

siguiente modo:

$$\begin{array}{lll}
 b_1 = \frac{a_1 a_2 - a_0 a_3}{a_1} & c_1 = \frac{b_1 a_3 - a_1 b_2}{b_1} & d_1 = \frac{c_1 b_2 - b_1 c_2}{c_1} \\
 b_2 = \frac{a_1 a_4 - a_0 a_5}{a_1} & c_2 = \frac{b_1 a_5 - a_1 b_3}{b_1} & d_2 = \frac{c_1 b_3 - b_1 c_3}{c_1} \\
 b_3 = \frac{a_1 a_6 - a_0 a_7}{a_1} & c_3 = \frac{b_1 a_7 - a_1 b_4}{b_1} & \\
 \vdots & \vdots & \vdots
 \end{array}$$

La evaluación continua hasta que todos los coeficientes restantes sean cero.

El criterio de estabilidad de Routh-Hurwitz plantea que el número de raíces de la ecuación con partes reales positivas es igual al número de cambios de signo de los coeficientes de la primera columna del arreglo. La condición necesaria y suficiente para que todas las raíces de la ecuación se encuentren en el semiplano izquierdo del plano λ es que todos los coeficientes de la ecuación sean positivos y que todos los términos de la primera columna del arreglo tengan signo positivo.

Capítulo 3

Modelos Para la Enfermedad de Chagas

Modelos Para la Interacción del Sistema Inmune y el *Tripanosoma Cruzi*

3.1. Modelo de Velasco-Hernandez y Perez-Chavela

En este trabajo los autores presentan un modelo de interacción entre el sistema inmune de un organismo mamífero hospedador y el parásito *Tripanosoma cruzi* [36]. El modelo tiene en cuenta las formas extracelular (tripomastigote) e intracelular (amastigote) del parásito, representadas por las variables x e y respectivamente; también incluye el número z de células dañadas por la infección, los linfocitos no-activados u , y los linfocitos activados v que intervienen en la defensa en contra del parásito.

Los autores concentran sus esfuerzos en describir la acción de los macrófagos y las células T ya que según ellos son estas subpoblaciones de células las responsables de la defensa en contra del patógeno que causa la enfermedad de Chagas [37, 38].

El modelo supone que los parásitos crecen exponencialmente a una tasa b en ausencia de la respuesta inmune. El control de los parásitos depende de la captura y destrucción por parte de los macrófagos y las células T activas. Los tripomastigotes, amastigotes y células infectadas son capturados con tasas μ_0 , ϵ y δ respectivamente. La proliferación de las células z esta dada por la función $f(x, y, z)$. Las células T inactivas se producen a una tasa Λ y se activan por medio del contacto con los tripomastigotes, amastigotes y las células

infectadas. La activación de las células T ocurre a tasas k_j , con $j = 0,1,2$ para cada clase de célula (tripomastigotes, amastigotes y células infectadas). Cuando las células T son activadas ellas empiezan el proceso de replicación a una tasa β . Los autores también suponen que la captura y destrucción de patógenos y células infectadas inmoviliza las células T activas previniéndolas de futuras actividades. Este fenómeno ocurre a una tasa α_j , con $j = 0,1,2$ para cada clase de célula (tripomastigotes, amastigotes y células infectadas). Ambos tipos de células T mueren a una tasa μ_1 . Las tasas de muerte de las células infectadas y las dos formas del parásito (tripomastigotes y amastigotes) son γ y r respectivamente.

$f(x, y, z)$ es la tasa de proliferación de z y se supone que entre más tripomastigotes se encuentren circulando por el torrente sanguíneo mayor es la tasa de internalización i (la tasa a la cual los tripomastigotes penetran en las células del organismo hospedador) y por ende, mayor la producción de amastigotes dentro de las células del hospedero. Entonces f debe satisfacer,

$$f(0, 0, 0) = 0, \quad \frac{\partial f(x, y, z)}{\partial x} \geq 0, \quad \frac{\partial f(x, y, z)}{\partial y} \geq 0,$$

y para x_∞, y_∞ fijos,

$$f(x_\infty, y_\infty, z) = g(z) \geq 0, \quad \frac{dg(z)/z}{dz} \leq 0,$$

La última condición implica un efecto de saturación sobre la tasa de crecimiento para grandes cantidades de z . Las condiciones iniciales típicas para el comienzo de la enfermedad de Chagas son $x(0) = x_0$, $u(0) = u_0$ y las demás variables son cero.

Luego las ecuaciones del modelo son:

$$\frac{dx}{dt} = by - (i + r)x - \mu_0 vx \quad (3.1)$$

$$\frac{dy}{dt} = ix - ry - \epsilon vy \quad (3.2)$$

$$\frac{dz}{dt} = f(x, y, z) - \gamma z - \delta vz \quad (3.3)$$

$$\frac{du}{dt} = \Lambda - \mu_1 u - G(x, y, z)u \quad (3.4)$$

$$\frac{dv}{dt} = G(x, y, z)u + F(v)v - H(x, y, z)v - \mu_1 v \quad (3.5)$$

donde $G(x, y, z) = k_0x + k_1y + k_2z$, $H(x, y, z) = \alpha_0x + \alpha_1y + \alpha_2z$. El término $F(v)v$ representa el crecimiento de los linfocitos activados bajo inmunosupresión¹ con $F(v) = \beta(1 - \frac{s}{\beta}v)$.

El modelo exhibe la existencia de múltiples estados estacionarios como resultado final de la enfermedad. En un principio, se encuentran dos estados libres de la enfermedad si $f(0, 0, 0) = 0$, el primero representa un organismo hospedador en estado saludable (nunca ha contraído la enfermedad),

$$(x^*, y^*, z^*, u^*, v^*) = (0, 0, 0, m_1^{-1}, 0), \quad m_1 = \mu_1/(i+r)$$

el segundo describe un organismo hospedero que se ha curado después de contraer la infección,

$$(x^*, y^*, z^*, u^*, v^*) = (0, 0, 0, m_1^{-1}, \frac{K(\beta^\bullet - m_1^{-1})}{\beta^\bullet}), \quad \beta^\bullet > m_1, \quad \beta^\bullet = \beta/(i+r) \quad (3.6)$$

y que permanece con cierto nivel de linfocitos activados como respuesta a una inmunidad adquirida.

Al considerar el caso no trivial cuando $f(x_\infty, y_\infty, z) = g(z)$ para $z > 0$, los autores suponen que el número de células dañadas puede crecer sin la presencia del parásito, ya que el T. cruzi se esconde dentro de las células y sus antígenos atacan a las membranas de las células. La producción de las células dañadas puede ser vista como consecuencia de parásitos pasando a las células vecinas a través de la penetración de las membranas celulares, o como consecuencia de mitosis: cierto número de parásitos permanecen adheridos a la membrana de las células hijas. Luego toman $x_\infty = 0$ y $y_\infty = 0$, suponiendo que aunque desaparezca el ataque del parásito, las células dañadas pueden permanecer. Para eso suponen

$$g(z) = zh(z), \quad dh(z)/dz < 0, \quad g(0) = 0.$$

Los autores advierten que esta hipótesis es una aproximación muy ingenua a la difusión del antígeno a través de las células hijas o la penetración del tripanosoma a través de la membrana celular.

Puesto que $x^* = y^* = 0$ es un estado estacionario de las Ecs. 3.29 y 3.30, asintóticamente como el tiempo transcurre hacia infinito se tiene el sistema limitante

$$\frac{dz}{dt'} = zh(z) - \gamma'z - d\tilde{v}z, \quad (3.7)$$

$$\frac{d\tilde{u}}{dt'} = 1 - \tilde{u}m_1 - k_2^\bullet z\tilde{u} \quad (3.8)$$

¹es el acto donde el sistema inmune reduce su activación o eficacia de sí mismo.

$$\frac{d\tilde{v}}{dt'} = k_2^\bullet z \tilde{u} + \tilde{v} \hat{F}(\tilde{v}) - \alpha_2^\bullet z \tilde{v} - m_1 \tilde{v} \quad (3.9)$$

donde se hace $h(z) = \rho(1 - z/\theta)$ solo para obtener resultados explícitos. ρ es un parámetro de la velocidad de difusión del antígeno sobre la células hijas que depende de la tasa de mitosis y de la concentración de antígeno en las membranas de la célula madre “original”, y de la cantidad de amastigotes dentro de ellas; θ representa el número maximo de células dañadas que pueden ser producidas en este proceso. $t' = (i+r)t$, $\tilde{u} = (i+r)u/\Lambda$, $\tilde{v} = (i+r)v/\Lambda$, $\gamma' = \gamma/(i+r)$, $k_j^\bullet = k_j/(i+r)$, $\alpha_j^\bullet = \alpha_j/(i+r)$ y $\hat{F}(\tilde{v}) = \beta^\bullet(1 - K^{-1}\tilde{v})$ y $K^{-1} = s\Lambda/\beta(i+r)$.

Igualando a cero las Ecs. 3.35, 3.36 y 3.37, resolviendo la ecuación para \tilde{u} , sustituyendo las expresiones resultantes en las otras dos ecuaciones, y después de un procedimiento algebraico se obtiene la ecuación cuyos ceros dan los valores de z en equilibrio:

$$\frac{k_2^\bullet z}{m_1 + k_2^\bullet z} - a_0 - a_1 z - a_2 z^2 = 0 \quad (3.10)$$

donde

$$\begin{aligned} a_0 &= \frac{(\beta^\bullet - m_1)(\rho - \gamma')}{d} (\mathfrak{S}_0 - 1) \\ a_1 &= \frac{\rho(\beta^\bullet - m_1)}{d\theta} (1 - \mathfrak{S}_0) \\ a_2 &= \frac{\alpha_2^\bullet \rho}{d\theta} (\mathfrak{S}_1 - 1), \end{aligned}$$

con

$$\begin{aligned} \mathfrak{S}_0 &= \frac{\beta^\bullet(\rho - \gamma')}{dK(\beta^\bullet - m_1)} \\ \mathfrak{S}_1 &= \frac{\beta^\bullet \rho}{\alpha_2^\bullet dK\theta} \end{aligned}$$

Los autores hacen entonces $\frac{k_2^\bullet z}{m_1 + k_2^\bullet z} = a_0 + a_1 z + a_2 z^2$, y establecen que los puntos donde se intersectan esas curvas son los puntos de equilibrio biológicamente factibles. Hacen hincapie en el parámetro \mathfrak{S}_1 , diciendo que este puede ser tomado como una especie de número de reproducción básico. \mathfrak{S}_1 mide el número total de contactos producidos entre z y \tilde{v} durante el tiempo total (reescalado). Este parámetro umbral actúa al revés del número de reproducción básico estandar que se conoce. Si $\mathfrak{S}_1 > 1$ el número de contactos entre z y \tilde{v} es bastante alto lo cual haría desaparecer la población z de las células infectadas. Si $\mathfrak{S}_1 < 1$ el número de contactos es bajo con lo cual aumenta el

número de células infectadas z .

Los autores comentan que a medida que la enfermedad avanza, se darán los cambios en el valor umbral del parámetro \mathfrak{S}_1 . La trayectoria particular seguida durante la progresión de la enfermedad junto con los diferentes estados estacionarios predichos por el modelo, podrían estar relacionados con los estados de la enfermedad en el organismo portador (agudo, crónico y final). La importancia de este trabajo radica en que incluye los ciclos reproductivos del *Tripanosoma* dentro del hospedador mamífero en el modelo. Se diferencia del modelo aquí propuesto en que ellos modelan la respuesta inmune celular, mientras nosotros empezamos modelando la respuesta inmune humoral (una de las contribuciones de esta tesis es la extensión del modelo incorporando la respuesta inmune celular, esto se muestra en el Capítulo 6). Si bien el modelo de Velazco-Hernandez [36] intenta describir la dinámica de interacción de la respuesta inmune y el *T. cruzi*, el mismo resulta especulativo dado que fuerzan al modelo a convertirse en un problema autoinmune. Esto es una idea característica de aquellos años donde se creía que la enfermedad de Chagas era crónica debido a la respuesta inmune. Además el modelo no fue comparado con datos experimentales para examinar sus predicciones, lo cual es advertido en el trabajo.

3.2. Modelo de Oliveira

El trabajo de Oliveira presenta dos modelos matemáticos de interacción entre el sistema inmune y el *T. Cruzi* [39]. Los modelos describen la interacción del parásito, en el primero con la respuesta inmune humoral y en el segundo con la respuesta inmune celular.

a. Modelado de la Inmunidad Humoral:

En este modelo se describe la respuesta inmunológica humana mediante un estímulo antigénico provocado por la infección con *T. cruzi*. La dinámica del sistema inmunológico humoral interactuando con el parásito *T. cruzi* se produce cuando antígenos libres del *T. cruzi* presentes en el torrente sanguíneo en forma de tripomastigotes activan directamente los linfocitos B o células B. Las células B pasan por un proceso de diferenciación transformándose algunas en células plasmáticas que producen el anticuerpo para luego secretarlo y circular por el torrente sanguíneo. Los anticuerpos al circular por el torrente sanguíneo se encuentran con los antígenos del parásito, quedando ambos inhabilitados.

El modelo considera que el tripomastigote (representado por la variable T) circula en la sangre y entra en una célula-diana² del organismo hospedador. Los tripomastigotes se diferencian a amastigotes y se replican por fisión binaria dentro de las células-diana. Esta replicación está limitada por la disponibilidad de las células-diana (fagócitos mononucleares, células musculares, células adiposas y neuronas), el lugar donde ocurren las síntesis proteicas para su replicación. Una parte de esta población T son eliminados naturalmente a una tasa de mortalidad μ_T , y otra parte son eliminados por el organismo a una tasa ϵ .

La eliminación de la población parasitaria T . cruzi ocurre principalmente a través de los encuentros con los anticuerpos. Los anticuerpos son proporcionales a la cantidad de células plasmáticas que los producen, designadas por B_p . En el modelo se considera que la concentración de anticuerpos es proporcional a B_p y que en contacto con el parásito se provoca la muerte del mismo.

Antes de penetrar la célula, el T . cruzi pasa un tiempo muy corto en la corriente sanguínea donde comienzan los procesos iniciales de reconocimiento con el objetivo de infectar las células-diana. En el modelo este proceso de infección está representado por el término αTC , donde α es el coeficiente de infección parasitaria. Después de la penetración, las células-diana pasan a ser infectadas y toda su estructura celular es desviada para favorecer la replicación del parásito, lo que resulta en la liberación de un número τ de parásitos y la muerte celular.

La respuesta inmunológica humoral en este modelo es representada directamente por la actuación de las células B. El encuentro de una célula B con un T . cruzi desencadena su activación, la cual ocurre a una tasa β . El proceso de presentación del T . cruzi a las células presentadoras de antígenos (células “Natural Killer” (NK), neutrófilos, macrófagos y eosinófilos) viene como resultado de un reconocimiento de un organismo que debe ser eliminado y también está incluido en el modelo en el término ϵTB_p . B_p representa las células B activadas o células plasmáticas, las cuales encuentran a un T . cruzi a través de un estímulo de citocinas y empiezan un proceso de clonación a una tasa γ descrito por el término $\gamma B_p T$. La activación de las células B es proporcional a la concentración del número de T . cruzi, descrito por el término βTB . Los parámetros que intervienen en el modelo se describen en el Cuadro 3.2. Tomando las consideraciones expuestas anteriormente, la interacción del T . cruzi y el sistema inmune humoral puede ser descrita a

²célula que puede ser penetrada por un tripomastigote

Variable/Parámetro	Definición	Dimensión
T	Población de T. cruzi	Conc.
B	Población de células B	Conc.
C	Población de células-diana	Conc.
B_p	Población de células B activadas	Conc.
α	Tasa de infección del T. cruzi	Conc. $\times t^{-1}$
β	Tasa de interacción Células B y T. cruzi	Conc. $\times t^{-1}$
ϵ	Tasa de eficiencia de anticuerpos	Conc. $\times t^{-1}$
γ	Tasa de clonaje de células B	Conc. $\times t^{-1}$
τ	Coefficiente de replicación de T. cruzi	Adimensional
κ_c	Tasa de producción de células-diana	Conc. $\times t^{-1}$
κ_b	Tasa de producción de células B	Conc. $\times t^{-1}$
μ_c	Tasa de mortalidad de células-diana	t^{-1}
μ_p	Tasa de mortalidad de células B	t^{-1}

Cuadro 3.1: Definición de las variables y parámetros que intervienen en el modelo. Conc. y t significan concentración y tiempo respectivamente.

través del siguiente sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias:

$$\frac{dT}{dt} = \tau\alpha TC - \mu_T T - \epsilon T B_p \quad (3.11)$$

$$\frac{dC}{dt} = \kappa_c - \mu_C C - \alpha TC \quad (3.12)$$

$$\frac{dB}{dt} = \kappa_b - \mu_b B - \beta TB \quad (3.13)$$

$$\frac{dB_p}{dt} = \beta TB - \mu_p B_p + \gamma B_p T \quad (3.14)$$

con la región de interés biológico:

$$\Omega = \{(T, C, B, B_p) \in R^4 | T \geq 0, C \leq C_0, B \geq 0, B_p \geq 0\}, \quad (3.15)$$

donde $C_0 = \frac{\kappa_c}{\mu_c}$ es la población de células-diana antes de la infección parasitaria. Al buscar los estados estacionarios, encontramos un primer estado trivial $\bar{P}_{e0} = (0, \frac{\kappa_c}{\mu_c}, \frac{\kappa_b}{\mu_b}, 0)$. La autora asocia este punto a una situación biológica donde no ha ocurrido la infección o se ha dado un proceso de curación después de haber contraído la infección. A este estado \bar{P}_{e0} se le evalúa su estabilidad. Primero se establece la matriz jacobiana del sistema de ecuaciones asociada al estado estacionario. Se analizan las raíces de la ecuación característica

dada por $\det(J - \lambda I)$ y además se utiliza el criterio de Routh-Hurwitz. El resultado arrojado es que este estado es local y asintóticamente estable si $\alpha < \alpha^*$, donde $\alpha^* = \frac{\mu_c \mu_t}{\tau \kappa_c}$. También prueba que este estado es globalmente estable usando el concepto de las funciones de Liapunov.

El segundo estado estacionario encontrado es un estado no trivial dado por $P = (\bar{T}, \bar{C}, \bar{B}, \bar{B}_p)$ en el que

$$\begin{aligned}\bar{C} &= \frac{\kappa_c}{\mu_c + \alpha \bar{T}} \\ \bar{B} &= \frac{\kappa_b}{\mu_b + \beta \bar{T}} \\ \bar{B}_p &= \frac{\beta \kappa_b \bar{T}}{(\mu_b + \beta \bar{T})(\mu_p - \gamma \bar{T})}\end{aligned}$$

y debe cumplir $(\bar{T}, \bar{C}, \bar{B}, \bar{B}_p) \geq 0$. Para que se cumpla la condición anterior se debe dar $\gamma < \frac{\mu_p}{\bar{T}} = \gamma^*$. El valor de \bar{T} se toma como la raíz positiva de una ecuación de tercer grado establecida por la autora.

b. Modelado de la Inmunidad Celular:

La inmunidad celular acontece cuando los antígenos presentes en las células infectadas activan los linfocitos T citotóxicos específicos que originan los linfocitos T de memoria y los linfocitos T citotóxicos activos. Los linfocitos T citotóxicos perforan la membrana de la célula infectada para destruirla. En el modelo no se analizan las células T de memoria.

En este modelo no se incluye la acción del sistema inmunológico en contra del parásito en la corriente sanguínea pues esa es función de los anticuerpos y ya se describió anteriormente. Ahora toda la atención es direccionada hacia las células infectadas por el parásito cuando actúan los linfocitos T citotóxicos en su eliminación.

La eliminación de la población parasitaria a través de las células infectadas ocurre principalmente por el encuentro de estas con los linfocitos T citotóxicos, producidos para tal fin. En el modelo se considera que la concentración de los linfocitos T citotóxicos es proporcional a los linfocitos T citotóxicos activos L_a , los cuales en contacto con las células infectadas, a través de citocinas especiales provocan la muerte de la célula y por ende del parásito también. Los parásitos infectan las células-diana a una tasa α y el proceso de infección es representado por el término αTC .

Debido a la homeostasis³ se asume que las células-diana (fagócitos mo-

³es una propiedad de los organismos vivos que consiste en su capacidad de mantener una

Variable/Parámetro	Definición	Dimensión
T	Población de T. cruzi	Conc.
C	Población de células B	Conc.
I	Población de células infectadas	Conc.
L	Población de LTC	Conc.
L_a	Población de LTC activos	Conc.
α	Tasa de infección del T. cruzi	Conc. $\times t^{-1}$
β	Tasa de interacción LTC y T. cruzi	Conc. $\times t^{-1}$
ϵ	Tasa de eficiencia de LTC activos	Conc. $\times t^{-1}$
γ	Tasa de clonaje de LTC	Conc. $\times t^{-1}$
τ	Coefficiente de replicación de T. cruzi	Adimensional
κ_c	Tasa de producción de células-diana	Conc. $\times t^{-1}$
κ_l	Tasa de producción de LTC específicos	Conc. $\times t^{-1}$
μ_c	Tasa de mortalidad de células-diana	t^{-1}
μ_l	Tasa de mortalidad de LTC específicos	t^{-1}
μ_a	Tasa de mortalidad de LTC activos	t^{-1}

Cuadro 3.2: Definición de las variables y parámetros que intervienen en el modelo de inmunidad celular. Conc., t y LTC significan concentración, tiempo y linfocitos T citotóxicos respectivamente.

nonucleares, células musculares, células adiposas y neuronas) son producidas a una tasa κ_c y mueren a una tasa μ_c . Las células infectadas del sistema inmunológico decrecen por dos razones: por muerte natural a una tasa μ_i o por la infección causada por el parásito por medio de una tasa μ_{iv} .

La respuesta inmunológica celular esta representada por la actuación de los linfocitos T citotóxicos específicos. Se considera que el encuentro de los linfocitos T citotóxicos específicos con los T. cruzi se produce a una tasa β y desencadena la activación de los mismos. Una vez el linfocito esta activado, destruye a las células infectadas I a una tasa ϵ . Al encontrarse un linfocito T activo con un T. cruzi se liberan citocinas que estimulan la clonación de los lifocitos T activos a una tasa γ , lo cual es descrito por el término $\gamma L_a T$. La activación de los linfocitos T citotóxicos específicos es proporcional a la concentración de T. cruzi descrito por el término βLT .

Los parámetros del modelo son descritos en la Cuadro 3.3. Teniendo en cuenta lo descrito anteriormente, el modelo para describir la interacción entre el

condición interna estable compensando los cambios en su entorno mediante el intercambio regulado de materia y energía con el exterior (metabolismo).

sistema inmune celular y el parásito *T. cruzi*, a través de las células infectadas esta dado por el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias:

$$\begin{aligned}\frac{dT}{dt} &= -\mu_t T + (\mu_i + \mu'_i)I \\ \frac{dC}{dt} &= \kappa_c - \mu_c C - \alpha TC \\ \frac{dI}{dt} &= \alpha TC - (\mu_i + \mu'_i)I - \epsilon I L_a \\ \frac{dL}{dt} &= \kappa_l - \mu_l L - \beta TL \\ \frac{dL_a}{dt} &= \beta LT - \mu_a L_a + \gamma L_a T\end{aligned}$$

donde la región de interés biológico es

$$\Omega = \{(T, C, I, L, L_a) \in R^5 | T \geq 0, C \leq C_0, I \geq 0, L \leq L_0, L_a \geq 0\},$$

$C_0 = \frac{\kappa_c}{\mu_c}$ y $L_0 = \frac{\kappa_l}{\mu_l}$ son las cantidades de células-diana y linfocitos T citotóxicos antes de la infección parasitaria respectivamente. Al buscar los estados estacionarios se encuentran un estado trivial dado por $\bar{P}_0^* = (0, C_0, 0, L_0, 0)$, el cual es local, global y asintóticamente estable si $\alpha < \alpha^*$. Su estabilidad se evaluó de la misma forma que en el modelo anterior. El otro estado estacionario es $P^* = (\bar{T}, \bar{C}, \bar{I}, \bar{L}, \bar{L}_a)$ donde

$$\begin{aligned}\bar{T} &= \frac{\tau(\mu_i + \mu_{i'})\bar{I}}{\mu_t} \\ \bar{C} &= \frac{\kappa_c \mu_t}{\mu_c \mu_t + \alpha \tau(\mu_i + \mu_{i'})\bar{I}} \\ \bar{L} &= \frac{\kappa_l \mu_t}{\mu_l \mu_t + \beta \tau(\mu_i + \mu_{i'})\bar{I}} \\ \bar{L}_a &= \frac{\beta \kappa_l \mu_t \tau(\mu_i + \mu_{i'})\bar{I}}{[\mu_a \mu_t - \gamma \tau(\mu_i + \mu_{i'})\bar{I}][\mu_l \mu_t + \beta \tau(\mu_i + \mu_{i'})\bar{I}]}\end{aligned}$$

Analizando la última coordenada del punto de equilibrio no trivial se puede observar que \bar{L}_a solo existe biológicamente si $\bar{I} < \frac{\mu_a}{\gamma} \mu_t \tau(\mu_i + \mu_{i'})$. El valor de \bar{I} se toma como la raíz positiva de una ecuación de tercer grado establecida por la autora. La estabilidad de este punto no-trivial es demostrada a partir de las condiciones de Routh-Hurwitz.

El trabajo de tesis de Oliveira [39] presenta un modelo para cada una de las respuestas inmune (inmune humoral e inmune celular) generadas por un organismo mamífero. Sin embargo estos modelos no están integrados, lo

cual es una desventaja ya que la respuesta inmune se genera de manera conjunta y los modelos debieran integrarse para dar una idea más general de la interacción parásito-respuesta inmune. Además este trabajo no muestra comparación alguna con datos experimentales que puedan indicar su viabilidad.

3.3. Modelo Sibona-Condato

A continuación se presenta el modelo Sibona-Condato [31], el cual sirve de base para el estudio desarrollado en esta tesis. Este modelo describe la evolución de la fase aguda de la enfermedad de Chagas a través de la competición dinámica entre el parásito *T. cruzi* y las poblaciones de anticuerpos generadas por el sistema inmune de un mamífero para combatir este tipo de infección.

En el modelo la evolución de la población total del parásito, $n(t)$, es descrita por una ecuación diferencial de primer orden [32],

$$\dot{n}(t) = \kappa n(t) - \alpha(t)[A(t)/Z]n(t) \quad (3.16)$$

El primer término representa el crecimiento de la población de parásitos, donde κ simboliza la tasa de reproducción del parásito. Puesto que la reproducción del parásito es asexual y no competitiva se ha tomado una dependencia lineal con n para describir su proceso reproductivo. El segundo término indica el decrecimiento en la población del *T. cruzi* debido a la acción del sistema inmune, donde $\alpha(t)$ es la tasa de eliminación de los parásitos en un encuentro parásito-anticuerpo; $A(t)$ es la población total de anticuerpos y Z el número promedio de anticuerpos que se necesitan para incapacitar un parásito. Debido a que el sistema inmune “aprende” a contrarrestar la infección ya que a medida que transcurre el tiempo produce anticuerpos más específicos para combatir al antígeno [33], se considera que $\alpha(t)$ es una función que varía con el tiempo de la siguiente forma:

$$\alpha(t) = \alpha_A + \alpha_B(1 - e^{-t/T}) \quad (3.17)$$

Esta forma de α describe un suave incremento en el coeficiente desde un valor inicial α_A hasta un valor de saturación $\alpha_A + \alpha_B$. Este aumento ocurre en un tiempo de aprendizaje T . “Aprendizaje” se refiere al incremento de la eficacia de cada especie de anticuerpos.

La población de anticuerpos aumentará debido a la activación inducida por la presencia del parásito y decrecerá por la interacción parásito-anticuerpo.

Tanto el parásito como los anticuerpos quedan inhabilitados después de un encuentro; además los anticuerpos poseen un tiempo de vida intrínseco, simbolizado por τ . Luego la evolución de la población de anticuerpos es descrita por

$$\dot{A}(t) = Gn(t) - \alpha(t)A(t)n(t) - \frac{1}{\tau}[A(t) - A_0] \quad (3.18)$$

El primer término en la ecuación (3.3) indica la generación inducida de los anticuerpos por la presencia del parásito, el segundo la aniquilación o inactivación de los anticuerpos al eliminar un *T. cruzi* y el tercero indica la dinámica de los anticuerpos en ausencia de infección. A_0 es el número de anticuerpos que posee el organismo hospedero al inicio de la infección. Para simplificar se define la población de anticuerpos $a = A/Z$, $a_0 = A_0/Z$ y redefiniendo el coeficiente de la producción de anticuerpos $G = \gamma Z$, se reescriben las ecuaciones anteriores como:

$$\dot{n}(t) = \kappa n(t) - \alpha(t)a(t)n(t) \quad (3.19)$$

y,

$$\dot{a}(t) = \gamma n(t) - \alpha a(t)n(t) - \frac{1}{\tau}[a(t) - a_0] \quad (3.20)$$

A partir de aquí, $a(t)$ puede ser entendido como el número reducido de anticuerpos ya que indica el número de anticuerpos disponibles para eliminar a un parásito. Suponiendo que existan N especies de anticuerpos capaces de mediar en la eliminación del *T. cruzi*, las ecuaciones 3.2, 3.4 y 3.5 serán respectivamente,

$$\alpha_i(t) = \alpha_{A,i} + \alpha_{B,i}(1 - e^{-t/T_i}), \quad (3.21)$$

$$\dot{n}(t) = \kappa n(t) - n(t) \sum_{i=1}^N \alpha_i(t)a_i(t) \quad (3.22)$$

y,

$$\dot{a}_i(t) = \gamma_i n(t) - \alpha_i(t)a_i(t)n(t) - \frac{1}{\tau_i}[a_i(t) - a_{0,i}] \quad (3.23)$$

donde $a_i(t)$ es el número de anticuerpos de la especie i al tiempo t .

Las Ecs. 3.6-3.8 son las ecuaciones que conforman inicialmente el modelo para explicar la dinámica de interacción de un parásito que se replica por fisión binaria y la respuesta inmune humoral de un mamífero.

3.3.1. Estados Estacionarios

Haciendo la derivada temporal en la ecuación 3.7 igual a cero, se obtienen expresiones que permiten encontrar las poblaciones en sus estados estacionarios [31].

$$\begin{aligned}\kappa n(t) - n(t) \sum_{i=1}^N \alpha_i(t) a_i(t) &= 0 \\ \kappa n_s - n_s \sum_{i=1}^N \alpha_i a_{i,s} &= 0 \\ n_s \left(\kappa - \sum_{i=1}^N \alpha_i a_{i,s} \right) &= 0\end{aligned}$$

El subíndice s denota el estado estacionario. Entonces se obtiene que una posibilidad para la población parasitaria en estado estacionario es:

$$n_s = 0, \quad \text{o} \quad (3.24)$$

$$\left(\kappa - \sum_{i=1}^N \alpha_i a_{i,s} \right) = 0 \quad \text{al despejar para } \kappa \text{ se obtiene,}$$

$$\kappa = \sum_{i=1}^N \alpha_i a_{i,s} \quad (3.25)$$

Por otro lado, sumando las N ecuaciones algebraicas resultantes de la ecuación 3.8 e igualando a cero queda:

$$\sum_{i=1}^N \gamma_i n(t) - \sum_{i=1}^N \alpha_i(t) a_i(t) n(t) - \sum_{i=1}^N \frac{1}{\tau_i} [a_i(t) - a_{0,i}] = 0 \quad (3.26)$$

Al sustituir la Ec. 3.10 en el segundo término de la Ec. 3.11 para considerar el comportamiento asintótico de la población de anticuerpos,

$$\sum_{i=1}^N \gamma_i n_s - \kappa n_s - \sum_{i=1}^N \frac{1}{\tau_i} [a_{i,s} - a_{0,i}] = 0$$

y al despejar para n_s se tiene,

$$n_s = \left(\sum_{i=1}^N \gamma_i - \kappa \right)^{-1} \sum_{i=1}^N \frac{1}{\tau_i} [a_{i,s} - a_{0,i}] \quad (3.27)$$

Si la población inicial de anticuerpos es muy baja, es decir, $a_{0,i} = 0$ la única condición para obtener una población parasitaria final finita es

$$\sum_{i=1}^N \gamma_i > \kappa \quad (3.28)$$

A continuación se presenta el análisis considerando una sola especie de anticuerpo y su comportamiento en el régimen asintótico ($t \rightarrow \infty$). En el régimen asintótico $\alpha_i = \alpha_A + \alpha_B = \alpha$ y los casos encontrados son:

- I Curación: si $\gamma > \kappa$ y $\alpha a_0 > \kappa$, se tiene una alta eficiencia de eliminación de los parásitos y una fuerte formación inducida de anticuerpos. El número de anticuerpos regresa asintóticamente a su valor inicial a_0 mientras la población parasitaria desaparece ($n_s = 0$).
- II Enfermedad Crónica: si $\gamma > \kappa > \alpha a_0$, es decir para una fuerte formación inducida de anticuerpos y baja eficiencia de eliminación, el sistema alcanza a tiempos largos un estado estacionario descrito por

$$n_s = \frac{\kappa - \alpha a_0}{\alpha \tau (\gamma - \kappa)} \quad a_s = \frac{\kappa}{\alpha} \quad (3.29)$$

- III Muerte del Organismo Hospedero: si $\gamma < \kappa$ y $\kappa > \alpha a_0$, se tiene una débil producción de anticuerpos sin importar cuán eficientes puedan ser; puesto que no son creados lo suficientemente rápido, ellos no pueden controlar la infección y por ende la población parasitaria crece sin control.

La estabilidad de las soluciones de los estados estacionarios han sido probadas usando el criterio de Routh-Hurwitz [28].

Existe un caso especial que merece consideración por separado. Cuando $\alpha a_0 > \kappa$ (anticuerpos bastante eficientes), $\gamma < \kappa$ (la tasa de producción de anticuerpos es baja en comparación con la de los parásitos) y dependiendo del tamaño de la inoculación inicial de parásitos (n_0), el sistema puede evolucionar al estado de curación o al estado de muerte. Si la población inicial de parásitos es pequeña, $n_0 < n_s$, la población de anticuerpos puede eliminar a la población parasitaria retornando el sistema a sus condiciones iniciales (curación). Pero si $n_0 > n_s$, la población parasitaria crecerá sin lograr ser controlada por el sistema inmune. Esta situación indica que el resultado de la infección puede depender del tamaño de la inoculación inicial de parásitos. La existencia de este caso el cual denotamos IIIb puede ser explicado a través

del siguiente lema:

Lemma. Si $\gamma < \kappa < \alpha a_0$, la desigualdad $n_0 > n_s$ es condición necesaria para el crecimiento incontrolado de la población parasitaria.

Prueba. Por simplicidad, se toma α constante. Bajo las condiciones especificadas, la población parasitaria inicialmente decrece. Sin embargo, la muerte del organismo hospedador implica que esta debe crecer con el tiempo, lo cual sugiere que en algún tiempo intermedio (t_{min}) la población de parásitos pasa por un mínimo $n(t_{min})$. La condición de extremo $\dot{n}(t_{min}) = 0$ implica que $a(t_{min}) = \kappa/\alpha$. El extremo será un mínimo si

$$\begin{aligned} 0 < \left. \frac{\partial^2 n}{\partial t^2} \right|_{t_{min}} &= \kappa \dot{n} - \alpha n(t_{min}) \dot{a} - \alpha a(t_{min}) \dot{n} \\ &= -\alpha n(t_{min}) \dot{a}(t_{min}) \end{aligned} \quad (3.30)$$

donde $\alpha > 0$ y $n(t_{min}) > 0$, entonces $\dot{a}(t_{min}) < 0$. Usando la Ec. 3.8,

$$\begin{aligned} \dot{a}(t_{min}) &= \gamma n(t_{min}) - \alpha a(t_{min}) n(t_{min}) - \frac{1}{\tau} [a(t_{min}) - a_0] < 0 \\ &(\gamma - \alpha a(t_{min})) n(t_{min}) < \frac{1}{\tau} [a(t_{min}) - a_0] \end{aligned}$$

recordando el valor de $a(t_{min})$,

$$(\gamma - \kappa) n(t_{min}) < \frac{1}{\tau \alpha} [\kappa - \alpha a_0]$$

y que $\gamma < \kappa$,

$$n(t_{min}) > \frac{(\kappa - \alpha a_0)}{\tau \alpha (\gamma - \kappa)}$$

entonces

$$n(t_{min}) > n_s \quad (3.31)$$

La condición 3.15 es equivalente a demandar que $n(t_{min}) > n_s$. Por lo tanto, si $n_0 \not> n_s$, la población del parásito decrecerá y eventualmente desaparecerá, dando como resultado final la curación del organismo hospedador.

Para comprender mejor el resultado de la infección parasitaria se construye un diagrama de fase en el plano definido por el crecimiento de las tasas γ y κ . Esto se muestra en la Fig. 3.1, donde la frontera entre los dominios correspondientes a los casos III y IIIb fue encontrada numéricamente para dos poblaciones iniciales de diferente tamaño.

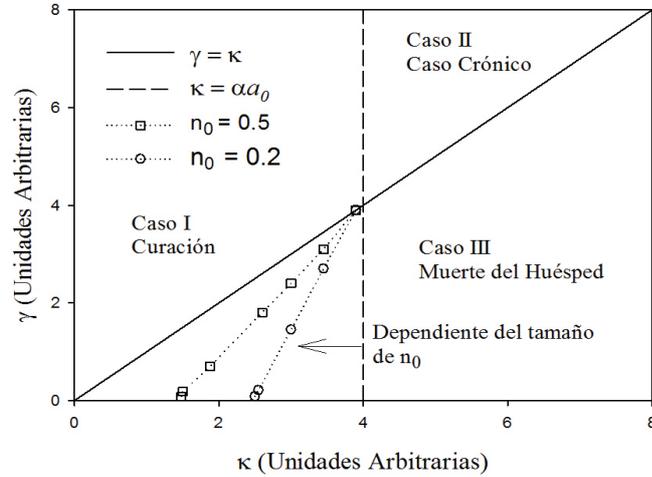


Figura 3.1: Diagrama de fase que describe el resultado de la infección parasitaria en términos de la tasa de reproducción del parásito (κ) y de producción de anticuerpos (γ). La localización de la frontera entre los casos III y IIIb depende del número inicial de parásitos n_0 . Los valores de los parámetros son $a_0 = \tau = 0.1$ y $\alpha = 40$.

3.3.2. Dinámica: Propiedades Generales

En esta sección se analizan las propiedades dinámicas del modelo. El modelo presa-depredador de Lotka-Volterra tiene una constante de movimiento y por consiguiente las órbitas cerradas surgen por que los términos de interacción tienen signos opuestos en las ecuaciones del depredador y la presa. A consecuencia de lo anterior, se produce el incremento en la población depredadora y el decrecimiento en la población de presas. En nuestro modelo tales órbitas cerradas no ocurren, puesto que el término de interacción parásito-anticuerpo tiene el mismo signo en ambas poblaciones lo cual produce una aniquilación de ambas especies.

Se pueden encontrar soluciones numéricas a las Ecs. (3.7) y (3.8) usando métodos de integración numérica para ecuaciones diferenciales ordinarias. Una forma particularmente informativa de presentar estas soluciones es a través de una curva de fase o *retrato de fase*: una vez calculados $a(t)$ y $n(t)$ para cualquier conjunto de parámetros dados, se asigna a cada valor del tiempo un punto en el plano (a, n) . Al juntar esos puntos trazando una línea que sigue por todos ellos, se obtiene una trayectoria que describe la evolución del sistema para cada conjunto de condiciones iniciales. Los retratos de fase

en este trabajo se han construido usando el software Matlab, pero pueden usarse otros como Mathematica o Maple, etc. Algunas propiedades dinámicas de nuestro modelo pueden deducirse al mirar los retratos de fase mostrados en la Fig. 3.2.

En el caso I (Fig. 3.2(a)), debido a una alta tasa de producción y eficiencia de los anticuerpos, la población parasitaria retorna a cero con el tiempo. Mientras la población parasitaria decae monótonamente, la población de anticuerpos exhibe dos comportamientos a tiempos intermedios, dependiendo del valor de α : para $\alpha > \gamma/a_0$, $a(t)$ pasa a través de un mínimo a tiempos intermedios, mientras que para $\alpha < \gamma/a_0$ la población de anticuerpos pasa a través de un máximo, antes de alcanzar su estado final.

En el caso II (Fig. 3.2(b)), las trayectorias de fase en el plano (a, n) exhiben curvas en forma de espiral que terminan en un punto fijo correspondiente a su estado estacionario. Inicialmente ambas poblaciones $a(t)$ y $n(t)$ crecen bruscamente en tiempos muy cortos, para después seguir oscilando amortiguadamente y alcanzar su estabilidad. Esto se produce como consecuencia de la alta tasa de producción de anticuerpos (γ) y su baja avidéz (α). Para detener el crecimiento de las poblaciones $a(t)$ y $n(t)$, se produce un rápido incremento en el término negativo del encuentro parásito-anticuerpo, lo cual induce un decrecimiento en ambas poblaciones. Este decrecimiento simultáneo de ambas poblaciones causa que el lado derecho de la Ec. (3.7) llegue a ser positivo. Consecuentemente, la población de parásitos comienza a incrementarse de nuevo lo cual desencadena un repunte en la población de anticuerpos.

En el caso III, la población de parásitos crece monótonicamente con el tiempo debido a su alta tasa de replicación mientras el número de anticuerpos va a una constante finita. Para valores grandes de n , a partir de la Ec. 3.8 se requiere que $\gamma = \alpha a_s$, con lo cual obtenemos el valor asintótico para el número de anticuerpos

$$a_s \approx a(t \rightarrow \infty) \approx \frac{\gamma}{\alpha} \quad (3.32)$$

La población de anticuerpos está determinada por su tasa de producción y avidéz, mas no por la tasa de reproducción de los parásitos, como en el caso II. La población de parásitos crece exponencialmente como

$$n(t \rightarrow \infty) \sim \exp[(\kappa - \gamma)t] \quad (3.33)$$

Puesto que $\dot{n}(t=0) < 0$, $n(t)$ debe tener un mínimo en un tiempo intermedio antes de ir a su valor asintótico. Esto es observado en la Fig. 3.2(c), la

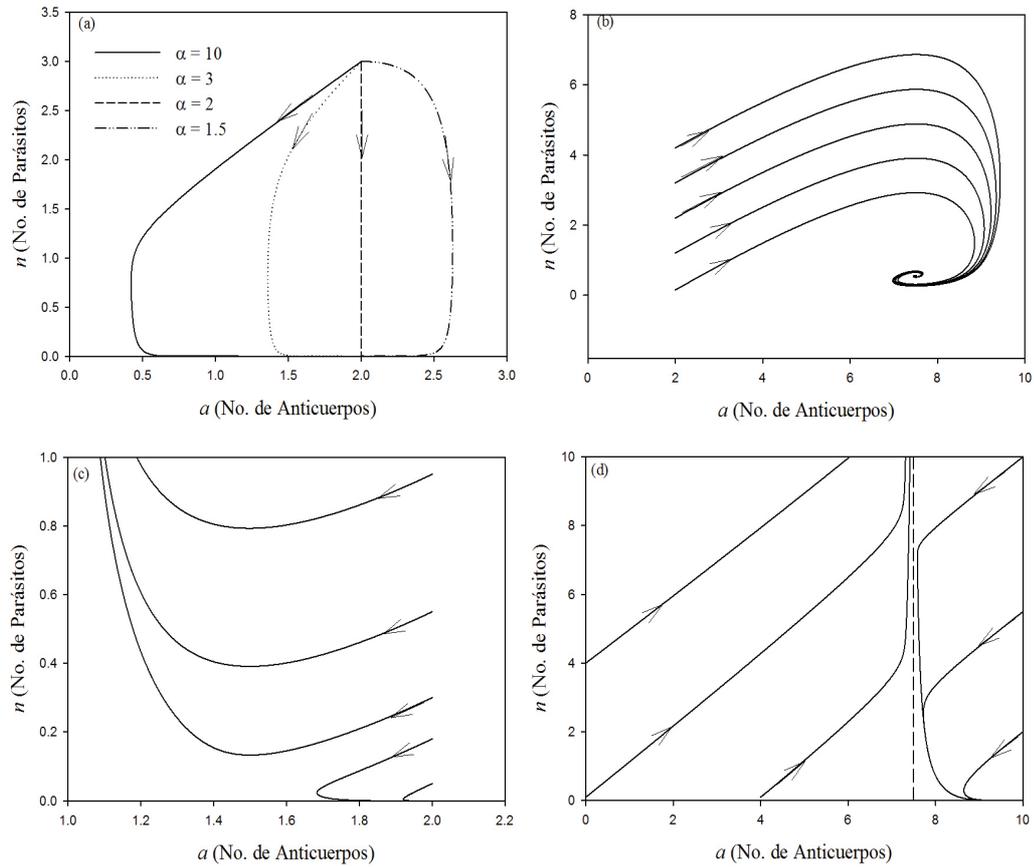


Figura 3.2: Retratos de fase que describen la trayectoria de la población de parásitos y anticuerpos. En todos los casos, $\tau = 10$ y $\kappa = 3$. (a) Caso I: Curación, $\gamma = 4$, el sistema converge a $(a_s = a_0, n_s = 0) = (2, 0)$. (b) Caso II: Crónico, $\alpha = 0.4$ y $\gamma = 4$. Se nota una convergencia oscilatoria hacia $(a_s, n_s) = (7.5, 0.55)$ sin importar el tamaño de la inoculación n_0 . (c) Caso IIIb, $\alpha = 2$ y $\gamma = 2$. Evolución hacia el caso de muerte $(1, \infty)$ o curación dependiendo del tamaño de la inoculación inicial n_0 . (d) Caso fronterizo $\gamma = \kappa = 3$, $\alpha = 0.4$. Si $\kappa > \alpha a_0$ las trayectorias de fase convergen a $(\kappa/\alpha, \infty)$, mientras que si $\kappa < \alpha a_0$ las poblaciones tienden al atractor $(a_0, 0)$, su convergencia no depende de n_0 .

cual muestra también que la condición inicial $a_0 > \kappa/\alpha$, y $n_0 < n_s$ conlleva al caso IIIb (curación condicionada por la inoculación inicial de parásitos).

Ahora consideramos el caso fronterizo $\gamma = \kappa$. Consideremos primero para tiempos cortos, entonces $a \rightarrow a_0$. A partir de las Ecs. (3.7) y (3.8) tenemos que $\dot{a}(t) \approx \dot{n}(t) = -(\alpha a_0 - \kappa)n_0$. Ambas poblaciones varían linealmente, con la misma pendiente. El número de anticuerpos tiende hacia κ/α .

Haciendo $a(t) = \kappa/\alpha + R(t)$, las Ecs. (3.7) y (3.8) se transforman respectivamente en

$$\dot{n}(t) = -\alpha R(t)n(t), \quad (3.34)$$

y

$$\dot{R}(t) = \frac{1}{\tau}[a_0 - \kappa/\alpha - R(t)] - \alpha R(t)n(t) \quad (3.35)$$

Dividiendo por α ambos miembros de la Ec. (3.20)

$$\frac{\dot{R}(t)}{\alpha} = \frac{1}{\alpha\tau}[a_0 - \kappa/\alpha] - \frac{R(t)}{\alpha\tau} - R(t)n(t)$$

Haciendo $\Delta = (1/\alpha\tau)(a_0 - \kappa/\alpha)$ y tomando factor común $R(t)$, la expresión anterior nos queda:

$$\frac{\dot{R}(t)}{\alpha} = \Delta - \frac{(1 + \alpha\tau n)}{\alpha\tau} R(t)$$

Si se supone que $n(t)$ crece, entonces se tiene la condición $\alpha\tau n \gg 1$, Al buscar el estado estacionario se tiene:

$$0 = \Delta - nR(t)$$

entonces,

$$R(t) = \frac{\Delta}{n} \quad (3.36)$$

Al saber como es $R(t)$ se puede sustituir en la Ec. (3.19) y se obtiene

$$a(t) \simeq \kappa/\alpha \quad \dot{n}(t) \simeq (\kappa/\alpha - a_0)/\tau \quad (3.37)$$

De las expresiones en 3.22 se puede decir que si $\kappa < a_0\alpha$ (la frontera del caso II), $n(t)$ decrece linealmente hasta $\alpha\tau n \approx 1$ y la aproximación $(a(t) \simeq \kappa/\alpha)$ deja de ser satisfecha. Luego, $a(t)$ crece de nuevo hacia su valor asintótico a_0 mientras la población de parásitos $n(t)$ decrece exponencialmente, como $\exp[-(\kappa - \alpha a_0)t]$. Si $\kappa > \alpha a_0$ (frontera del caso I), $n(t)$ crece y la condición $\alpha\tau n \gg 1$ es siempre satisfecha. Consecuentemente, la población de parásitos continuará creciendo linealmente mientras la población de anticuerpos tiende

a κ/α . La Fig. 3.2(d) exhibe los dos resultados completamente diferentes del caso fronterizo $\gamma = \kappa$. Las curvas de la izquierda (pequeños a_0) corresponden a la frontera entre los casos II y III, mientras las de la derecha corresponden a la frontera entre los casos I y III. En concordancia con la explicación del párrafo anterior, en tiempos breves, las trayectorias de fase son líneas rectas paralelas de pendiente uno, lo cual sugiere una dependencia lineal de la población de anticuerpos y parásitos con el tiempo. Para tiempos posteriores, todas las trayectorias donde $a_0 < \kappa/\alpha$ giran bruscamente hacia arriba: $a(t)$ se aproxima al valor κ/α , $n(t)$ crece linealmente con pendiente $(\kappa/\alpha - a_0)/\tau$. Para $a_0 > \kappa/\alpha$, por ejemplo, la frontera entre los casos I y III, $a(t)$ se aproxima a κ/α a tiempos intermedios, mientras que $n(t)$ decrece linealmente. Finalmente cuando n es muy pequeña que la condición $\alpha\tau n \gg 1$ deja de ser satisfecha, $a(t)$ se aproxima a su valor asintótico (a_0) mientras $n(t)$ decae exponencialmente a cero.

3.3.3. Retraso en la Respuesta Inmune

Ahora se consideran los efectos de un retraso en la reacción del sistema inmune a la invasión parasitaria [34]. Este retraso es entendido como el tiempo transcurrido desde que el parásito se introduce en el organismo mamífero hospedero y es fagocitado por un macrófago⁴ hasta que se produce la secreción de anticuerpos por parte de las células B plasmáticas (previamente activadas por la interacción de las células colaboradoras T_H con una célula presentadora de antígeno). El retardo puede ser tomado introduciendo un tiempo de retraso θ_i en el término que representa la generación de anticuerpos en la Ec. (3.8) la cual queda:

$$\dot{a}_i(t) = \gamma_i n(t - \theta_i) - \alpha_i(t) a_i(t) n(t) - \frac{1}{\tau_i} [a_i(t) - a_{0,i}] \quad (3.38)$$

La ecuación para la población de parásitos (Ec. 3.7) permanece igual. La producción de anticuerpos de la especie i está determinada por la población de parásitos presentes en un tiempo $t - \theta_i$ anterior. La ausencia de cambios drásticos por la introducción de este retraso no son sorprendentes, debido a que los diferentes resultados no dependen del tamaño inicial de la población parasitaria sino que depende de los parámetros constantes del modelo. Excepto en el caso IIIb, en el que $\gamma < \kappa < \alpha a_0$, el parásito puede usar el retraso para ganar una ventaja definitiva ya que la frontera que comparte con el caso de muerte sí depende del tamaño de la población parasitaria inicial n_0 . En un principio la población parasitaria n_0 se reproduce libremente,

⁴por este proceso el macrófago se convierte en una célula presentadora de antígeno (APC).

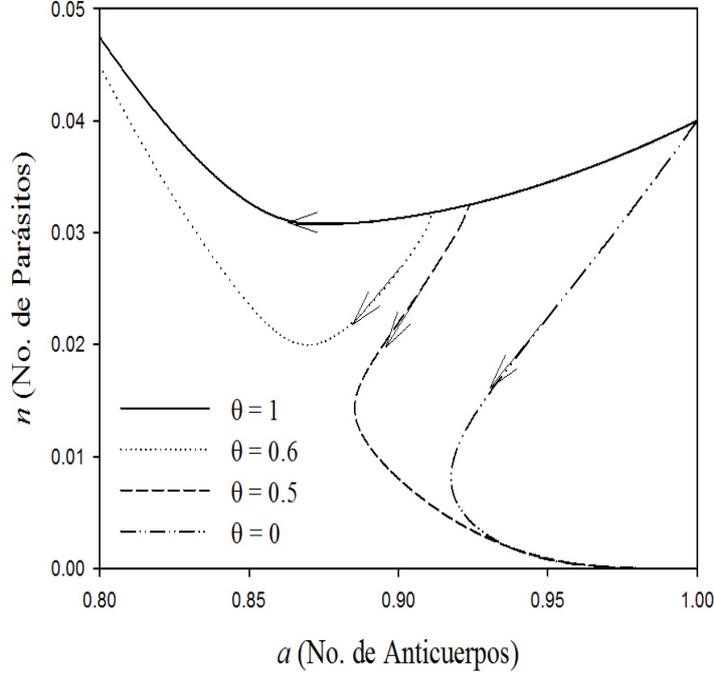


Figura 3.3: Trayectorias de fase para los tiempos de retrasos indicados. Para retrasos pequeños, las poblaciones convergen al atractor $(a_0, 0)$ (curación) mientras para retrasos grandes convergen hacia el caso de muerte $(0, \infty)$. Los valores de los parámetros son $a_0 = 1$, $n_0 = 0.04$, $\alpha = 4.6$, $\tau = 8.3$, $\kappa = 4$ y $\gamma = 3$.

dato que la población de anticuerpos no se ha activado. Este fenómeno induce un cambio en el caso IIIb en situaciones donde el mamífero hospedero podía evolucionar a un estado de curación, y ahora debido al retraso en la respuesta inmune este puede pasar al de muerte. Esta situación puede observarse en la Fig. 3.3 donde se trazaron retratos de fase para una sola especie de anticuerpos. Para ilustrar mejor la situación se escogieron los parámetros para ajustarse al caso IIIb, de tal forma que en ausencia de retraso el sistema inmune elimina a los parásitos. Nótese a partir de la figura que si el sistema empieza a producir los anticuerpos un cierto tiempo θ_j después, las trayectorias de fase sufren un cambio repentino en su pendiente, al tiempo que las moléculas de anticuerpos llegan a ser eficientes. Para retrasos a tiempos cortos, las trayectorias convergen hacia el atractor “curación” $(a_0, 0)$, mientras para grandes tiempos de retraso las trayectorias tienden a $(\gamma/\alpha, \infty)$, caso de muerte.

3.3.4. Replicación Intracelular

Cabe destacar que el *T. cruzi* en su ciclo de vida pasa por tres estados morfológicos principales. El estado replicativo de epimastigotes (el cual se lleva a cabo en el intestino del insecto vector), el estado infectivo de tripomastigotes (el estado circulante en el flujo sanguíneo del mamífero hospedador) y finalmente su estado de amastigote (su estado reproductivo dentro de las células invadidas). En el interior de las células invadidas por el tripomastigote, el parásito se diferencia a su forma intracelular de amastigotes para después comenzar a replicarse por fisión binaria. Estos amastigotes colonizarán totalmente la célula hasta ocasionar el rompimiento de su membrana celular. Los amastigotes se diferenciarán en tripomastigotes para empezar a viajar por el flujo sanguíneo hasta encontrar una nueva célula para colonizar y seguir su ciclo reproductivo. Es necesario entonces describir el proceso de reproducción del parásito en el modelo propuesto; para eso se introduce una nueva variable r , la cual representa el número de células invadidas por el *T. cruzi* [35]. Su evolución esta dada por la ecuación,

$$\dot{r}(t) = \xi n(t) - \eta r(t) \quad (3.39)$$

donde la infectividad ξ es la tasa a la cual un parásito circulante (en su forma tripomastigote) entra en una célula del organismo hospedero para iniciar la replicación, y la citotoxicidad η es la probabilidad por unidad de tiempo de que una célula infectada explote debido al gran número de amastigotes presentes en su interior. Entonces, la producción de parásitos depende ahora de la población de células infectadas y como consecuencia, la ecuación de evolución del número de parásitos circulantes en el flujo sanguíneo (tripomastigotes) es modificada a:

$$\dot{n}(t) = \eta N_r r(t) - \sum_{i=1}^N \alpha_{i,n}(t) a_i(t) n(t) - \xi n(t) \quad (3.40)$$

con N_r siendo el número promedio de tripomastigotes que emergen de la ruptura de una célula.

La ecuación que describe la evolución de los anticuerpos (Ec. 3.23) permanece igual. Una vez más por simplicidad se estudia el caso para una sola especie de anticuerpo ($N = 1$). Para encontrar los estados estacionarios se hacen las derivadas temporales iguales a cero y se toma $\alpha = \alpha_A + \alpha_B$, obteniendo:

$$a_s = a_0, \quad n_s = 0, \quad r_s = 0 \quad (3.41)$$

y,

$$a_s = \frac{(N_r - 1)\xi}{\alpha}, \quad n_s = \frac{(N_r - 1)\xi - \alpha a_0}{\alpha\tau[\gamma - (N_r - 1)\xi]}, \quad r_s = \frac{\xi}{\eta}n_s \quad (3.42)$$

La primera solución (Ecs. 3.26) equivale a la condición de curación (Caso I), donde la población parasitaria y las células infectadas son eliminadas, mientras la población de anticuerpos retorna a su cantidad inicial a_0 . La segunda solución está asociada a un estado de cronicidad (Ecs. 3.27). Las Ecs 3.27 muestran que las poblaciones a_s y n_s dependen del número promedio de parásitos liberados en el rompimiento de la célula (N_r), y no del tiempo promedio transcurrido desde que fue invadida hasta que se dió la ruptura de su membrana celular ($\sim 1/\eta$). Caso contrario a la nueva población estacionaria r_s , la cual sí depende de este tiempo promedio y de la infectividad de los tripomastigotes (ξ). Es importante destacar que en caso de que $N_r < 1$, la única solución posible es la de curación.

También se prueba la estabilidad de estas soluciones usando el criterio de Routh-Hurwitz, dando lugar a los tres estados estacionarios mostrados anteriormente en la sección 3.2.1: curación, crónico y muerte. Para apreciar mejor los resultados se construye un diagrama de fase en el plano (N_r, γ) , el cual es mostrado en la Fig. 3.4. Luego las condiciones para obtener cada uno de los estados son:

- I Curación: si $\gamma > \xi(N_r - 1)$ y $N_r < 1 + \alpha a_0/\xi$. La producción de anticuerpos y su eficiencia para eliminar los parásitos son bastante altas, mientras el número de parásitos que salen de la célula infectada en su ruptura es muy bajo y son poco infectivos. Esta situación propicia que los parásitos puedan ser eliminados o inhabilitados por la población de anticuerpos lo cual devuelve el sistema a sus condiciones iniciales.
- II Crónico: si $\gamma > \xi(N_r - 1)$ y $N_r > 1 + \alpha a_0/\xi$. La producción de anticuerpos es alta, al igual que el número de tripomastigotes que emergen de la ruptura celular. Sin embargo, los parásitos no pueden ser inhabilitados a causa de la baja efectividad de los anticuerpos. Las poblaciones alcanzan un estado de equilibrio definido por las Ecs. 3.27.
- III Muerte del organismo hospedador: si $\gamma < \xi(N_r - 1)$ y $N_r > 1 + \alpha a_0/\xi$. La producción y la eficacia de los anticuerpos para inhabilitar a los parásitos son bastante bajas para contrarrestar el gran número de parásitos que salen de la ruptura celular y controlar la infección.
- III.b Dependencia de n_0 : si $\gamma < \xi(N_r - 1)$ y $N_r < 1 + \alpha a_0/\xi$. Aunque se tiene una baja producción de anticuerpos, su eficacia es bastante alta

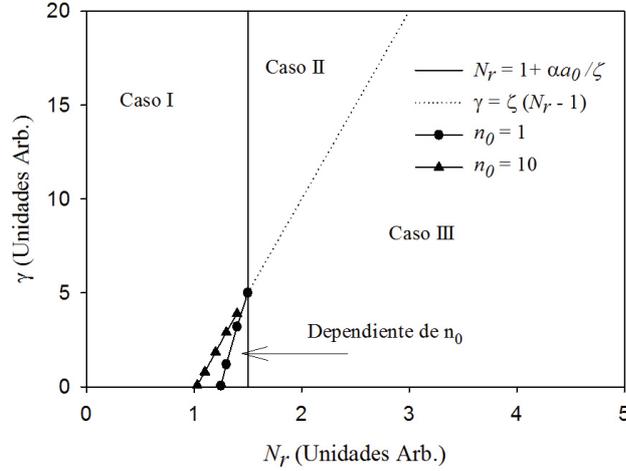


Figura 3.4: Diagrama de fase que describe el resultado de la infección parasitaria en términos de la tasa de producción de anticuerpos (γ) y el número de tripomastigotes que salen de la ruptura de una célula infectada N_r . La localización de la frontera entre los casos III y IIIb depende del tamaño de la población inicial de parásitos n_0 . Los valores de los parámetros son $a_0 = 2$, $\tau = 10$, $\xi = 10$, $\eta = 1$ y $\alpha = 2.5$.

ya que ellos pueden erradicar la población de parásitos si el número de parásitos inoculados no supera cierto umbral.

Otra manera distinta de ver estos resultados se logra haciendo el cambio de variable $(N_r - 1)\xi = \kappa_n$. Ahora las expresiones para las poblaciones en estado estacionario no trivial asociadas con el estado crónico (a_s y n_s) quedan de la siguiente manera:

$$a_s = \frac{\kappa_n}{\alpha}, \quad n_s = \frac{\kappa_n - \alpha a_0}{\tau \alpha (\gamma - \kappa_n)}, \quad (3.43)$$

mientras $r_s = \frac{\xi}{\eta} n_s$ queda de la misma forma. El subíndice n simplemente destaca los parámetros asociados al estudio de la infección con *T. cruzi*.

Al construir el diagrama de fase en términos de la tasa de producción de anticuerpos γ y la nueva variable κ_n obtenemos la Fig. 3.5, la cual es similar a la Fig 3.1. Los valores de los parámetros son los mismos usados en el diagrama de la Fig. 3.4.

La dinámica del sistema sigue siendo la misma a la explicada en la sección 3.2.2.

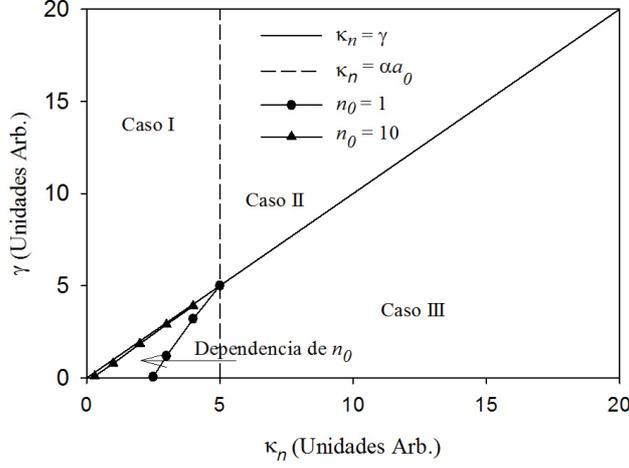


Figura 3.5: Diagrama de fase que describe el resultado de la infección parasitaria en términos de la tasa de producción de anticuerpos (γ) y la variable κ_n .

3.3.5. Comparación con Experimentos

Para validar el modelo fue necesario comparar los resultados con datos experimentales extraídos de la literatura [34, 35]. La verificación del modelo se hace a través de un ajuste de los datos experimentales de las investigaciones de El Bouhdidi *et al.* [33]. Estos investigadores realizaron una infección experimental en ratones de la especie BALB/c (via intraperitoneal) con 100 tripomastigotes del T. cruzi de la cepa Tehuantepec. Los niveles parasitemicos y de anticuerpos específicos al parásito fueron medidos por un período de 20 semanas después de la infección. El Bouhdidi *et al.* en sus resultados indica que la infección en ratones con T. cruzi induce una respuesta inmune humoral de anticuerpos IgM, IgA, IgE, IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3. Esta respuesta inmune fue dominada por los anticuerpos IgG2a, IgM e IgE, ya que mostraron niveles muy altos respecto a los otros isotipos de anticuerpos.

En la Fig. 3.6(a) se exhibe el ajuste hecho a la evolución de una población de parásitos T. cruzi, considerando solamente su reproducción por fisión binaria (Ec. 3.7). En su investigación El Bouhdidi *et al.* reportaron también la evolución de los anticuerpos IgM, IgG1, y IgG2a, los cuales también fueron ajustados con el modelo propuesto. Estos tres tipos de anticuerpos también fueron tomados en cuenta en el ajuste de la población parasitaria (Fig. 3.6(b)-(d)). Los valores de los parámetros que intervienen se muestran

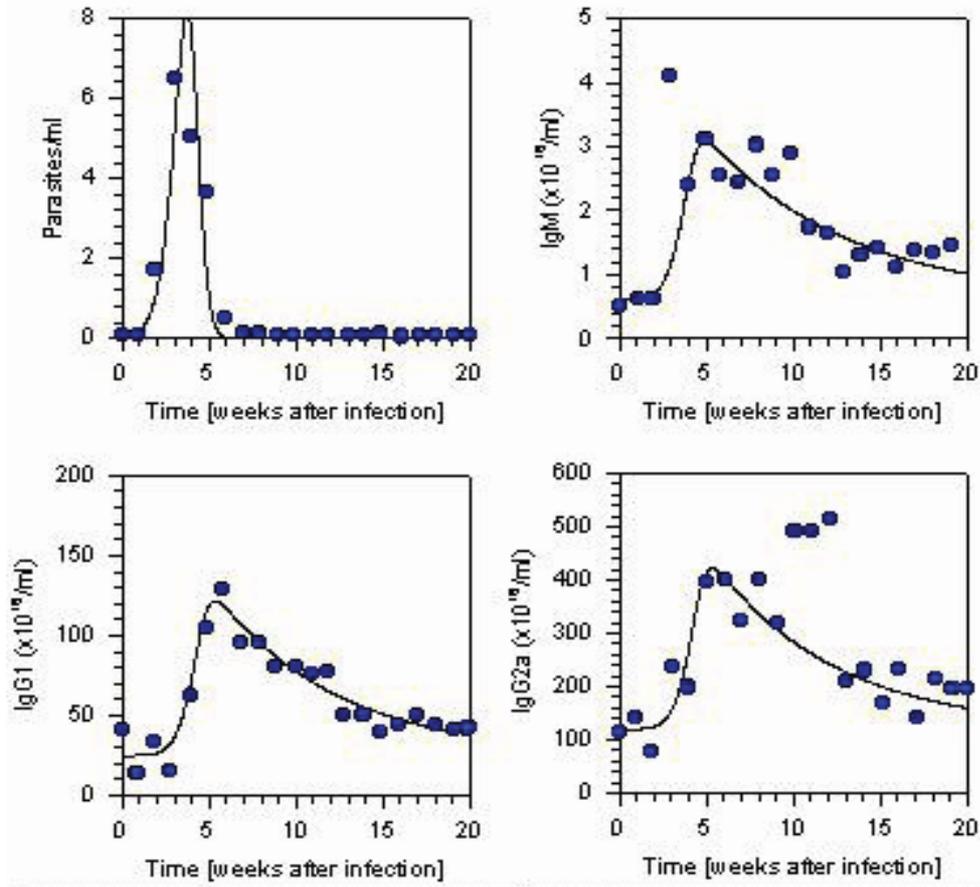


Figura 3.6: Comparación del modelo original (línea continua) con datos experimentales (puntos) obtenidos por El Bouhdidi [33]. (a) Evolución de la población de parásitos *T. cruzi*. (b)-(d) Evolución de la población de anticuerpos IgM, IgG1 e IgG2a respectivamente.

en el Cuadro 3.1.

Al considerar la replicación intracelular por fisión binaria (Sec. 3.2.4), también se hicieron ajustes a los datos experimentales de El Bouhdidi para verificar el modelo. Este ajuste se muestra en la Fig.3.7. Los valores de los parámetros se escogieron de tal forma que mostraran un buen acuerdo visual entre los datos experimentales y las predicciones del modelo. Los valores de los parámetros asociados a la población parasitaria son $N_r = 13.8$, $\xi = 2.1(1/w)$, $\eta = 2.1(1/w)$ y $n_0 = 100(1/\text{ml})$, mientras que los valores de los parámetros asociados a las poblaciones de anticuerpos se mantuvieron como en el modelo original ya que no hubo variación significativa del ajuste hecho

a	a_0 (1/ml)	α_A (ml/w)	α_B (ml/w)	γ (1/w)	T (w)	τ (w)	θ (w)
IgM	6×10^{15}	4.6×10^{-20}	3.3×10^{-20}	2×10^{10}	2.4	8.3	0.05
IgG1	2.5×10^{17}	0	1.2×10^{-18}	8×10^{11}	6.1	7.1	0.5
IgG2a	1.2×10^{18}	0	4.1×10^{-18}	25×10^{11}	7.1	7.1	0.5

Cuadro 3.3: Valores de los parámetros de los anticuerpos específicos del T. cruzi obtenidos del ajuste de los datos de El Bouhdidi [33]. w representa semanas. Los parámetros del parásito son $n_0 = 100$ (1/ml), $\kappa = 4$ (1/w).

anteriormente.

De la Fig. 3.7 se observa que el ajuste obtenido cuando se tiene en cuenta la reproducción intracelular del parásito (a través del número de células infectadas) produce un mejor ajuste de la evolución de la población parasitaria que la versión original. Los ajustes de la población de anticuerpos son visualmente indistinguibles de aquellos que se hicieron con la versión original del modelo.

El modelo de Sibona-Condatt ha mostrado ser bastante aproximado cuando se compara con los datos experimentales existente en la literatura. Sin embargo, el modelo no tiene en cuenta los efectos de una posible infección de varias cepas parasitarias y la respuesta inmune celular generada por el organismo mamífero hospedador en contra del parásito T. cruzi, los cuales son justamente los objetivos de este trabajo de tesis.

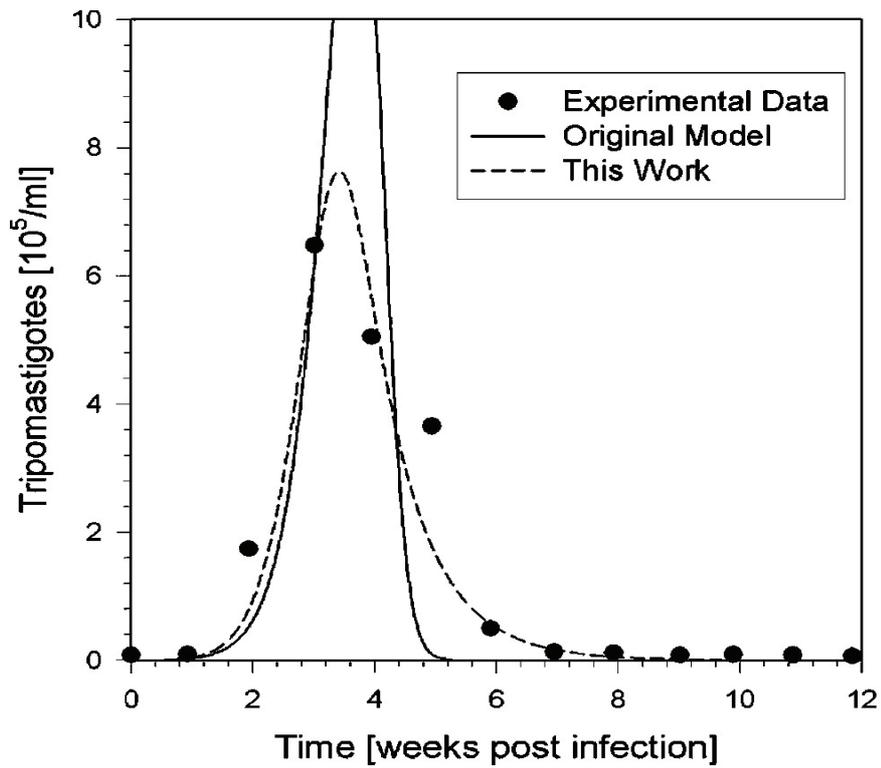


Figura 3.7: Comparación de los datos experimentales de El Bouhdidi [33] con el modelo original y su versión extendida (incluyendo replicación intracelular en células infectadas).

Capítulo 4

Modelo Para una Infección Heteróloga

4.1. Introducción

Las diversidades biológica, bioquímica y genética de las cepas del *T. cruzi* han sido ampliamente estudiadas junto con su complejidad epidemiológica [40]-[42]. El parásito *T. cruzi* presenta una población heterogénea clonalmente estructurada que muestra niveles extremadamente altos de diversidad genética [43]. Recientemente esta población heterogénea fue clasificada en seis linajes o unidades de tipo discreto (discrete typing units, DTUs: TcI a TcVI), basándose en los diferentes marcadores moleculares y características biológicas [44, 45]. La distribución geográfica de estos DTUs indica que los linajes del *T. cruzi* II al VI predominan en ciclos de transmisión doméstica y son los principales causantes de la enfermedad de Chagas en los países del cono sur [46], mientras el linaje TcI del parásito es el más frecuente en la cuenca norte del Amazonas, Centro y Norte América. El TcI está mayormente asociado con un ciclo de transmisión selvático [47]. Esos linajes tienen diferentes características biológicas como la tasa de transmisión [48], tasa de reproducción en el mamífero hospedero y en el vector [49], y virulencia, entre otros. Las personas que viven en áreas endémicas de esta enfermedad, donde existe superposición de los ciclos selváticos y domésticos de las diferentes cepas, son susceptibles a sufrir reinfecciones con distintas cepas del parásito [50]-[53].

Estudios realizados por Ramírez *et al.* [54] y Añez *et al.* [55] en pacientes clínicos con infecciones mixtas del *T. cruzi* muestran que algunas de las infecciones con ambos linajes produjeron síntomas agudos con diferente severidad

y perfil clínico, independientemente del sexo y la edad del paciente. Ramirez *et al.* realizó su estudio en un total de 240 pacientes colombianos que pertenecían al programa BENEFIT (Benznidazol Evaluation for Interrupting Trypanosomiasis Project) de los cuales se extrajeron 10 ml de sangre para llevar a cabo el proceso de detección y caracterización molecular del *T. cruzi*. Añez tomó 23 pacientes chagásicos agudos del estado de Barinas en Venezuela y el diagnóstico serológico se hizo utilizando el test de aglutinación directa, test de inmunofluorescencia indirecta y ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Ambos estudios reportan que en estado crónico, el TcI esta relacionado a pacientes con cardiomiopatías, mientras el TcII esta relacionado a pacientes con síndrome digestivos (megaesófago/megacolón). Ramirez encontró pacientes con infecciones mixtas de TcI-TcII, TcI-TcIII y TcI-TcIV mientras Añez no reportó caso alguno. Solo fue hasta reciente que ambos linajes *T. cruzi* I y *T. cruzi* II han sido encontrados en la misma muestra de un paciente [54, 56]. Añez *et al* no descartan la posibilidad de que la separación de los pacientes crónicos infectados con una u otra cepa sea resultado del mismo proceso de aislación (hemocultura) y posterior cultivo del parásito, lo cual pudo haber favorecido la aislación en pacientes con parásitos del *T. cruzi* I de aquellos con infecciones mixtas. Otra posibilidad para la no-detección de infecciones mixtas es que los pacientes se encontraran apenas en el estado agudo de la enfermedad.

La casi completa ausencia de infecciones mixtas podría estar relacionada a las características epidémicas de cada cepa [57]-[60]. Varias investigaciones matemáticas y experimentales han expuesto esta idea. Por ejemplo, Yeo y coautores [46], tomaron parásitos de *T. cruzi* aislados de muestras de sangre de diferentes animales salvajes. Ellos sugirieron que las distintas ecologías, terrestres de los armadillos y arbóreas de los mapaches, se asocian con la circulación de los linajes TcI y TcII en esas poblaciones de animales respectivamente. Esto podría explicar los orígenes de la enfermedad de Chagas en los países del norte y el sur del cono sudamericano. Devillers *et al.* plantean un modelo basado en agentes: humanos, insectos vectores y animales reservorios para explicar la prevalencia de las cepas TcI y TcII en esas poblaciones [57].

Otra explicación para la ausencia de infecciones mixtas puede ser encontrada en las diferencias entre las interacciones del sistema inmune y las cepas del parásito. Existen algunos estudios que siguen esta línea: Rodrigues y coautores investigaron experimentalmente los efectos de una infección mixta con una cepa “fuerte” (CL-Brener) y una cepa “suave” (JG) del *T. cruzi* en ratones Balb/C [61]. La coinfección causó una respuesta inmune regulatoria

singular que atenuó los daños causados por la inflamación y la severidad de la enfermedad, los cuales son los efectos típicos de una infección con solo la cepa CL-Brener. En este caso la cepa JG provocó una respuesta protectora. Un resultado similar había sido obtenido previamente por Franco y coautores [62]; como parte de su estudio tomaron ratones machos de la especie Holtzman y los coinfectaron con las cepas JG y CL-Brener. La infección con ambas poblaciones redujo la tasa de mortalidad a niveles muy bajos o casi nulos. Al final de la fase aguda el corazón exhibió únicamente la cepa JG, mientras que los músculos esqueléticos y el recto mostraron únicamente la cepa CL-Brener. En la fase crónica de la doble infección, la cepa JG permaneció en el corazón y se trasladó a los órganos que antes habían sido colonizados por la cepa CL-Brener. Otros autores también han observado diferentes reacciones inmunes en infecciones mezcladas con diferentes cepas [63]-[68].

En este capítulo se extiende el modelo expuesto anteriormente en la sección 3.2 [31, 34]. Con esta extensión es posible describir la evolución de la fase aguda de la enfermedad de Chagas para el caso en el que un organismo mamífero es infectado con dos cepas diferentes del *T. cruzi*. En esta parte no se tendrá en cuenta el daño celular r producido por el replicamiento intracelular del *T. cruzi*, puesto que aquí el objetivo es estudiar la competición dinámica que existe entre estas dos cepas parasitarias y la población de anticuerpos generada por el sistema inmune para defenderse de la infección chagásica. Los resultados obtenidos por el modelo son muy similares a las observaciones clínicas encontradas en la literatura [55, 61, 62].

4.2. Modelo Para Una Infección Mixta con *T. Cruzi*

En esta sección exponemos el primer aporte de mi trabajo de tesis. En el modelo se considera que el hospedador mamífero posee una coinfección, es decir, una infección con diferentes cepas del parásito *T. cruzi*. En la enfermedad de Chagas, la introducción del parásito en el hospedador mamífero estimula la producción de ciertas especies de anticuerpos [33]. Se considera que N especies de anticuerpos interactúan con la j -ésima cepa de la población parasitaria, la evolución del número correspondiente de parásitos a cada cepa, $n_j(t)$, es descrito como:

$$\dot{n}_j(t) = \kappa_j n_j(t) - \sum_{i=1}^N \alpha_{ij} a_i(t) n_j(t), \quad (4.1)$$

donde el primer término representa la reproducción asexual de los parásitos y el segundo término representa sus interacciones con las N especies de anticuerpos. El coeficiente κ_j controla la tasa de reproducción del parásito, $a_i(t)$ es la población de anticuerpos pertenecientes a la i -ésima especie, y α_{ij} es la tasa a la cual una molécula del anticuerpo de la especie i -ésima elimina o inhabilita a un parásito de la cepa j -ésima en un encuentro. Asumiendo que la interacción directa entre especies de anticuerpos es despreciable, la ecuación para la evolución de la especie i -ésima de anticuerpos puede ser escrita de la siguiente manera:

$$\dot{a}_i(t) = \sum_{j=1}^M [\gamma_{ij} - \alpha_{ij}a_i(t)]n_j(t) - (1/\tau_i) [a_i(t) - a_{i0}], \quad (4.2)$$

donde el coeficiente γ_{ij} es la tasa de la creación de anticuerpos inducida por la presencia de las distintas cepas parasitarias, a_{i0} y τ_i son la población de equilibrio de la i -ésima especie de anticuerpos en la ausencia de infección y su tiempo de vida media, respectivamente.

En este estudio se consideran sólo dos cepas del T. cruzi (para analizar el caso de pacientes coinfectados) y una especie de anticuerpo (para simplificar la respuesta del sistema inmune representada en una especie promedio de anticuerpos). Luego las Ecs. (4.1) y (4.2) quedan:

$$\dot{n}_1 = \kappa_1 n_1 - \alpha_1 n_1 a \quad (4.3)$$

$$\dot{n}_2 = \kappa_2 n_2 - \alpha_2 n_2 a \quad (4.4)$$

$$\dot{a} = \gamma_1 n_1 + \gamma_2 n_2 - \alpha_1 n_1 a - \alpha_2 n_2 a - (1/\tau)(a - a_0) \quad (4.5)$$

Puesto que solo se tiene una especie de anticuerpos se hace $a_i = a_1 = a$, $\gamma_{ij} = \gamma_{1j} = \gamma_j$ para referirse a las tasas de producción de esa población de anticuerpos debido a la presencia de las cepas n_1 y n_2 . $\alpha_{ij} = \alpha_{1j} = \alpha_j$ para simbolizar la tasa a la cual los anticuerpos pueden eliminar a los parásitos de las cepas n_1 y n_2 en un encuentro.

4.3. Estados Estacionarios y sus Propiedades

Haciendo las derivadas temporales en las Ecs. (4.3), (4.4), y (4.5) iguales a cero, se obtiene un conjunto de ecuaciones que definen las poblaciones en estados estacionarios,

$$n_{1s}(\kappa_1 - \alpha_1 a_s) = 0 \quad (4.6)$$

$$n_{2s}(\kappa_2 - \alpha_2 a_s) = 0 \quad (4.7)$$

$$n_{1s}(\gamma_1 - \kappa_1) + n_{2s}(\gamma_2 - \kappa_2) - \frac{1}{\tau}(a_s - a_0) = 0, \quad (4.8)$$

Los estados estacionarios encontrados y denotados por el subíndice s son:

1. $n_{1s} = n_{2s} = 0$ y $a_s = a_0$
2. $n_{2s} = \frac{\kappa_2 - \alpha_2 a_0}{\tau \alpha_2 (\gamma_2 - \kappa_2)}$, $n_{1s} = 0$ y $a_s = \kappa_2 / \alpha_2$
3. $n_{1s} = \frac{\kappa_1 - \alpha_1 a_0}{\tau \alpha_1 (\gamma_1 - \kappa_1)}$, $n_{2s} = 0$ y $a_s = \kappa_1 / \alpha_1$

Si se analiza el comportamiento asintótico ($t \rightarrow \infty$), se observan tres casos principales. Debido a la naturaleza cuatri-dimensional del espacio de parámetros generado por las tasas de crecimiento $(\kappa_1, \kappa_2, \gamma_1, \gamma_2)$, es más conveniente mirar los resultados en el plano (κ_1, γ_1) , especificando primero los valores de κ_2 y γ_2 . Los tres casos son los siguientes:

- I. Curación. Las condiciones necesarias para este caso son $\kappa_1 < \alpha_1 a_0$ y $\kappa_2 < \alpha_2 a_0$. Dependiendo del tamaño relativo de γ_2 y κ_2 pueden presentarse dos casos: la curación total del organismo mamífero hospedador o una curación condicionada por el tamaño de la población parasitaria inoculada.
 - a. Curación Total: si $\gamma_2 > \kappa_2$, ambas poblaciones parasitarias desaparecen en el tiempo y el sistema regresa a sus condiciones iniciales para cualquier valor de γ_1 $(n_{1s}, n_{2s}, a_s) = (0, 0, a_0)$.
 - b. Curación Condicional: si $\gamma_2 < \kappa_2$ y dependiendo del tamaño de la población parasitaria inoculada se puede eliminar al parásito y obtener la curación del mamífero hospedador (si las poblaciones iniciales n_{01} y n_{02} son más pequeñas que un cierto valor umbral determinado por las condiciones del problema). Si esas poblaciones iniciales de las cepas parasitarias n_{01} y n_{02} son mayores que ese valor umbral se produce un crecimiento incontrolado de una o ambas poblaciones del parásito lo cual desencadena la muerte del hospedero.
- II. Crónico. En este caso solamente sobrevive una de las cepas, mientras la otra es eliminada. Existen dos subcasos, dependiendo de la cepa que sobrevive:
 - a. Cronicidad debido a la población parasitaria n_1 : la población parasitaria n_2 desaparece y el sistema con el tiempo alcanza un estado estacionario descrito por

$$n_{1s} = \frac{\kappa_1 - \alpha_1 a_0}{\tau \alpha_1 (\gamma_1 - \kappa_1)}, \quad a_s = \frac{\kappa_1}{\alpha_1} \quad (4.9)$$

El criterio para obtener este estado es,

- $\kappa_1 > \alpha_1 a_0$, si $\kappa_2 < \alpha_2 a_0$; 0
- $\kappa_1 > \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \kappa_2$, si $\kappa_2 > \alpha_2 a_0$,

En el plano (κ_1, γ_1) , la cronicidad es observada para los valores de κ_1 indicados por la condición,

$$\gamma_1 > \frac{\alpha_2 \kappa_1^2 \tau - \alpha_1 \kappa_1 \kappa_2 \tau + a_0 \alpha_1^2}{\alpha_2 \kappa_1 \tau - \alpha_1 \kappa_2 \tau + \alpha_1}$$

Se puede ver que en el limite ($\kappa_1 \rightarrow \infty$), $\gamma_1 \propto \kappa_1$ sobre esta frontera. Este comportamiento lineal es comparable con el caso presentado en la Sec. 3.2 donde se ha modelado una cepa parasitaria y una sola especie de anticuerpo [34, 35].

b. Cronicidad debido a la población parasitaria n_2 : si $\kappa_1 < \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \kappa_2$ y $\kappa_2 > \alpha_2 a_0$ y $\gamma_2 > \gamma_c(\alpha_1, \alpha_2, \kappa_1, \kappa_2, a_0, \tau)$, la población del parásito n_1 es eliminada, y el sistema alcanza con el tiempo el estado estacionario descrito por

$$n_{2s} = \frac{\kappa_2 - \alpha_2 a_0}{\tau \alpha_2 (\gamma_2 - \kappa_2)}, \quad a_s = \frac{\kappa_2}{\alpha_2} \quad (4.10)$$

Bajo las condiciones de arriba, este resultado es válido para cualquier valor de γ_1 .

Cabe resaltar que un estado crónico con las dos cepas parasitarias coexistiendo no es posible.

III. Muerte del Hospedero. Este caso es subdividido en cuatro subcasos.

a. Muerte debido al crecimiento ilimitado de la población parasitaria n_1 : la región correspondiente en el plano (κ_1, γ_1) esta dado por el conjunto de puntos que satisfacen,

$$\gamma_1 < \frac{\alpha_2 \kappa_1^2 \tau - \alpha_1 \kappa_1 \kappa_2 \tau + a_0 \alpha_1^2}{\alpha_2 \kappa_1 \tau - \alpha_1 \kappa_2 \tau + \alpha_1}, \quad (4.11)$$

más las condiciones adicionales $\gamma_1 > \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \kappa_2$ y $\kappa_2 > \alpha_2 a_0$. También se puede obtener este caso cuando se tienen las condiciones $\frac{\alpha_1}{\alpha_2} \kappa_2 < \gamma_1 < \kappa_1$ y $\kappa_2 < \alpha_2 a_0$, junto con la condición expresada en 4.11. La población parasitaria n_2 es eliminada mientras n_1 crece sin control y la población de anticuerpos alcanza el siguiente valor asintótico,

$$a_s = \frac{\gamma_1}{\alpha_1} \quad (4.12)$$

b. Muerte debido al crecimiento ilimitado de la población parasitaria n_2 : esto ocurre si $\kappa_1 < \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \gamma_2$, $\kappa_2 > \gamma_2$ y $\kappa_2 > \alpha_2 a_0$. La población

parasitaria n_1 es eliminada mientras n_2 crece sin control y la población de anticuerpos alcanza un valor asintótico de

$$a_s = \frac{\gamma_2}{\alpha_2} \quad (4.13)$$

c. Muerte debido al crecimiento ilimitado de ambas cepas parasitarias, pero n_1 aumentando más rápido que n_2 : este estado se obtiene cuando $\gamma_1 < \frac{\alpha_1}{\alpha_2}\kappa_2$ y $\kappa_1 > \frac{\alpha_1}{\alpha_2}\kappa_2$. La población de anticuerpos tiende al valor establecido en la Ec. 4.12.

d. Muerte debido al crecimiento de ambas cepas parasitarias, pero n_2 aumenta más rápido que n_1 : este estado se obtiene cuando $\frac{\alpha_1}{\alpha_2}\gamma_2 < \kappa_1 < \frac{\alpha_1}{\alpha_2}\kappa_2$ y $\gamma_2 < \alpha_2 a_0 < \kappa_2$. El valor asintótico para la población de anticuerpos es el mismo que se muestra en la Ec. 4.13.

Se puede añadir que los casos II.a, III.a y III.c siempre serán obtenidos sin importar que condiciones se impongan sobre los parámetros de la población parasitaria n_2 , las condiciones solo dependerán del valor de los parámetros.

La estabilidad de las soluciones de los estados estacionarios fue probada usando el criterio de Routh-Hurwitz [28]. Se puede observar que el resultado de la población del parásito no depende del tamaño de inoculación, excepto en el caso I.b.

Se puede entonces construir un diagrama de fase en el plano definido por las tasas de crecimiento γ_1 y κ_1 . Debido a que se está trabajando con dos cepas parasitarias y una especie de anticuerpo, primero se fijan los parámetros de la segunda población parasitaria (n_2) y se procede a evaluar qué estados estacionarios satisfacen las condiciones de Routh-Hurwitz sobre el plano. Dos ejemplos de los diagramas de fase en el plano (κ_1, γ_1) son mostrados en la Fig. 4.1. En el panel (a), las condiciones para n_2 es $\kappa_2 < \gamma_2$ y $\kappa_2 < \alpha_2 a_0$, en él se observa el estado de curación total (Caso I.a). En el panel (b) la condición es $\gamma_2 > \kappa_2 > \alpha_2 a_0$ y se observa el estado de cronicidad para la población n_2 (Caso II.b). En ambas situaciones aparecen los casos II.a (cronicidad debido a la población parasitaria n_1), III.a (crecimiento ilimitado de la población n_1) y III.c (crecimiento ilimitado de ambas cepas parasitarias liderado por n_2).

En la Fig. 4.2 se han escogido los parámetros de n_2 de tal forma que la curación pueda depender de los tamaños de las inoculaciones (caso I.b: $\alpha_2 a_0 > \kappa_2 > \gamma_2$). Algunos resultados interesantes surgen de la Fig. 4.2: si se estudia el diagrama de fase para valores pequeños de γ (por ejemplo,

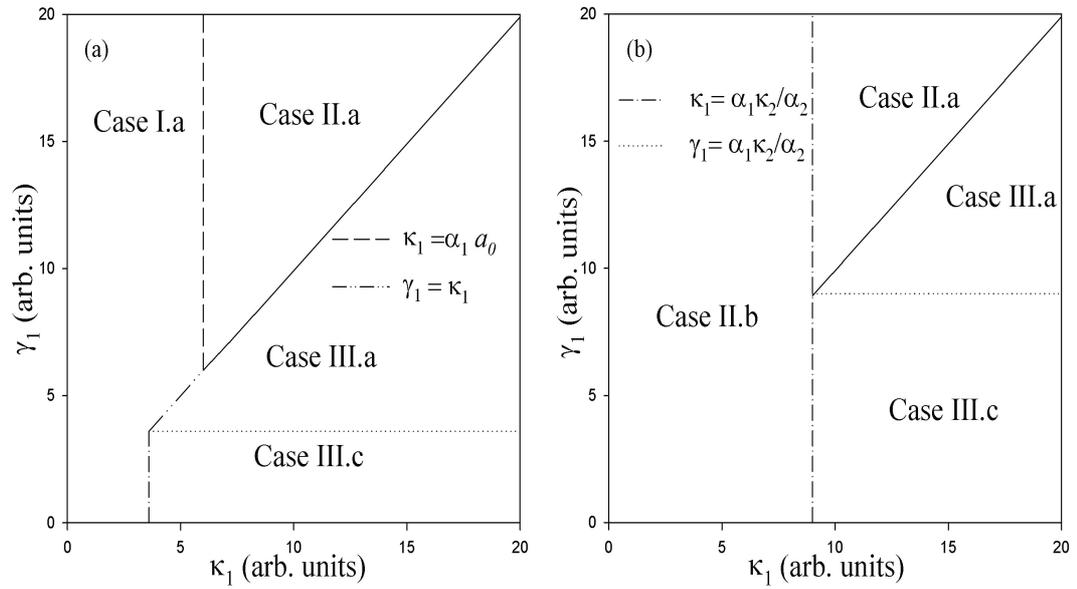


Figura 4.1: Diagramas de fase que describen el resultado de la infección parasitaria en términos de las tasas de generación de anticuerpos (γ_1) y la tasa de reproducción (κ_1) de la cepa parasitaria n_1 . La línea sólida está dada por la condición 4.11, pero como una igualdad. Los valores de las otras fronteras están especificados en la figura. Los valores de los parámetros para ambos paneles son $\alpha_1 = 3$, $\tau = 10$, y $a_0 = 2$; (a) $\alpha_2 = 2.5$, $\gamma_2 = 4$, $\kappa_2 = 3$; (b) $\alpha_2 = 1.5$, $\gamma_2 = 5$, $\kappa_2 = 4.5$.

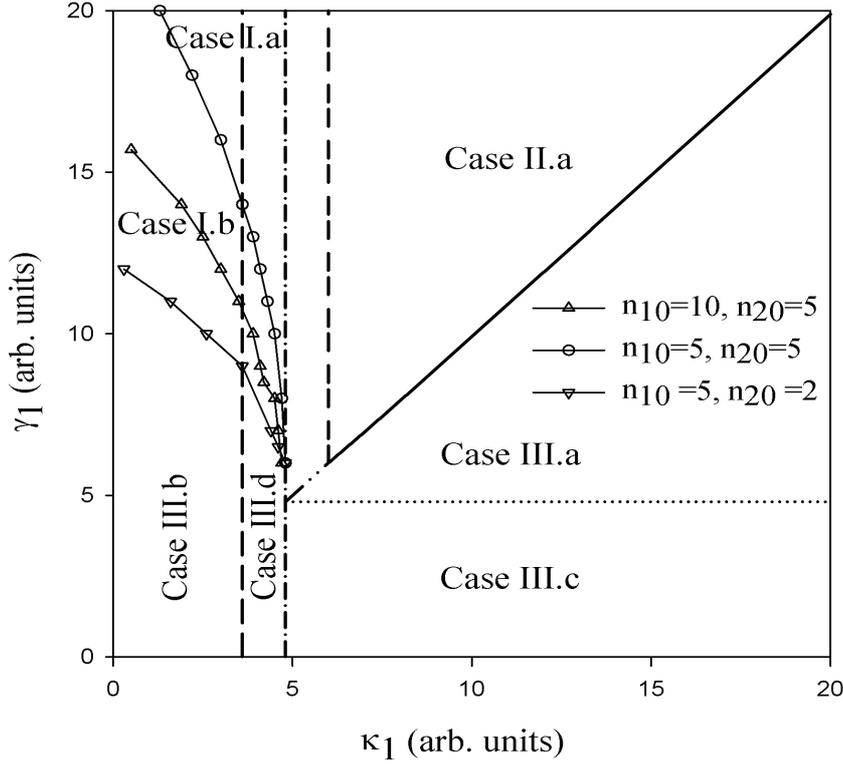


Figura 4.2: Diagrama de fase que describe el resultado de la infección parasitaria en términos de la tasa de generación de anticuerpos (γ_1) y la de parásitos (κ_1) de la cepa n_1 . La localización de la frontera entre los casos I.b y II.b, depende de los tamaños n_{j0} de ambas poblaciones infectivas. La curación depende del tamaño inicial. Tres posibles fronteras para los casos de curación y muerte están trazadas. La línea sólida está dada por la condición (1.11), tomada como una igualdad. Las otras fronteras están dadas por $\kappa_1 = \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \gamma_2$ (-), $\kappa_1 = \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \kappa_2$ (-.-.), $\kappa_1 = \alpha_1 a_0$ (- -), $\gamma_1 = \frac{\alpha_1}{\alpha_2} \kappa_2$ (...), y por último $\gamma_1 = \kappa_1$ (-.-.-). Los valores de los parámetros son $\alpha_1 = 3$, $\alpha_2 = 2.5$, $\gamma_2 = 3$, $\kappa_2 = 4$, $\tau = 10$, y $a_0 = 2$.

$\gamma = 4$), se entra en tres diferentes zonas, dependiendo del valor de κ_1 . Si κ_1 es pequeño, se entra en la región III.b, lo cual indica la muerte debido al crecimiento incontrolado de la cepa 2, mientras la cepa 1, cuya producción es débil, es eliminada. Para valores intermedios de κ_1 aparece la región III.d donde ambas cepas crecen sin control, pero la cepa 2 aumenta más rápido. Para valores grandes de κ_1 , se está en el caso III.c, donde ambas cepas crecen sin control pero liderando ese crecimiento n_1 . Para estos valores relativamente grandes de κ_1 el resultado es independiente del tamaño de la inoculación. La competencia entre las cepas tiene otra interesante consecuencia: si ambas inoculaciones son pequeñas, la parte de la frontera que cae por encima de la región donde n_2 crece sin control ($\kappa_1 < 5$ en la figura) corresponde a valores relativamente bajos de γ_1 (triángulos invertidos). Si se incrementa n_{20} , la frontera se desplaza considerablemente hacia arriba (círculos), indicando el crecimiento más rápido de la cepa n_2 , pero si aumenta solamente n_{10} , la frontera se mueve hacia abajo (triángulos). Un aumento en la inoculación de n_{10} conduce a un incremento en la competición y eventualmente a una reducción en el tamaño de la población n_2 (la más dañina para el mamífero hospedador).

4.4. Dinámica

Las soluciones de las Ecs. 4.3-4.5 dependientes del tiempo fueron obtenidas numéricamente usando el método de Euler estándar. Una forma bastante informativa de presentar esas soluciones es a través de los retratos de fase: una vez que $a(t)$ y $n_j(t)$ son calculados para un conjunto de parámetros dados, se dibuja una trayectoria ya sea en el plano $(a - n_1)$ o $(a - n_2)$ describiendo la evolución del sistema para cada conjunto de condiciones iniciales. Se puede obtener información interesante acerca de la dinámica del modelo mirando los retratos de fase presentados en las Figs. 4.3(a) y 4.3(b). Estos retratos de fase se construyeron estableciendo valores a los parámetros de la cepa n_2 , por ejemplo los mencionados en la Fig. 4.2 ($\alpha_2 a_0 > \kappa_2 > \gamma_2$), se fija un valor para γ_1 ($\gamma_1 = 10$) y entonces se escogen varios valores de κ_1 para desplazarse sobre una línea horizontal, la cual atravesará los diferentes casos mencionados en la sección anterior. Se han graficado las poblaciones n_1 y n_2 por separado para poder apreciar los comportamientos asintóticos de cada una de ellas. Si se comienza en valores pequeños de κ_1 , se cae en el caso III.b, donde la población n_2 crece exponencialmente y n_1 tiende a cero (líneas sólidas en Fig. 4.3). Si se incrementa el valor de κ_1 se entra en un caso de curación donde ambas poblaciones son eliminadas (Caso I.a) (líneas punteadas en Fig 4.3). Siguiendo sobre la línea horizontal, ahora se escogen

valores aún más altos de κ_1 ($\kappa_1 > \alpha_1 a_0$) y se encuentra el Caso II.a, donde la trayectoria de fase para n_1 es una espiral que termina en un punto fijo correspondiente a su estado estacionario. En este caso n_1 alcanza el valor asintótico obtenido analíticamente en la sección 4.3 (Ec. 4.9), y n_2 va a cero (líneas entrecortadas). La cepa n_1 y la población de anticuerpos oscilan como función del tiempo. Finalmente, si se pasa la condición (4.11) se entra en el Caso III.a donde n_1 crece monótonamente a largos tiempos debido a su rápida replicación, el número de anticuerpos va a una constante finita (Ec. 4.12) y la cepa n_2 desaparece.

Si se toman valores más pequeños de γ_1 , por ejemplo $\gamma_1 = 2$, como en la Fig. 4.4, se comienza de nuevo en el Caso III.b (líneas sólidas), pasando por el Caso III.d donde ambas cepas parasitarias crecen sin límite, con la cepa n_2 liderando ese incremento (líneas punteadas) y, finalmente, para valores más grandes de κ_1 se cae en el caso III.c: ambas cepas crecen ilimitadamente pero esta vez la cepa n_1 encabeza dicho incremento (líneas entrecortadas).

4.5. Discusión

En este capítulo se ha extendido el análisis del modelo propuesto para la interacción entre dos cepas parasitarias y una especie de anticuerpos durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas. Se ha investigado su dinámica en detalle, incluyendo la influencia del tamaño de las inoculaciones del parásito. Dos predicciones importantes de este modelo son:

- a) Es imposible obtener una infección crónica mezclada: un paciente enfermo en estado crónico solamente hospedaré una sola cepa del parásito (ambas cepas pueden coexistir durante la fase aguda de la enfermedad), es decir, la cronicidad en un mamífero hospedador es causada solamente por una de las cepas infectantes. Los pacientes encontrados con una infección mixta es debido a que se encuentran en una etapa reciente de la infección o atraviesan el estado agudo de la enfermedad.
- b) La inoculación de una segunda cepa del parásito podría causar un decrecimiento del nivel parasitario de la primera cepa, guiando al paciente a un estado de curación.

En el estudio llevado a cabo en la Sec. 3.2 con una sola cepa parasitaria [31], se encontró que incrementando el tamaño de la cantidad de parásitos inoculados se reducía el área correspondiente al estado de curación en el diagrama de fase (κ, γ) . En el presente estudio se encuentra que introduciendo una segunda cepa parasitaria (n_1 en nuestros gráficos), se puede ayudar a erradicar

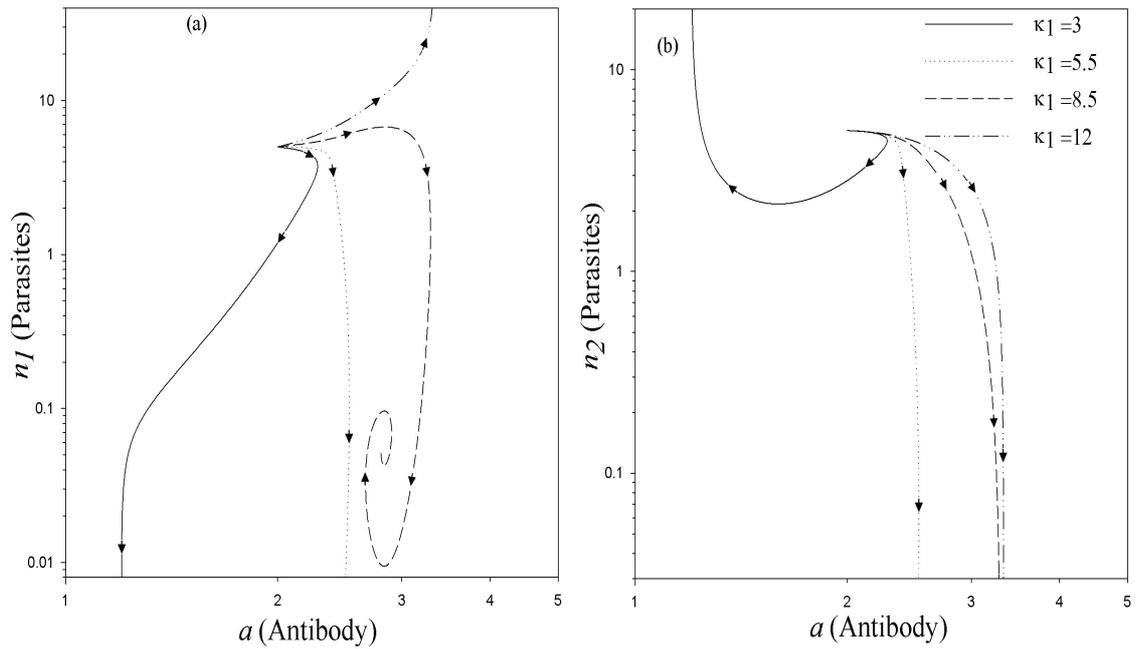


Figura 4.3: Retratos de fase de las poblaciones parásito-anticuerpos para los valores de κ_1 indicados en el panel (b) manteniendo constante $\gamma_1 (= 10)$. Los parámetros de n_2 son los mismos de la Fig. 4.2. Los tamaños de las inoculaciones son $n_{10} = n_{20} = 5$.

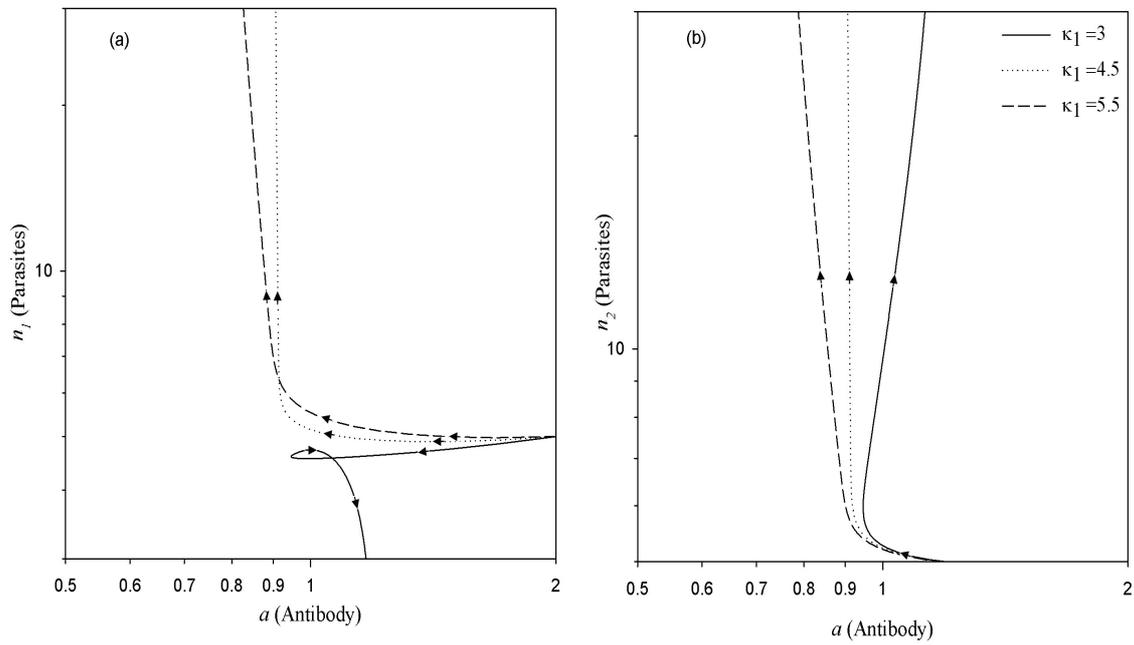


Figura 4.4: Retratos de fase de las poblaciones parásito-anticuerpos para los valores de κ_1 indicado en el panel (b) manteniendo constante $\gamma_1 (= 2)$. Los parámetros de la cepa n_2 son los mismos que en la Fig. 4.2. Los tamaños de las inoculaciones son $n_{10} = n_{20} = 5$.

una cepa dañina (n_2) y curar al organismo mamífero hospedador. El retrato de fase de la Fig. 4.5 muestra como, incrementando la cantidad de parásitos inoculados n_{10} , el estado final de muerte es sustituido por el atractor de curación. Este resultado puede ser comparado con los hallazgos de Basso y colaboradores [69, 70], quienes desarrollaron un modelo murino de vacunación en contra del *T. cruzi* usando el parásito *T. rangeli*. Los ratones inmunizados con *T. rangeli* mostraron una fuerte reducción en los niveles parasitarios del *T. cruzi*, como también una alta tasa de supervivencia a inoculaciones letales con el parásito (este tema es estudiado en detalle en el siguiente capítulo).

La idea de que una cepa “suave” del *T. cruzi* (JG) podría atenuar los efectos de una cepa más agresiva (CL-Brener) fue también investigada por Franco y colegas [62], quienes encontraron tropismo tisular diferencial al término de la etapa aguda. Ellos observaron que la cepa JG apuntó únicamente al tejido muscular cardíaco mientras el clon CL-Brener apuntó al tejido esquelético y otros órganos. Esto es curioso dado que cuando se tiene una infección con solo la cepa CL-Brener el corazón es el principal órgano afectado durante la fase aguda. Sin embargo, observaron una drástica reducción o eliminación del clon virulento, baja mortalidad y parasitemia, y daño histológico más leve. Este desplazamiento de la cepa más agresiva es coherente con los resultados aquí expuestos ya que se encuentra que dos cepas no pueden coexistir en el estado crónico, además de que la introducción de una segunda cepa podría incrementar las posibilidades de evitar la muerte del hospedador.

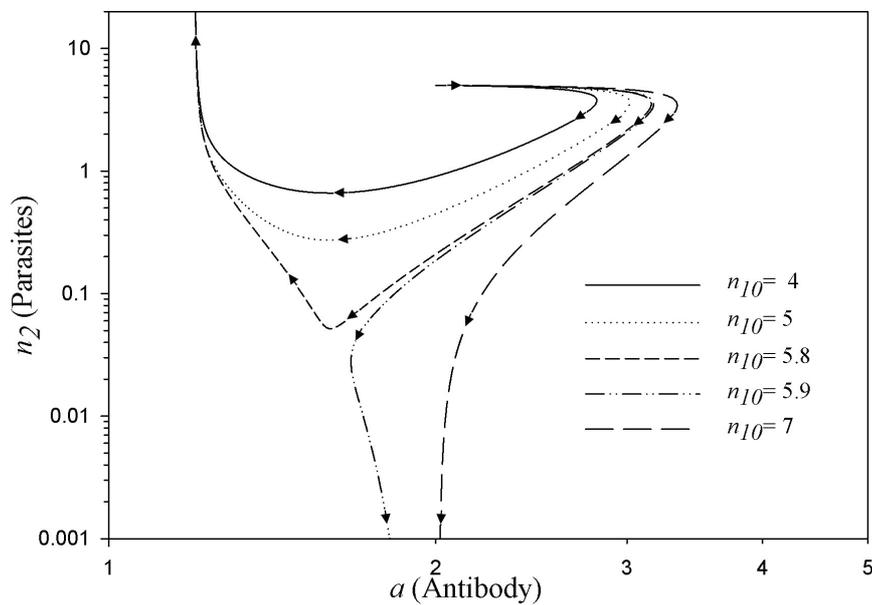


Figura 4.5: Retrato de fase n_2 vs. a , para varios tamaños de inoculación de la cepa n_1 (n_{10}). Si incrementamos el tamaño de n_{10} , el atractor del sistema se corre desde la muerte (caso III.d) hacia el de curación (caso I). En todos los casos, n_1 desaparece. Los parámetros de la cepa n_2 son los mismos que en la Fig. 4.2. $n_{20} = 5$, y los valores de n_{10} están expuestos en la figura.

Capítulo 5

Pre-infectando para Curar

5.1. Introducción

En los últimos años el modelado matemático se ha convertido en una herramienta útil para estudiar mecanismos de defensa en contra de parásitos o bacterias [71]-[73]. En el capítulo anterior ese encontró que una cepa parasitaria puede causar un decrecimiento del nivel parasitario de otra cepa cuando el mamífero posee una infección mixta. Siguiendo esta línea, en este capítulo se pretende hacer un análisis de los estudios de Basso [69, 70], [74]-[78], Zuñiga [79] y Palau [80], donde proponen usar otro tripanosoma, el *Tripanosoma rangeli*, para combatir la propagación del *T. cruzi*.

El *T. rangeli*, también disperso por Latinoamérica [81]-[83], se transmite por la mordedura de un insecto triatomino a través de su saliva (no las heces como el *T. cruzi*) y es no-patogénico en los mamíferos vertebrados [84]. Debido a su inocuidad, hay pocos estudios de este parásito; por ende, su ciclo de vida en mamíferos es todavía un misterio sin develar. Existen algunos estudios que muestran la presencia de formas amastigóticas en ratones infectados experimentalmente. En particular, Urdaneta-Morales y Tejero [85] reportaron quistes intracelulares o pseudoquistes, conteniendo amastigotes y tripomastigotes de este parásito (cepa Dog-82 del *T. rangeli*, cultivada durante 12 días) en el corazón, hígado y bazo de un ratón macho blanco lactante de la especie NMRI. Osorio *et al.* [86] también observaron formas amastigóticas en una infección experimental *in vitro* de la línea celular histiocítica U937 (*U937 histiocytic cell line*). Cabe destacar que ambos estudios citados anteriormente observaron formas intracelulares del *T. rangeli* pero estas carecieron de replicación. A diferencia de lo anterior existen otros experimentos donde no se han reportado formas intracelulares. Por ejemplo,

Eger-Mangrich *et al.* [87], observaron baja infectividad pero ninguna replicación intracelular del *T. rangeli* (cepas Choachi, Macias, y el clon SC-58 B1) en promonocitos murinos y células Vero. Añez [88] observó únicamente formas sanguíneas circulantes en ratones Albino y *Didelphis Marsupialis* picados cuatro veces por triatomíneos *R. prolixus* infectados con el parásito *T. rangeli*. Barbosa *et al.* [89] desarrolló un método *in vitro* para inducir una alta diferenciación del *T. rangeli*, para probar que la infectividad de esos tripomastigotes derivados de un cultivo en ratones Balb-C era nula, puesto que solo encontró parásitos circulando en el flujo sanguíneo. Considerando los estudios anteriores, asumimos que los tripomastigotes del *T. rangeli* se reproducen por fisión binaria en el flujo sanguíneo, despreciando la existencia de formas intracelulares, debido a la falta de estudios que comprueben o evidencien la replicación del parásito en estado amastigótico.

Ambos parásitos, *T. cruzi* y *T. rangeli*, comparten áreas endémicas y vectores [83, 90, 91], y poseen una fuerte relación antigénica [74, 92, 93]. Como consecuencia ocurren infecciones mixtas *T. cruzi*-*T. rangeli*, haciendo difícil el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Basado en esto, algunos investigadores como Basso [74]-[78], Zuñiga [79] y Palau [80] han propuesto un procedimiento de vacunación para la enfermedad de Chagas. Ellos realizaron experimentos en ratones y perros, usando epimastigotes del *T. rangeli* para generar protección en contra de una posterior infección con *T. cruzi*. Sus hallazgos consisten en que el nivel parasitémico del *T. cruzi* era menor y con un tiempo de duración más corto en animales previamente infectados con *T. rangeli*. Basso indica que esta inmunización con parásitos del *T. rangeli* provoca una respuesta específica de células T y células B en contra del *T. cruzi*, asociado con altos niveles de anticuerpos específicos y un patrón particular de citocinas, finalizando en una fuerte reducción en la tasa de mortalidad de los ratones infectados. La introducción del *T. rangeli* induce un incremento en varias moléculas de anticuerpos (IgG, IgM, IgE) [78], las cuales son también isotipos de anticuerpos específicos del *T. cruzi* [33]. La vacunación con *T. rangeli* produce un aumento en las poblaciones de isotipos de anticuerpos IgG1, IgG2a, IgG2b, IgGE e IgM. Los isotipos de anticuerpos del tipo IgG, especialmente el IgG2, reconocen un gran número de antígenos del parásito e intensifican el proceso de opsonización¹.

El rol protector de los anticuerpos en la fase aguda de la infección depende mayormente de su habilidad para inducir la eliminación de los parásitos

¹es el proceso en el cual se marca a un patógeno para su ingestión y destrucción por un fagocito

circulantes en sangre. La previa inmunización con parásitos del *T. rangeli* produce un aumento en los niveles de anticuerpos (comunes a ambos parásitos) y por consecuencia una defensa inmune ampliamente mejorada en una posterior infección con parásitos del *T. cruzi*. En los experimentos de Basso se encontró que más del 95% de los ratones vacunados sobrevivieron a una infección letal de *T. cruzi*, mostrando una disminución considerable de la parasitemia durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas [76].

En este capítulo se describe, a través del modelo expuesto en la sección 3.2 de esta tesis, la interacción de la respuesta inmune humoral de un mamífero y el *T. rangeli*. Cabe destacar que este trabajo es el primer intento para reproducir la interacción de este parásito con el sistema inmune. El objetivo es explicar la dinámica del parásito dentro del organismo hospedador y construir las bases para reproducir los experimentos de Basso [76]. Aquí se realiza un análisis cuantitativo de la reacción inmune observada en contra de las dos poblaciones de parásitos (*T. rangeli* y *T. cruzi*). A través del modelo se desea entender porque el *T. rangeli* podría ser usado como una vacuna en contra de la enfermedad de Chagas, teniendo en cuenta la competencia entre los parásitos *T. cruzi*, *T. rangeli* y algunas especies de anticuerpos.

5.2. Modelo Para el Tripanosoma Rangeli

Considerando la ausencia de evidencia de replicación intracelular del *T. rangeli* [87]-[89], se trabaja con una versión anterior del modelo de la infección de Chagas expuesta en la sección 3.2 de esta tesis [31, 34], el cual hace un análisis de la dinámica de una población parasitaria que se reproduce por fisión binaria. Aplicando el modelo a la situación en estudio, llamamos $m(t)$ al número de parásitos del *T. rangeli*, que se incrementa a una tasa κ_m debido a su reproducción, y decrece debido a la interacción con anticuerpos. Asumiendo que existen N especies de anticuerpos capaces de mediar la eliminación del parásito, se cuantifica la probabilidad de la eliminación del parásito debido a un encuentro con un anticuerpo a través del conjunto de coeficientes $\alpha_{i,m}(t)$. Para facilitar la identificación todos los parámetros asociados a la infección con el parásito *T. rangeli* llevan el subíndice m . La evolución de $m(t)$ esta dada por

$$\frac{dm(t)}{dt} = \kappa_m m(t) - \sum_{i=1}^N \alpha_{i,m}(t) a_i(t) m(t) \quad (5.1)$$

donde $a_i(t)$ es el número de anticuerpos de la especie i al tiempo t . Este número de anticuerpos incrementa a una tasa $\gamma_{i,m}$ debido a la activación

inducida por la presencia del parásito *T. rangeli*. Sin embargo, el proceso de producción no es instantáneo y el modelo considera que hay un retraso $\theta_{i,m}$ entre la dinámica de crecimiento del parásito y la creación de anticuerpos. El modelo también supone que las especies de anticuerpos i tienen un tiempo de vida intrínseco τ_i y una población de equilibrio a_{i0} en ausencia de parásitos. Con esas consideraciones la ecuación de evolución para la población de anticuerpos es:

$$\frac{da_i(t)}{dt} = \gamma_{i,m}m(t - \theta_{i,m}) - \alpha_{i,m}(t)a_i(t)m(t) + \frac{1}{\tau_i} [a_{i0} - a_i(t)] \quad (5.2)$$

Para modelar el proceso de optimización de la especificidad de los anticuerpos, se asume que la eficiencia en la eliminación $\alpha_{i,m}(t)$ es gobernada por un proceso de aprendizaje exponencial:

$$\alpha_{i,m}(t) = \alpha_{Ai,m} + \alpha_{Bi,m}(1 - \exp[-t/T_i]) \quad (5.3)$$

Esta función describe un incremento suave de la eficiencia de los anticuerpos desde un valor inicial $\alpha_{Ai,m}$ a un valor de saturación $\alpha_{Ai,m} + \alpha_{Bi,m}$ con un “tiempo de aprendizaje” T_i para las diferentes especies de anticuerpos i . Como se puede observar el modelo usado es el descrito en la sección 3.2, por lo cual las ecuaciones son similares.

5.2.1. Estados Estacionarios

Como se puede apreciar, las Ecs. 5.1 y 5.2 son las mismas que especificamos anteriormente en la Sec. 3.2 para describir la reproducción por fisión binaria del parásito. Los resultados que se obtienen del análisis de los estados estacionarios (al hacer sus derivadas iguales a cero y considerar una especie de anticuerpo en el régimen asintótico, $t \rightarrow \infty$) son los mismos obtenidos en la sección 3.2.1, donde también puede encontrarse la definición de cada uno de estos estados. Sin embargo, si se enunciarán las condiciones para que estos ocurran, así el lector puede familiarizarse con las condiciones asociándolas con la notación de sus parámetros. Los estados asintóticos que obtenidos son:

- I. Curación: Para $\kappa_m < \alpha_m a_0$ y $\kappa_m < \gamma_m$
- II. Enfermedad Crónica: Si $\alpha_m a_0 < \kappa_m < \gamma_m$
- III. Muerte del Organismo Hospedador: Si $\alpha_m a_0 < \kappa_m$ y $\gamma_m < \kappa_m$
- IV. Dependencia de la Inoculación: Para $\gamma_m < \kappa_m < \alpha_m a_0$

Parámetros	T. rangeli		T. cruzi
	Barbosa	Zuñiga	Zuñiga
γ_{IgM}	$4,75 \times 10^9$	$6,65 \times 10^8$	$4,03 \times 10^9$
γ_{IgG1}	$1,92 \times 10^{11}$	$2,69 \times 10^{10}$	$1,63 \times 10^{11}$
γ_{IgG2a}	$5,9 \times 10^{11}$	$8,29 \times 10^{10}$	$5,54 \times 10^{11}$
$\alpha_{A;IgM}$	$5,2 \times 10^{-20}$	$1,36 \times 10^{-20}$	$1,17 \times 10^{-20}$
$\alpha_{B;IgM}$	$3,76 \times 10^{-20}$	$9,87 \times 10^{-21}$	$8,46 \times 10^{-21}$
$\alpha_{A;IgG1}$	0	0	0
$\alpha_{B;IgG1}$	$1,36 \times 10^{-18}$	$3,59 \times 10^{-19}$	$3,07 \times 10^{-19}$
$\alpha_{A;IgG2a}$	0	0	0
$\alpha_{B;IgG2a}$	$4,64 \times 10^{-18}$	$1,21 \times 10^{-18}$	$1,04 \times 10^{-18}$

Cuadro 5.1: Valores de los parámetros correspondientes al ajuste de los datos experimentales de Barbosa *et al* (2002) [89] y Zuñiga *et al* (1997) [79]. $\alpha_{i,m}$ es medido en ($ml/días$) y $\gamma_{i,m}$ es medido en $días^{-1}$.

5.2.2. Validación del Modelo

Para validar el modelo y usarlo para comprender la interacción sistema inmune-parásito dentro del mamífero, se reprodujeron datos experimentales. En particular, aquellos obtenidos por Barbosa *et al.* [89] y Zuñiga *et al.* [79] (ver Fig. 5.1). Para reproducir los datos experimentales se asumen tres especies de anticuerpos, IgM, IgG1 e IgG2a, los cuales son anticuerpos específicos para el T. cruzi y el T. rangeli [78]. Los valores de los parámetros asociados con las poblaciones de anticuerpos (mostrados en el Cuadro 5.1) se escogieron de tal forma que representaran un buen ajuste visual entre los datos experimentales y las predicciones del modelo. La Fig. 5.1(a) muestra la comparación entre el modelo y los datos experimentales de Barbosa [89] en ratones de la especie *BALB-C* inoculados intraperitonealmente con 3×10^5 tripomastigotes de las cepas *SC-58* y *Choachi* del T. rangeli. Los valores de los parámetros relacionados con el parásito (obtenidos del ajuste) fueron $\kappa_m = 0.6[días^{-1}]$, y $m_0 = 7365[ml^{-1}]$. Los valores de los parámetros a_{i0} , $\theta_{i,m}$, τ_i , y T_i , son los mismos que se usaron anteriormente [34] para ajustar las mismas especies de anticuerpos en ratones *BALB-C* infectados con la cepa *Tehuantepec* del T. cruzi en un experimento de El Bouhdidi *et al.* [33]. Los valores de los parámetros se muestran en el Cuadro 5.2, pero en otras unidades (días).

Cabe resaltar que los experimentos de Zuñiga [79] fueron realizados para investigar el efecto protector del T. rangeli en contra de la infección con T.

Anticuerpos	a_i	a_{i0} [1/ml]	T_i	τ_i	θ_i
IgM		6×10^{15}	16.8	58.1	0.35
IgG1		2.5×10^{17}	42.7	49.7	3.5
IgG2a		1.2×10^{18}	49.7	49.7	3.5

Cuadro 5.2: Valores de los parámetros para los anticuerpos específicos del T. cruzi y el T. rangeli. T , τ y θ son medidos en *días*.

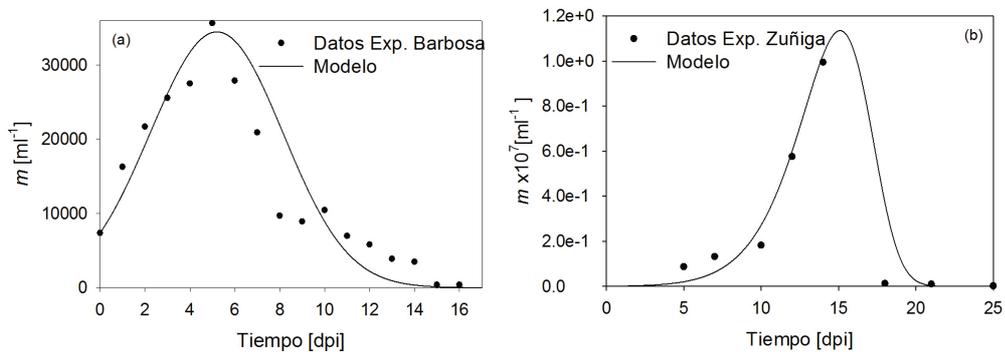


Figura 5.1: Comparación del modelo con datos experimentales de la población del T. rangeli. Datos tomados de (a) *Barbosa et al.* (2002) [89], y (b) *Zuñiga et al.* (1997) [79].

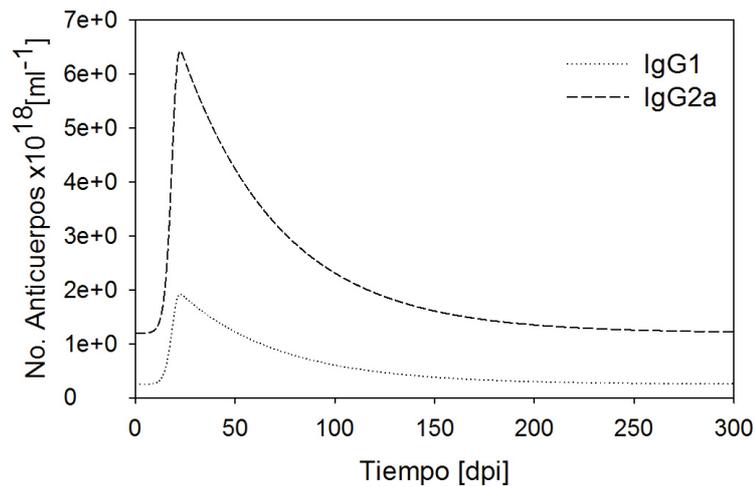


Figura 5.2: Evolución de la población de anticuerpos específicos del T. rangeli en el experimento de Zuñiga [79].

cruzi. En su trabajo, los autores estudiaron el nivel parasitario en un ratón de un mes de edad de la especie *Swiss Ico* infectado con 3×10^5 tripomastigotes de la cepa *C-23* del *T. rangeli*. Siguiendo el mismo procedimiento realizado con el experimento de Barbosa, se ajustaron también los datos experimentales de Zuñiga (ver Fig. 5.1(b)). En este caso, el valor de la tasa de replicación del parásito fue $\kappa_m = 0,74[\text{dias}^{-1}]$. Los valores de los parámetros de los anticuerpos se muestran en los Cuadros 5.1 y 5.2. A partir de nuestro modelo es posible inferir que la infección con *T. rangeli* produce una excitación del nivel de anticuerpos. Esta excitación se puede observar en la Fig. 5.2, la cual fue hecha tomando los parámetros usados para ajustar el experimento de Zuñiga [79]. No se muestra la evolución de la población de anticuerpos IgM ya que su variación es indistinguible de las otras poblaciones.

Es interesante que los valores de $\alpha_{i,m}$ y $\gamma_{i,m}$ en el trabajo de Barbosa son respectivamente cinco y ocho veces más grandes que aquellos obtenidos previamente para ratones infectados con *T. cruzi* [34]; mientras que para el trabajo de Zuñiga fueron solo 0.7 y 2.1 veces mayor respectivamente. Esta similitud entre los parámetros del *T. rangeli* y el *T. cruzi* puede ser debido a las características biológicas que tienen en común estos parásitos (ellos comparten áreas endémicas, reservorios y vectores, además de expresar una alta similitud antigénica [78]). El *T. rangeli* y el *T. cruzi* también provocan una respuesta humoral similar, ya que el *T. rangeli* induce una respuesta humoral de los isotipos de anticuerpos IgG, IgM e IgE [78], los cuales son también anticuerpos específicos del *T. cruzi* [33].

5.3. Reacción Cruzada

5.3.1. Modelo para una infección mixta *T. rangeli*-*T. cruzi*

Como fue mencionado anteriormente, Basso y sus colaboradores [74]-[78] mostraron que el parásito *T. rangeli* ofrece un efecto protector en contra de infecciones con *T. cruzi*. En sus experimentos, ellos primero preinfectan ratones con *T. rangeli*, introduciendo los parásitos de *T. cruzi* un par de días después. Basso y sus colaboradores observaron que la preinfección con *T. rangeli* produce inmunización, causando una fuerte reducción en niveles de mortalidad y parasitemia con respecto a ratones que no fueron pre-inmunizados o no-vacunados.

En el capítulo anterior se estudió en detalle una infección mixta de dos cepas del *T. cruzi* y su interacción con una especie de anticuerpo durante la

fase aguda de la enfermedad de Chagas [94]. Mostramos diagramas de fase y se obtuvieron estados estacionarios tanto para las cepas parasitarias como para la especie de anticuerpo promedio considerada. La situación aquí es bastante similar, se analiza una infección mixta de dos tripanosomas excepto que esta vez ellos tienen diferentes procesos de reproducción: la replicación extracelular del *T. rangeli* y la replicación intracelular del *T. cruzi*. Mientras las ecuaciones de evolución de las poblaciones parasitarias no son modificadas respecto a los modelos para infecciones individuales (Ecs. (3.18) y (3.19) para *T. cruzi*, y Ec. (5.1) para *T. rangeli*), la evolución temporal de los anticuerpos si es afectada por la presencia de ambas poblaciones parasitarias simultáneamente, y por tanto se añaden términos que indican esas interacciones:

$$\begin{aligned} \frac{da_i(t)}{dt} = & \gamma_{i,m}m(t - \theta_{i,m}) + \gamma_{i,n}n(t - \theta_{i,n}) \\ & - \alpha_{i,m}(t)a_i(t)m(t) - \alpha_{i,n}(t)a_i(t)n(t) + \frac{1}{\tau_i} [a_{i0} - a_i(t)] \end{aligned} \quad (5.4)$$

donde m refiere a la población de *T. rangeli*, como en la Sección 5.2, y n a la población del parásito *T. cruzi*. Para reproducir los experimentos consideramos que transcurre un intervalo de tiempo t^* al momento de la inoculación del *T. cruzi* desde que el hospedero mamífero fue primero inoculado con *T. rangeli*. La población del *T. cruzi* será nula hasta ese tiempo t^* , siendo $n(t^*)$ el tamaño de la inoculación con parásitos de *T. cruzi*. Hemos asumido el mismo proceso de aprendizaje para la eficiencia de eliminación $\alpha_{i,n}$ de ambas poblaciones parasitarias por parte de las i especies de anticuerpos. Entonces el sistema de ecuaciones compuesto por las Ecs. (3.24), (3.25), (5.1) y (5.4) será el que se usará para describir la dinámica de una infección mixta *T. rangeli-T. cruzi* y la respuesta del sistema inmune humoral de un mamífero.

5.3.2. Estados Estacionarios de una Infección Mixta de *T. rangeli-T. cruzi*

A continuación se muestra el análisis del comportamiento asintótico ($t \rightarrow \infty$) del sistema de ecuaciones (Ecs. 3.24, 3.25, 5.1 y 5.4) considerando una sola especie de anticuerpos. Puesto que los valores de los parámetros del modelo para el *T. rangeli*, incluyendo sus efectos no-patológicos son conocidos, no se consideran todas las posibles combinaciones de los parámetros (como se hizo en una infección mixta con dos especies del mismo parásito en el capítulo anterior). Solamente se tiene en cuenta la condición que guía a un estado de curación ($\kappa_m < \gamma_m$ y $\kappa_m < \alpha_m a_0$) ya que los reportes consultados en la literatura indican que toda infección con *T. rangeli* en un organismo mamífero

es siempre eliminada. Luego, ya establecida la condición para el *T. rangeli*, se obtienen tres posibles estados asintóticos dependiendo de los parámetros del *T. cruzi*:

- I. *Curación.* Si $\kappa_n = (N_r - 1)\xi < \alpha_n a_0$ (una tasa de reproducción parasitaria baja), ambas poblaciones de parásitos desaparecen a tiempos largos y el sistema regresa a sus condiciones iniciales ($r_s = 0, n_s = 0, m_s = 0, a_s = a_0$) para cualquier valor de γ_n .
- II. *Enfermedad crónica causada por la infección del *T. cruzi*.* La población del *T. rangeli* desaparece, pero un estado de equilibrio es alcanzado con el tiempo por las poblaciones del *T. cruzi*, las células infectadas y la de los anticuerpos. Los valores asintóticos de las poblaciones son:

$$r_s = \frac{\xi}{\eta} n_s, \quad n_s = \frac{\kappa_n - \alpha_n a_0}{\tau \alpha_n (\gamma_n - \kappa_n)}, \quad a_s = \frac{\kappa_n}{\alpha_n}$$

Las condiciones para obtener este estado son, $\kappa_n > \alpha_n a_0$ y

$$\gamma_n > \gamma_c(\kappa_n) = \frac{B_0 + B_1 \kappa_n + B_2 \kappa_n^2 + B_3 \kappa_n^3}{A_0 + A_1 \kappa_n + A_2 \kappa_n^2} \quad (5.5)$$

donde A_i y B_i son constantes muy complejas que dependen de los parámetros $\xi, \alpha_n, \alpha_m, \eta, a_0$, y κ_m .

- III. *Muerte del organismo mamífero hospedador.* Si $\gamma_n < \gamma_c$ y $\alpha_n a_0 < \kappa_n$. Este caso es dividido en dos sub-casos:

III.a Muerte del organismo mamífero hospedador debido al ilimitado crecimiento de la población del parásito *T. cruzi*, mientras la población del *T. rangeli* es eliminada. La condición extra para este caso es $\gamma_n > \frac{\alpha_n}{\alpha_m} \kappa_m$. Mientras n crece sin control, la población de anticuerpos alcanza el valor asintótico dado por:

$$a_s = \frac{\gamma_n}{\alpha_n} \quad (5.6)$$

III.b Si $\gamma_n < \frac{\alpha_n}{\alpha_m} \kappa_m$ la muerte del organismo mamífero hospedador es debido al ilimitado crecimiento de ambas poblaciones parasitarias *T. rangeli* (m) y *T. cruzi* (n) mientras la población de anticuerpos va al mismo valor del caso III.a.

De nuevo, la estabilidad de las soluciones estacionarias es probada usando el criterio de Routh-Hurwitz [28]. Cabe notar que el valor de las poblaciones

del parásito *T. cruzi* y la de anticuerpos no dependen de los parámetros de la población del *T. rangeli*. Los valores de las poblaciones de anticuerpos y del *T. cruzi* son los mismos que se obtienen cuando la infección es causada únicamente por este parásito, como se obtuvo en la sección 3.2.4.

Para observar mejor los estados estacionarios se construye un diagrama de fase en el plano definido por las tasas de crecimiento γ_n y $\kappa_n = (N_r - 1)\xi$, asumiendo una especie promedio de anticuerpos. Esto es mostrado en la Fig. 5.3, donde fijamos los valores de los parámetros como $\eta = 1$, $\xi = 10$, $\alpha_n = \alpha_m = 2,5$, $\kappa_m = 4$, $\gamma_n = 6$, $\tau = 10$ y $a_{10} = 2$. Se puede observar que la presencia del parásito *T. rangeli* modifica algunas de las fronteras entre los diferentes casos. En particular, el borde entre los casos crónico (II) y muerte del mamífero hospedador (III). En una infección con solamente *T. cruzi* la frontera es $\gamma_n = \kappa_n$ (Fig. 3.1), mientras en una infección mixta *T. cruzi-T. rangeli* el borde cambia a $\gamma_n = \gamma_c(\kappa_n)$ (Ec. 5.5). Esto conlleva a un incremento (decrecimiento) de la zona de la condición de cronicidad en el diagrama de fase (muerte del hospedador), mejorando las oportunidades para sobrevivir a la infección. Por otra parte, la zona dependiente de la inoculación desaparece, incrementando las posibilidades de curación. Es también posible observar la subdivisión de los casos de muerte del hospedador en dos nuevos subcasos (III.a y III.b). La frontera entre los casos crónico y curación sigue teniendo el mismo valor ($\kappa_n = \alpha_n a_0$).

5.3.3. Comparación con Experimentos

A continuación se muestra una verificación del modelo para una infección mixta cuando se compara con datos experimentales extraídos de la literatura [79]. Como se mencionó antes, Zuñiga [79] realizó experimentos con infecciones mixtas usando parásitos de la cepa *Y* del *T. cruzi* y la cepa *C-23* del *T. rangeli* en ratones machos de la especie *Swiss Ico*. La población parasitaria del *T. rangeli* se introdujo cuando el ratón tenía 15 días de nacido, y dos semanas después inocularon los parásitos del *T. cruzi*. En ambas ocasiones el número de parásitos inoculados fue 3×10^5 tripomastigotes. Como los parámetros del modelo son distintos para diferentes combinaciones de cepas/especies del mamífero, nosotros comenzamos por ajustar los datos de cada cepa parasitaria de manera independiente. La Fig. 5.4 muestra los datos de Zuñiga [79] de una infección con parásitos de la cepa *Y* del *T. cruzi*, junto con la curva que arroja el modelo, escogida de manera que sea un buen ajuste visual. Los valores de los parámetros relacionados con la replicación intracelular del parásito *T. cruzi* *Y* son $N_r = 2.28$, $\xi = 1.05[\text{dias}^{-1}]$, $\eta = 0.7[\text{dias}^{-1}]$, $n_0 = 3 \times 10^5[\text{ml}^{-1}]$, mientras que los relacionados con la población de anticuerpos

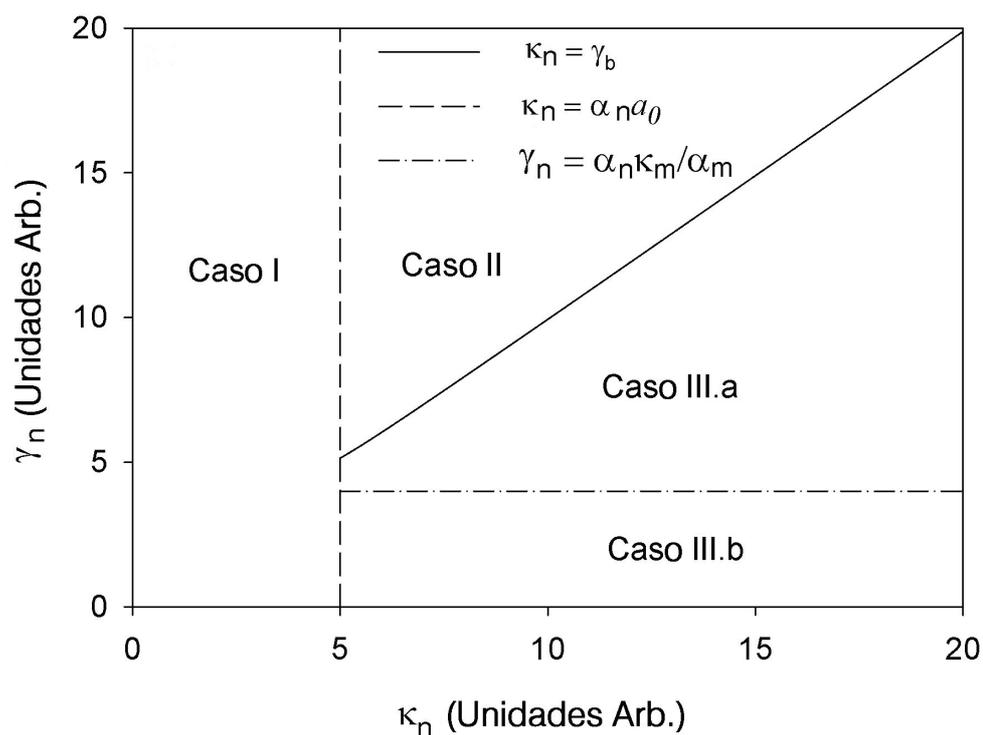


Figura 5.3: Diagrama de fase que describe el resultado de una infección mixta *T. rangeli*-*T. cruzi* en términos de la tasa efectiva de reproducción κ_n del parásito *T. cruzi* y la tasa de generación de anticuerpos γ_n . Casos: I. Curación, II. Crónico, III. Muerte del Hospedero subdividido en dos subcasos: III.a (III.b) por el crecimiento exponencial de la población del *T. cruzi* (*T. cruzi* y *T. rangeli* simultáneamente).

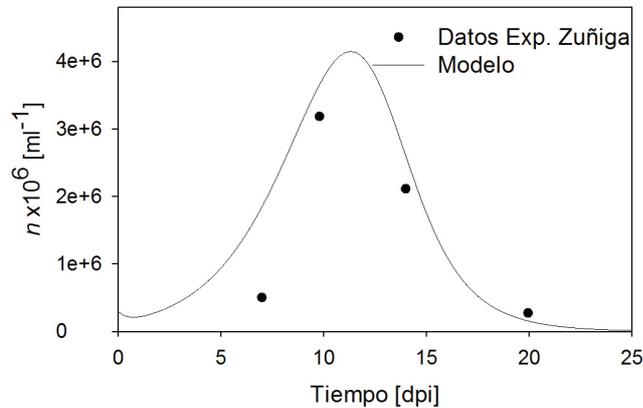


Figura 5.4: Comparación de los datos experimentales de la población parasitaria del *T. cruzi* obtenidos por *Zuñiga et al.* (1997) con la predicción del modelo. Los valores de los parámetros son mostrados en los Cuadros 5.1 y 5.2

se muestran en los cuadros 5.1 y 5.2. Con este conjunto de valores de los parámetros, en combinación con los que se obtuvieron del experimento de Zuñiga en el ajuste de la población parasitaria C-23 del *T. rangeli* (también mostrados en el Cuadro 5.1), se pudo reproducir en la Fig. 5.5 los niveles parasitémicos del *T. cruzi* en un experimento de una infección mixta. Cabe mencionar que los parámetros $\alpha_{Ai,n}$ y $\alpha_{Bi,n}$ fueron escogidos para mostrar el mejor acuerdo visual con los datos experimentales. Los valores encontrados tienen un error de aproximadamente 1%, estimado a partir de la variación mínima del parámetro para observar una divergencia entre el modelo y los datos experimentales. En la figura, también es posible observar el efecto protector de una pre-infección con *T. rangeli* en contra de una infección con *T. cruzi*, ya que al incrementar el tamaño de la inoculación del *T. rangeli*, el nivel parasitémico del *T. cruzi* se reduce significativamente.

En la Fig. 5.5, las diferentes curvas corresponden a diferentes valores de la inoculación del parásito *T. rangeli*. Es claro que al incrementar el número de parásitos del *T. rangeli* ocurre un decrecimiento en el nivel de parásitos del *T. cruzi* debido a la sobre-excitación del sistema inmune. La infección inicial con parásitos del *T. rangeli* produce un incremento en los niveles de anticuerpos, lo cual causa que el mamífero esté mejor adaptado para atacar los nuevos parásitos del *T. cruzi* en una posterior infección. Esto se aprecia en la Fig. 5.6, donde se muestra el nivel de anticuerpos en una infección con *T. cruzi*, con y sin tratamiento previo. El número de anticuerpos en una

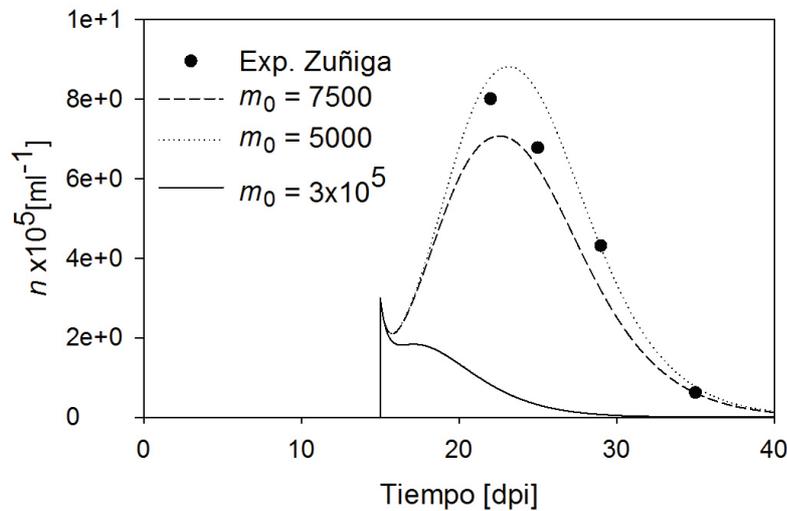


Figura 5.5: Comparación del modelo con los datos experimentales obtenidos por Zuñiga [79] en una infección mezclada *T. rangeli*-*T. cruzi* cuando el hospedero es preinfectado con diferentes tamaños de inoculación de parásitos del *T. rangeli*.

infección mixta *T. rangeli*-*T. cruzi* es más alto al principio de la infección con *T. cruzi*, como resultado de la inmunización previa con *T. rangeli*. Este alto nivel de anticuerpos se enlazan e inhabilitan a los nuevos parásitos circulantes del *T. cruzi* inoculados y por consecuencia se reduce el número de anticuerpos y la población parasitaria a tiempos largos. El elevado nivel inicial de anticuerpos también causa reducción del daño celular, puesto que al eliminar los tripomastigotes del *T. cruzi* se les impide que colonizen las células y se repliquen dentro de ellas. Esto puede ser observado en la Fig. 5.7, donde el número de células infectadas en una infección con solo *T. cruzi* es comparada con el caso de ratones previamente inmunizados con *T. rangeli*. El daño es seis veces menor, lo cual le da más oportunidades al mamífero inmunizado de evitar un crecimiento ilimitado de la infección o aún mejor le da posibilidad de curarse. En nuestras simulaciones el tiempo que esperamos entre la inoculación del *T. rangeli* y la inoculación con *T. cruzi* fue de $t^* = 15 \text{dpi}$, tal como lo hizo Zuñiga y sus colaboradores en sus experimentos con modelos murinos [79].

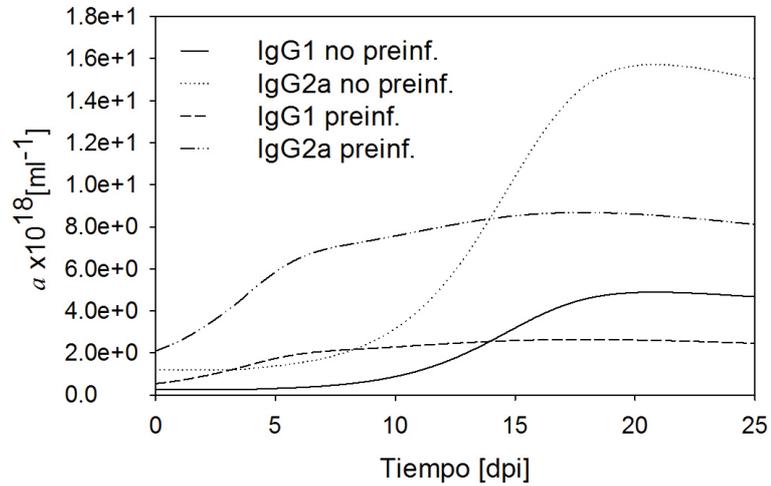


Figura 5.6: Comparación de los niveles de anticuerpos pronosticados por el modelo en ratones no-preinfectados y preinfectados con *T. rangeli*. Los valores de los parámetros y datos usados fueron aquellos que se obtuvieron del ajuste del experimento de Zuñiga.

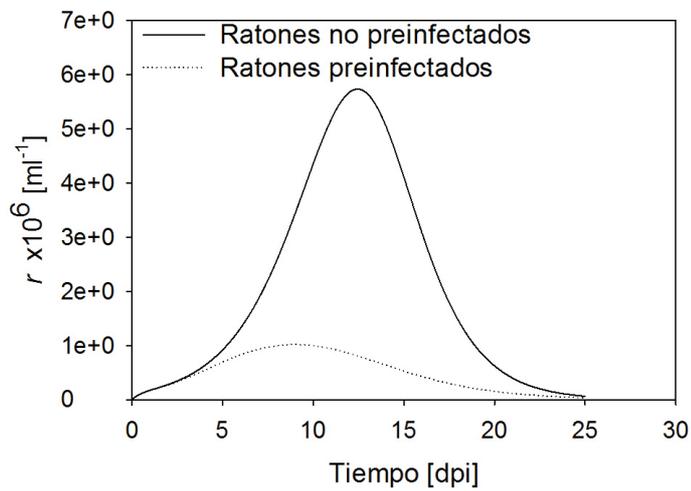


Figura 5.7: Comparación del daño celular en un ratón preinfectado y no-preinfectado con *T. rangeli* predichos por el modelo. Los valores de los parámetros y datos usados fueron aquellos que se obtuvieron del ajuste del experimento de Zuñiga.

5.4. Discusión

Anteriormente se había desarrollado un modelo para describir la dinámica de una población parasitaria con reproducción por fisión binaria (Sección 3.2) [31], el cual fue usado por primera vez para modelar la interacción entre el parásito *T. rangeli* y el sistema inmune de un hospedero mamífero. El modelo predice tres diferentes estados estacionarios (curación, crónico y muerte), y al compararlo con datos experimentales muestra una buena aproximación. Si se construye un diagrama de fase en el plano $\kappa_m - \gamma_m$, se obtiene una gráfica similar a la Fig 3.1. Ajustando diferentes experimentos (en particular, los resultados de Barbosa [89] y Zuñiga [79]), se pudo confirmar que una infección con este parásito cae en la zona del Caso I (curación) del diagrama de fase $\kappa_m - \gamma_m$. La razón por la cual se dice que cae en la zona de curación es porque los valores de sus parámetros cumplen con la condición establecida para este estado ($\kappa_m < \alpha_m a_0$). Este hecho indica que el sistema evoluciona hacia un estado estacionario saludable, lo cual concuerda con las observaciones clínicas, puesto que nunca se han reportado casos crónicos o parasitemia perdurables en el tiempo del *T. rangeli*.

El modelo fue extendido agregando las interacciones con la población del parásito *T. cruzi* para analizar los efectos de una infección mixta durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas. Una preinfección con *T. rangeli* activa el sistema inmune, lo que conlleva a un incremento inicial en el nivel de anticuerpos y provee inmunización en contra de una invasión posterior con *T. cruzi*. Se encontró que esta inmunización es solo un efecto temporario. El *T. rangeli* es un parásito no-patogénico, y por lo tanto es eliminado por los anticuerpos mientras el organismo mamífero regresa a sus condiciones iniciales saludables ($m_s = 0$, $a_s = a_0$) con el transcurrir del tiempo. De este modo el mamífero eventualmente pierde sus altos niveles de anticuerpos y una nueva infección con *T. cruzi* encontrará poca resistencia.

El efecto protector de una inoculación previa con *T. rangeli* sobre una infección con *T. cruzi* puede ser mejor comprendido analizando como se modifica el diagrama de fase $\kappa_n - \gamma_n$. En la Fig. 5.8 tenemos un diagrama de fase en el cual hemos marcado los valores correspondientes al ajuste de datos experimentales considerando diferentes combinaciones de especies de ratones y cepas parasitarias del *T. cruzi* (El Bouhdidi [33] y Andersson [95]). Como los datos han sido ajustados considerando varias especies de anticuerpos (IgM, IgG1 e IgG2a), se puede sumar los efectos de las tres especies de anticuerpos en una sola especie de anticuerpo efectivo, con parámetros $\gamma_n = \sum_{i=1}^3 \gamma_{i,n}$ y $\alpha_n a_0 = \sum_{i=1}^3 \alpha_{i,n} a_{i0}$. La razón para considerar $\gamma_n = \sum_{i=1}^3 \gamma_{i,n}$ es que al

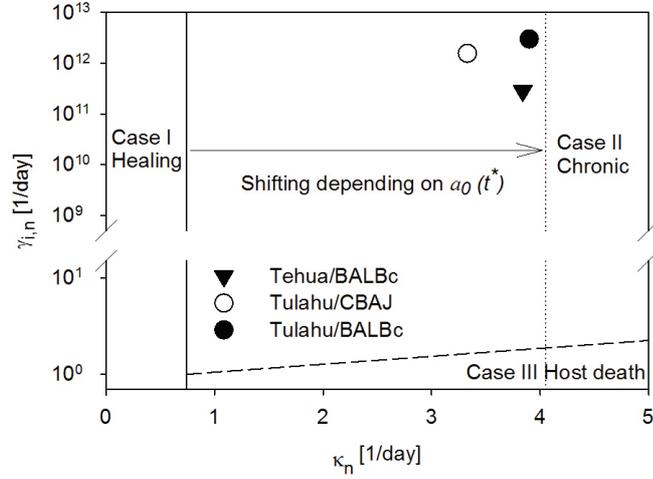


Figura 5.8: Transición de casos crónicos de una infección con *T. cruzi* a casos de curación. $N_r = [1 + \alpha_{i,n}a_0]/\xi = 3.47$, $N_r(t^* = 22.56 \text{ días}) = [1 + \alpha_{i,n}a_0(t^*)]/\xi = 14.5$ y $\bar{\xi} = 0.3[1/\text{días}]$

a	α_A (ml/d)	α_B (ml/d)	γ (1/d)
IgM	6.5×10^{-21}	4.7×10^{-21}	2.8×10^9
IgG1	0	1.71×10^{-19}	1.14×10^{11}
IgG2a	0	5.8×10^{-19}	3.57×10^{11}

Cuadro 5.3: Valores de los parámetros de los anticuerpos específicos del *T. cruzi* obtenidos del ajuste de los datos de El Bouhdidi [33] en días. d representa días. Los valores de γ son distintos en el caso de las experiencias de Andersson [95].

tener varias especies de anticuerpos, la inducción de anticuerpos total debido a la presencia del parásito será $\gamma_1 n + \gamma_2 n + \gamma_3 n = \sum_{i=1}^3 \gamma_{i,n} n$. Esto permite establecer la posición de los experimentos en el plano del diagrama de fase y las fronteras para demarcar las regiones de los distintos casos obtenidos en el estudio (curación, crónico y muerte) [96]. En la figura se puede observar que todos los experimentos pertenecen al caso de enfermedad crónica, predicha por el modelo para la enfermedad de Chagas. Sin embargo, cabe aclarar que no todos los ratones alcanzaron ese estado estacionario, ya que el tamaño de la inoculación fue tan letal que murieron por el daño celular recibido antes de alcanzar su valor asintótico.

Cuando se preinfecta con *T. rangeli*, la frontera ($\alpha_n a_0$) entre los casos de curación y cronicidad se desplaza hacia su derecha. Este desplazamiento es causado por el nuevo número de anticuerpos ($a_0(t^*)$) que el mamífero posea al momento de la infección con *T. cruzi*, puesto que se modifican las condiciones iniciales. Este nuevo número de anticuerpos va a ser mayor, debido a la excitación de la respuesta inmune humoral causada por la preinfección con *T. rangeli*. Con esta nueva condición inicial, se desplaza la frontera (desde $\alpha_n a_0$ a $\alpha_n a_0(t^*)$) y por ende también se amplía la zona de curación. Esto permite que los experimentos aquí estudiados pasen del estado de cronicidad al de curación. En la gráfica 5.8 se observa el máximo corrimiento posible de esta frontera para una infección con *T. cruzi* que ocurre 22.5 días posteriores a la inoculación con *T. rangeli*. Para infecciones posteriores a ese día la frontera retornará lentamente a su valor original $\alpha_n a_0$ sin inmunización. Claramente se observa que todas las experiencias de infección señaladas en la gráfica habrían sido eliminadas si los ratones hubieran sido preinfectados con al menos 7500 parásitos del *T. rangeli* alrededor de 22.5 días antes de acuerdo al presente estudio. Los parámetros usados para este estudio son mostrados en el Cuadro 5.3.

Los resultados obtenidos con este trabajo pueden ser comparados con los conseguidos por Basso [74]-[77], Zuñiga [79] y Palau [80]. Todos ellos desarrollaron modelos murinos, donde inoculaban a perros y ratones con *T. rangeli*, para luego observar la evolución de la respuesta inmune en contra de una posterior infección con parásitos del *T. cruzi*. El resultado de esta preinfección fue un decrecimiento en la severidad del resultado final de la enfermedad; es decir, un nivel parasitémico más bajo, lesiones más leves en los tejidos, supervivencia de todos los mamíferos inmunizados e incluso la completa erradicación de la población parasitaria en algunos casos. Podemos mencionar que la única diferencia entre los trabajos de Basso y los demás investigadores es que ella usó en sus experimentos formas muertas (*dead-fixed forms*) de tripomastigotes del *T. rangeli*, mientras los otros usaron formas vivas. No obstante, Basso muestra resultados muy similares [98], lo que implica que el efecto sobre el *T. cruzi* es debido al estado excitado del sistema inmune y no a una directa interacción entre ambas cepas parasitarias.

Se ha encontrado que en una infección chagásica la transición del estado crónico al estado de curación causado por la vacunación con parásitos del *T. rangeli* depende del nivel transitorio de anticuerpos que el mamífero posea al momento de la infección con *T. cruzi*. Usando nuestro modelo es posible responder preguntas como: ¿depende el éxito de esta “vacuna” del tiempo transcurrido entre ambas inoculaciones y por qué? o ¿cómo evoluciona la

población parasitaria del *T. cruzi* cuando este es inoculado en diferentes momentos después de aplicada la “vacuna”? Para responder estos interrogantes se han realizado simulaciones de una infección mixta para diferentes intervalos de tiempo entre la vacuna y la inserción del parásito *T. cruzi*. En la Fig. 5.9 se muestran en diferentes curvas el número de parásitos del *T. cruzi* que se obtendrían para diferentes intervalos de tiempo transcurridos desde que se preinfecta con los *T. rangeli* hasta que se inocula con los *T. cruzi*. Los parámetros usados para obtener las curvas de la figura son aquellos utilizados en el ajuste del experimento de Zuñiga para el *T. rangeli* y en el experimento de El Bouhdidi para la población parasitaria del *T. cruzi* (ver Cuadros 5.1-5.3). Se observa que para infecciones con *T. cruzi* ocurriendo muy posteriores a la aplicación de la vacuna (preinfección con *T. rangeli*), el nivel parasitémico de la infección será el mismo al del experimento sin preinfección con *T. rangeli*. La explicación es que la preinfección con *T. rangeli* no puede mantener el sistema inmune excitado por siempre. Eventualmente la población parasitaria del *T. rangeli* es eliminada y por tanto el nivel de anticuerpos decrece, regresando el sistema a su estado inicial ($a_s = a_0$), como se muestra en la Fig 5.2. Entre más tiempo pasa entre ambas inoculaciones, menor será el nivel de anticuerpos que el sistema tendrá para defenderse de una infección posterior con *T. cruzi*, permitiendo a los niveles de la población parasitaria crecer hasta alcanzar los valores obtenidos para el caso en que los animales no fueron inmunizados.

En la Fig. 5.10 se analiza el nivel parasitario máximo de una infección con *T. cruzi* como función del lapso de tiempo transcurrido entre la vacuna (inoculación de parásitos del *T. rangeli*) y la inoculación de los parásitos del *T. cruzi*. Puede observarse, para los parámetros usados, que durante los primeros cuatro meses después de la vacunación, el sistema inmune es capaz de reducir la población parasitaria en más de un orden de magnitud. El hospedero tiene así más posibilidades de alcanzar un estado de curación como fue mostrado en el diagrama de fase $\kappa_n - \gamma_n$ [96, 97]. Nuestro análisis lleva a pensar en una alternativa de aplicación de esta idea para disminuir la tasa de incidencia y prevalencia de la infección chagásica en humanos. Una posible estrategia sería vacunar los animales domésticos, ya que estos sirven como reservorios en el ciclo de transmisión del *T. cruzi*. De acuerdo al modelo el itinerario de vacunación se realizaría al menos tres veces por año para reducir los niveles parasitémicos en reservorios y vectores, y a su vez prevenir el contagio de la enfermedad de Chagas dentro de las viviendas. Se sabe que los animales domésticos aumentan el riesgo de transmisión a los humanos [99]. Los perros y los pollos mantenidos en la vivienda son una fuente de alimento para los triatominos, lo cual ayuda a incrementar su población. Si en la

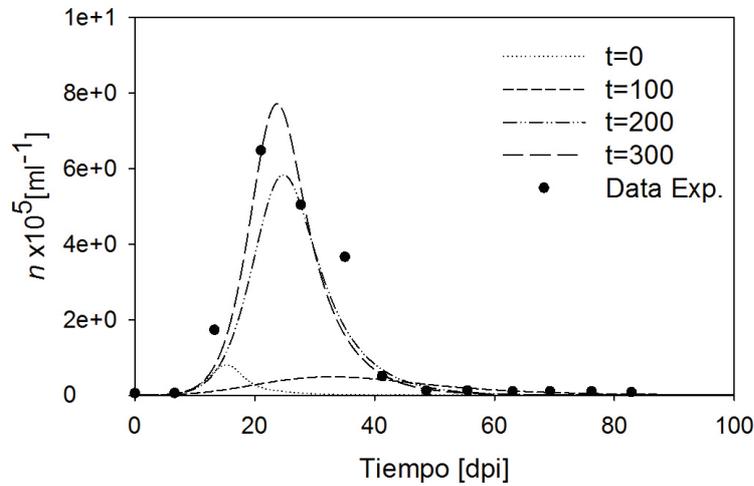


Figura 5.9: Evolución de la población del *T. cruzi* en un ratón preinfectado con *T. rangeli*. La re-infección es hecha a los tiempos (t^*) indicados en la gráfica.

vivienda existen cuatro o más perros infectados se produce un incremento en la tasa de prevalencia del *T. cruzi* en los insectos y en los humanos [100]. Por otro lado, el *T. rangeli* es un parásito patógeno para los triatominos [84, 101, 102]. Trabajos como el de Guhl *et. al* [84] han confirmado diferentes grados de patogenicidad del *T. rangeli* en sus vectores, especialmente en triatominos de la especie de los *Rhodnius*. Al vacunar a los animales domésticos con el *T. rangeli*, los insectos adquirirán la infección y por ende se interrumpirá el ciclo de transmisión. Los triatominos no sobrevivirán para propagar el parásito *T. cruzi* y dispersar la enfermedad de Chagas, lo cual disminuye la población de insectos vectores y a su vez reduce los riesgos de contagio en la población humana. Se requieren más investigaciones para verificar los reservorios naturales del *T. rangeli* y cómo éste ayuda a propagar el parásito en el área de susceptibilidad de contagio.

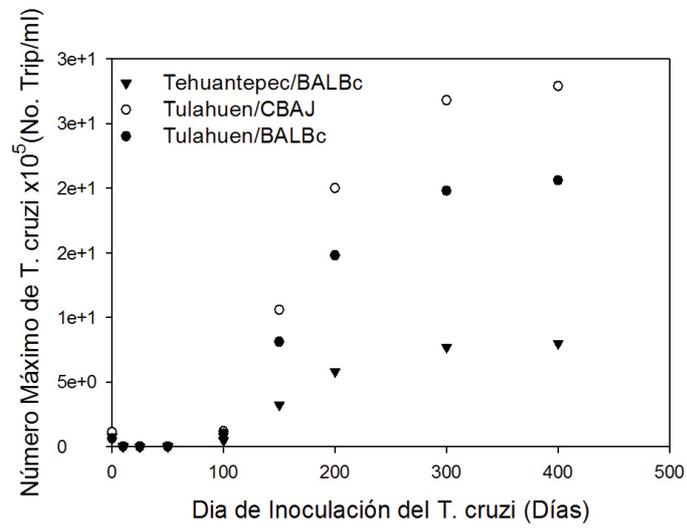


Figura 5.10: Nivel parasitario máximo en una infección con las cepas de *T. cruzi* usadas en los experimentos de El Bouhdidi y Andersson. Una pre-inoculación con *T. rangeli* es supuesta.

Capítulo 6

Respuesta Inmune Celular

6.1. Introducción

La inmunidad es el estado de protección contra una enfermedad infecciosa u otra invasión biológica no deseada. La inmunidad involucra componentes específicos y no específicos que se detallan más adelante en esta sección. Los componentes específicos están relacionados con la **inmunidad innata**, la cual proporciona la primera defensa contra una infección. Casi todos los componentes de la inmunidad innata se encuentran antes del inicio de la infección y constituyen un grupo de mecanismos de resistencia contra una infección que no son específicos de un patógeno particular. Estos componentes celulares y moleculares, reconocen tipos de moléculas peculiares y características de un amplio grupo de patógenos, células dañadas o lesionadas. Las células fagocíticas, como los macrófagos y los neutrófilos, las barreras como la piel, y una diversidad de compuestos antimicrobianos sintetizados por el hospedador, tienen funciones importantes en la inmunidad innata. En contraste con la amplia reactividad del sistema inmunitario innato, que es uniforme en todos los miembros de una especie, el componente específico, **la inmunidad adaptativa**, no actúa hasta que no existe un reto antigénico para el organismo. La inmunidad adaptativa responde al desafío con un grado elevado de especificidad y, asimismo, con la propiedad notable de “memoria”. Los principales agentes de la inmunidad adaptativa son los linfocitos y los anticuerpos [103, 104, 105]. La inmunidad adaptativa no es independiente de la inmunidad innata, de hecho las células fagocíticas participan de manera importante en la activación de la respuesta inmune específica. Por otra parte, se ha demostrado que varios factores solubles, producidos por una respuesta inmunitaria específica, aumentan la actividad de estas células fagocíticas. El actuar sinérgico de las inmunidades adaptativa e innata, reguladas de forma

cuidadosa, es la manera en que el sistema inmune logra eliminar un invasor extraño. Una reacción inmunitaria eficaz incluye dos grupos principales de células: **los linfocitos T** y **las células presentadoras de antígenos**. Los linfocitos son uno de los muchos tipos de glóbulos blancos que se producen en la médula ósea por el proceso de hematopoyesis.¹ Los linfocitos salen de la médula ósea, circulan en la sangre y los sistemas linfáticos, y residen en diversos órganos linfoides. Debido a que producen y muestran receptores de superficie celular por el cual se unen a un antígeno, los linfocitos median los atributos inmunológicos definidores de especificidad, diversidad, memoria y autorreconocimiento. Las dos poblaciones principales de linfocitos son los **linfocitos B (células B)** y los **linfocitos T (células T)**.

6.1.1. Linfocitos B

Los linfocitos B maduran en la médula ósea; cuando la abandonan, cada uno expresa un receptor de unión de antígeno único en su membrana. Este receptor de unión de antígeno, o de la célula B, es una *molécula de anticuerpo* unida a la membrana. Cuando una célula B virgen (la que no ha encontrado antes algún antígeno) halla por primera vez el antígeno que corresponde a su anticuerpo unido a la membrana, se da lugar una división rápida de la célula, y su progenie se diferencia en **células B de memoria** y **células B efectoras**, también llamadas **células plasmáticas**. Las células B de memoria tienen un período de vida más prolongado que las células vírgenes, y expresan el mismo anticuerpo unido a la membrana que su célula B original. Las células plasmáticas producen el anticuerpo en una forma que pueda secretarse y circular, y no posee anticuerpo unido a su membrana. Aunque las células plasmáticas solo viven unos cuantos días, secretan cantidades enormes de anticuerpos durante ese período. Se estima que una célula plasmática aislada puede liberar más de 2000 moléculas de anticuerpo por segundo. Estos anticuerpos secretados son las principales moléculas efectoras de la inmunidad humoral.

6.1.2. Linfocitos T

Los linfocitos T o células T también se generan en la médula ósea, pero migran a la glándula timo para madurar. Durante su maduración dentro del timo la célula T comienza a expresar en su membrana una molécula de unión de antígeno única, la denominada receptor de la célula T (TCR). Al contrario de los anticuerpos unidos a membranas en las célula B, que pueden reconocer

¹proceso de formación y desarrollo de glóbulos rojos y blancos.

antígenos aislados, los TCR únicamente pueden identificar antígenos unidos a proteínas de membrana celular llamadas **moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad** (MHC). Las moléculas del MHC que actúan en este fenómeno de reconocimiento conocido como “presentación de antígeno”, son glucoproteínas polimórficas que se encuentran en las membranas celulares. Existen dos tipos principales de MHC: moléculas del MHC clase I, son las que expresan casi todas las células nucleadas de las especies de vertebrados; y moléculas MHC clase II, que solo las expresan las células presentadoras de antígeno. Cuando una célula T virgen encuentra un antígeno combinado con una molécula de MHC en una célula, la célula T prolifera y se diferencia en célula T de memoria y varias células T efectoras.

Existen dos tipos de subpoblaciones de células T efectoras bien definidas: **las células T colaboradoras** (T_H), y **las células T citotóxicas** o **los linfocitos T citotóxicos (CTL)**, que se diferencian entre sí por la presencia de glucoproteínas de membrana CD4 y CD8, respectivamente, en su superficie.

Una vez que la célula T_H reconoce un complejo de antígeno y molécula MHC II, e interactúa con él, la célula se activa. La célula T_H se convierte en una célula efectora que secreta un conjunto de proteínas llamadas **citocinas**. Las citocinas secretadas tienen una función importante en la activación de células B, células T citotóxicas, macrófagos y varios tipos celulares más que intervienen en la reacción inmunitaria. Las diferencias en el patrón de citocinas producidas por las células T_H activadas tienen como resultado diferentes tipos de respuesta inmunitaria. Bajo la influencia de citocinas derivadas de T_H , un CTL, que reconoce un complejo de antígeno y molécula de MHC I, prolifera y se activa para neutralizar células infectadas por microorganismos intracelulares. El CTL tiene como función vital la vigilancia de las células del cuerpo y la eliminación de cualquiera que muestre antígeno, como las células infectadas por virus, parásitos, las células tumorales y las células de un injerto de tejido extraño.

6.1.3. Células Presentadoras de Antígeno

La activación de las ramas humoral y la mediada por células del sistema inmunitario requiere citocinas producidas por las células T_H . Es esencial que se regule de modo cuidadoso la activación de las células T_H por sí mismas, dado que una respuesta inapropiada de las células T a componentes propios puede tener consecuencias autoinmunitarias mortales. Con el fin de asegurar la activación de células T_H de forma cuidadosa, ellas solo pueden reconocer

un antígeno que se muestre acoplado a moléculas MHC II en la superficie de células presentadoras de antígeno (APC). Estas células especializadas, que incluyen macrófagos, linfocitos B y células dendríticas, se distinguen por dos propiedades: a) expresan moléculas de MHC II en sus membranas y b) son capaces de llevar una señal coestimuladora que es necesaria para la activación de la célula T_H . **Las células presentadoras de antígeno primero internalizan el antígeno, ya sea por fagocitosis o endocitosis, para después mostrar una parte de dicho antígeno en su membrana, unido a una molécula de MHC II. La célula T_H reconoce el complejo de antígeno y molécula de MHC II en la membrana de la célula presentadora de antígeno e interactúa con él. Enseguida se emite una señal coestimuladora adicional por la célula presentadora de antígeno, que conduce a la activación de la célula T_H , para luego secretar la citocina que desencadena el resto de la respuesta inmunitaria, y activa las CTL como se explicó anteriormente.**

Para que el sistema inmune pueda controlar una infección con *T. cruzi* es necesaria la acción de una fuerte respuesta inmune humoral, una potente producción de citocina tipo I y la activación de células T CD8+ para el reconocimiento de las células hospederas infectadas por el parásito [106]-[109]. La respuesta de las células T CD8+ específicas del antígeno en infecciones virales y bacteriales abarcan un pequeño número de epítomos², los que son bien conocidos por los expertos en el tema, mientras que los epítomos relacionados con las células T CD8+ específicas para los parásitos protozoarios están muy poco comprendidos. Martin *et al.* [110] identificaron las proteínas principales que guían la detección y control de las células T CD8+ en el *T. cruzi*. En su estudio demostraron que el *T. cruzi* provoca una respuesta de células T localizada sobre pocos péptidos³ y que la frecuencia con que estos péptidos son exhibidos dependen de la cepa parasitaria del *T. cruzi*. También hipotetizan que es posible considerar un efecto vacuna si se puede inducir una respuesta de células T específicas a esos péptidos.

Algunos protocolos de vacunación se han concentrado en moléculas expresadas en el estado epimastigote o el estado tripomastigote circulante en sangre del parásito, pero pocos se han dirigido hacia el estado amastigótico intracelular. Algunos investigadores como Low *et al.* [111] encontraron

²Epítomo: es el lugar preciso en el antígeno donde es reconocido por los linfocitos B y T.

³son los derivados de la degradación intracelular de las moléculas de antígenos y a los cuales se unen las moléculas de MHC.

que las proteínas TSA-1,⁴ ASP-1⁵ y ASP-2 del *T. cruzi* son blancos de la respuesta de las células T CD8+ específicas del *T. cruzi*⁶. Los peptidos de las ASP-1 y ASP-2 se enlazan a moléculas MHC I de ratones y sensibilizan a las células infectadas para lisis⁷ por parte de las células T CD8+. Por otra parte, Miyahira *et al.* [112] transformaron el parásito *T. cruzi* con el gen *Plasmodium yoelii* codificando la proteína circumsporoicoite (CS), la cual contiene el epítipo bien-caracterizado de células T CD8+: SYVPSAEQI. Ensayos *in vivo* e *in vitro* mostraron que células infectadas con el *T. cruzi* transformado podían procesar y presentar dicho epítipo. Ellos inmunizaron ratones con virus recombinados de la influenza y su vacuna que expresaran el epítipo SYVPSAEQI, lo cual indujo una gran cantidad de células T CD8+ específicas que suprimieron la parasitemia y confirieron completa inmunidad en contra de una infección letal del *T. cruzi*. Todo esto sugiere que las células T CD8+ juegan un rol importante y protector en contra de la infección chagásica.

Cabe recordar que debido al ciclo de vida del *T. cruzi*, es necesaria la acción de la respuesta inmune humoral para combatir a los parásitos circulantes y la acción de la respuesta inmune mediada por células T citotóxicas para eliminar el parásito en su forma intracelular de amastigote. Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, se extiende el modelo incorporando la descripción de la respuesta inmune celular en contra del parásito *T. cruzi* durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas.

6.2. Modelo para la Respuesta Inmune Celular y Humoral

La respuesta inmune celular es mediada por varias clases de linfocitos T. En este trabajo se estudia la acción de los linfocitos T citotóxicos, ya que la acción de las células T colaboradoras está incluida en el modelo como parte de la respuesta en cadena que se genera cuando el parásito ingresa en el hospedero mamífero. La respuesta inmune celular se incluye en el modelo, añadiendo un término en la evolución de las células infectadas r , el cual simboliza su apoptosis (muerte celular). También se incorporan dos nuevas ecuaciones que indican la evolución de los linfocitos T citotóxicos no activos

⁴Trypomastigote surface Ag 1.

⁵Amastigote surface protein.

⁶*T. cruzi*-specific CD8+ T cell.

⁷Es el proceso de ruptura de la membrana celular que produce la salida del material intracelular.

Var./Par.	Definición	Dimensión
n	Población de T. cruzi	Conc.
a_i	Población de anticuerpos de la especie i	Conc.
r	Población de células infectadas	Conc.
T	Población de LTC no-activos	Conc.
c	Población de LTC activos	Conc.
γ_i	Tasa de producción de anticuerpos de la especie i	Conc. $\times t^{-1}$
α_i	Tasa de eliminación de los parásitos	Conc. $\times t^{-1}$
$a_{0,i}$	Número de anticuerpos de la especie i sin infección	Conc.
$\tau_{a,i}$	Tiempo de vida media de los anticuerpos de la esp. i	t
N_r	Número promedio de parásitos que salen de una célula	Conc.
η	Probabilidad del rompimiento de una célula	Adimensional
ξ	Tasa de penetración de un parásito en una célula	Conc. $\times t^{-1}$
κ	Tasa de interacción de células infectadas-CTL activos	Conc. $\times t^{-1}$
ϕ	Tasa de interacción LTC no-activos-T. cruzi	Conc. $\times t^{-1}$
τ_T	Tiempo de vida media de LTC no-activos	t
σ	Tasa de producción de los LTC no-activos	Conc. $\times t^{-1}$
τ_c	Tiempo de vida media de LTC activos	t
δ	Tasa de proliferación de LTC activos	Conc. $\times t^{-1}$

Cuadro 6.1: Definición de las variables y parámetros que intervienen en el modelo para las respuestas inmunes celular y humoral. Conc., t y LTC significan concentración, tiempo y linfocitos T citóxicos respectivamente.

T y los linfocitos T citotóxicos activos c . Para un mejor seguimiento del modelo sus variables (Var.) y parámetros (Par.) son descritas en el Cuadro 6.1.

La ecuación que describe la evolución de la población de los linfocitos T citotóxicos no activados T tiene la forma exhibida a continuación:

$$\frac{dT(t)}{dt} = \sigma - \frac{T(t)}{\tau_T} - \phi T(t)n(t) + \delta r(t)c(t) \quad (6.1)$$

donde el primer término σ indica la tasa de producción de linfocitos T citotóxicos no-activados en la médula ósea. σ se ha tomado constante debido a la capacidad del cuerpo humano para mantener un equilibrio (homeostasis) con las otras células que participan de la respuesta inmune. El segundo término representa su muerte natural, puesto que los linfocitos tienen un tiempo de vida intrínseco τ_T . El tercer término indica la activación de los linfocitos T citóxicos debido al estímulo de las citocinas (resultantes de la

interacción previa de los linfocitos T colaboradores (*Helpers*) con las células presentadoras de antígeno). La activación de los linfocitos T citotóxicos se produce a una tasa ϕ y es proporcional a la cantidad de parásitos circulantes n . El último término denota su proliferación por un proceso de clonación debido a que un linfocito activado ha reconocido una célula infectada a una tasa δ . Una vez que los linfocitos T citotóxicos pasan a su estado activado la única forma de desaparecer es por muerte natural, por tanto la evolución de los linfocitos T citotóxicos activados esta dada por la siguiente ecuación

$$\frac{dc(t)}{dt} = \phi T(t)n(t) - \frac{c(t)}{\tau_c}, \quad (6.2)$$

donde τ_c es el tiempo de vida intrínseco de la población de linfocitos T activados, c . Puesto que la función principal de los linfocitos T citotóxicos es eliminar a las células infectadas, la Ec. 3.24 que describe su evolución se modifica a

$$\dot{r}(t) = \zeta n(t) - \eta r(t) - \kappa r(t)c(t) \quad (6.3)$$

donde el último término representa la aniquilación de las células infectadas a una tasa κ . Recordemos que al eliminar las células infectadas también se elimina al parásito en su estado intracelular amastigótico. Mientras las ecuaciones para la población parasitaria en su forma sanguínea circulante (tripomastigote) $n(t)$ y la población de anticuerpos $a(t)$ quedan de la misma forma

$$\frac{dn(t)}{dt} = \eta N_r r(t) - \sum_{i=1}^N \alpha_i(t) a_i(t) n(t) - \xi n(t) \quad (6.4)$$

$$\dot{a}_i(t) = \gamma_i n(t) - \alpha_i(t) a_i(t) n(t) - \frac{1}{\tau_{a,i}} [a_i(t) - a_{0,i}] \quad (6.5)$$

La eficiencia de eliminación de los tripomastigotes $\alpha_i(t) = \alpha_{A,i} + \alpha_{B,i}(1 - e^{-t/T_i})$ sigue conservando su forma y sus propiedades.

6.3. Estados Estacionarios y sus Propiedades

Haciendo las derivadas temporales en las Ecs. (6.1)-(6.5) iguales a cero, y simplificando el análisis para una sola especie de anticuerpo, se obtienen un conjunto de ecuaciones que definen las poblaciones en estados estacionarios $(n_s, r_s, a_s, T_s, c_s)$. Se encuentran cinco puntos críticos: una solución trivial,

$$n_s = 0, \quad r_s = 0, \quad a_s = a_0, \quad T_s = \sigma \tau_c, \quad c_s = 0 \quad (6.6)$$

y cuatro soluciones distintas de cero; de las cuales no se muestran sus resultados ya que no tienen una estructura matemática simple y por lo tanto es

muy difícil extraer información clara de la dependencia de los mismos con los diversos parámetros del modelo.

El siguiente paso es evaluar la estabilidad de cada uno de los puntos críticos. Para eso primero establecemos la matriz jacobiana, J , asociada al sistema, para después usar las condiciones de Routh-Hurwitz:

$$J = \begin{pmatrix} -\alpha a_s - \xi & \eta N_r & -\alpha n_s & 0 & 0 \\ \xi & -\eta - \kappa c_s & 0 & 0 & -\kappa r_s \\ -\gamma - \alpha_s & 0 & -\alpha n_s - \frac{1}{\tau_a} & 0 & 0 \\ -\phi T_s & \kappa c_s & 0 & -\phi n_s - \frac{1}{\tau_T} & \kappa r_s \\ \phi T_s & 0 & 0 & \phi n_s & -\frac{1}{\tau_c} \end{pmatrix}.$$

donde el subíndice s hace referencia a los puntos críticos estacionarios obtenidos anteriormente. A partir de la ecuación $\det|J - \lambda I| = 0$, se obtiene el polinomio característico $l_5\lambda^5 + l_4\lambda^4 + l_3\lambda^3 + l_2\lambda^2 + l_1\lambda + l_0 = 0$. Los coeficientes del polinomio son mostrados en el Apéndice B. Como se puede apreciar el polinomio es de grado cinco, entonces hacemos uso del criterio de Routh-Hurwitz para un polinomio de grado cinco para evaluar la estabilidad de los puntos críticos. Las condiciones para este polinomio son: $l_i > 0$, con $i = 0, \dots, 5$, $l_4l_3 - l_5l_2 > 0$, $l_4l_1 - l_5l_0 > 0$, $[(l_4l_3 - l_5l_2)l_2 - l_4(l_4l_1 - l_5l_0)] > 0$ y $[(l_4l_3 - l_5l_2)l_2 - l_4(l_4l_1 - l_5l_0)](l_4l_1 - l_5l_0) - (l_4l_3 - l_5l_2)(l_4l_3 - l_5l_2)l_0 > 0$.

Al evaluar la estabilidad de cada uno de los puntos críticos se encuentran que solo tres de ellos son estables: la solución trivial la cual hemos asociado al estado de curación, y dos distintos de cero los cuales asociamos al estado de cronicidad y denotamos a continuación

$$n_s = n_{e,1}, \quad r_s = r_{e,1}, \quad a_s = a_{e,1}, \quad T_s = T_{e,1}, \quad c_s = c_{e,1} \quad (6.7)$$

y,

$$n_s = n_{e,2}, \quad r_s = r_{e,2}, \quad a_s = a_{e,2}, \quad T_s = T_{e,2}, \quad c_s = c_{e,2} \quad (6.8)$$

Donde e representa un punto crítico estable.

A continuación se dan las condiciones para obtener la estabilidad de cada uno de los estados estacionarios en términos de los parámetros del modelo. Estas condiciones se extraen a partir del criterio de Routh-Hurwitz expresadas anteriormente.

I Curación: Si $N_r < \frac{\alpha a_0}{\xi} + 1$. En este estado el sistema regresa a sus condiciones iniciales, $(n_e, r_e, a_e, T_e, c_e) = (0, 0, a_0, \sigma\tau_c, 0)$. Nótese que esta condición es la misma que se obtenía cuando el modelo solo contenía

la respuesta humoral. Es decir, la condición de curación tiene la misma dependencia funcional con la cantidad inicial de anticuerpos y su efectividad para una cierta cepa parasitaria de infectividad ξ .

II Crónico: Este estado se divide en dos subcasos

- IIa Un estado de equilibrio $(n_{e,1}, r_{e,1}, a_{e,1}, T_{e,1}, c_{e,1})$ es alcanzado por las poblaciones. Las condiciones para obtener este caso son $N_r > \frac{\alpha a_0}{\xi} + 1$ y $l_0(n_{e,1}, r_{e,1}, a_{e,1}, T_{e,1}, c_{e,1}) > 0$.
- IIb Otro estado de equilibrio $(n_{e,2}, r_{e,2}, a_{e,2}, T_{e,2}, c_{e,2})$ es alcanzado por las poblaciones. Las condiciones para obtener este caso son $N_r > \frac{\alpha a_0}{\xi} + 1$ y $l_0(n_{e,2}, r_{e,2}, a_{e,2}, T_{e,2}, c_{e,2}) > 0$.

l_0 es el coeficiente del polinomio característico y la condición de Routh-Hurwitz más restrictiva para la estabilidad de ambos estados estacionarios crónicos (ver Apéndice B).

6.3.1. Diagrama de Fase

Los resultados se observan mejor en un diagrama de fase en el plano definido por la tasa de producción de anticuerpos, γ , y el número promedio de tripomastigotes que salen de la ruptura de una célula infectada, N_r (Fig. 6.1). Asumiendo una especie promedio de anticuerpos e independientemente de los valores de los parámetros se puede observar cómo la inclusión de la respuesta inmune celular modifica el diagrama de fase presentado en la Fig. 3.4. En esta extensión del modelo la zona de curación es estable en su totalidad. La zona que antes dependía del número de parásitos inoculados n_0 desaparece. Sin embargo, su frontera sigue teniendo el mismo valor, $N_r = \frac{\alpha a_0}{\xi} + 1$ (línea sólida). En la parte restante del diagrama de fase aparecen dos zonas correspondientes a estados crónicos distintos, con lo cual desaparece la región de muerte que teníamos cuando solo se consideraba la respuesta inmune humoral. En la Fig 6.1 la frontera entre esos dos estados crónicos es la línea a trazos.

En la Fig. 6.2 se muestra el comportamiento de los tres estados estacionarios en función de N_r , para un conjunto de parámetros establecidos arbitrariamente. Mirando la Fig. 6.1 graficamos (en la Fig. 6.2) los diferentes estados estacionarios n_e en función de N_r para un valor de $\gamma = 40$. Se observa entonces que para valores pequeños de N_r y menores a cierto umbral ($N_r < 1 + \frac{\alpha a_0}{\xi} = 1.6$) el valor de n_e es igual a cero, lo cual indica el estado de

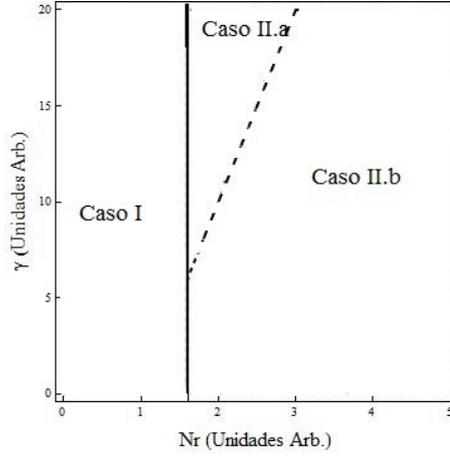


Figura 6.1: Diagrama de fase que describe el resultado de una infección con *T. cruzi* teniendo en cuenta la respuesta inmune celular y humoral, en términos del número promedio de tripomastigotes emergiendo de la ruptura de una célula N_r y la tasa de generación de anticuerpos γ . Casos: I. Curación, II. Crónico subdivido en dos subcasos: II.a y II.b donde las poblaciones van a valores asintóticos distintos. Los valores de los parámetros son: $\alpha = 3$, $\kappa = 2.5$, $\sigma = 3$, $\tau_a = \tau_T = \tau_c = 10$, $\phi = 2$, $\eta = 1$, $\xi = 10$, $a_0 = 2$ y $\delta = 2.5$

curación (caso I). Seguidamente para valores intermedios de N_r , se observa que n_e empieza a tomar valores distintos de cero correspondientes al valor estacionario del caso II.a ($n_s = n_{e,1}$). Mientras que para valores más grandes de N_r , n_e toma valores correspondientes al valor estacionario del caso II.b ($n_s = n_{e,2}$). Se puede apreciar que la evolución de n_e en función de N_r es continua.

6.4. Dinámica

Para analizar mejor el comportamiento de las poblaciones que constituyen nuestro sistema, se obtienen soluciones numéricas de las Ecs. 6.1-6.5, usando el método standard de Euler. Se construyen retratos de fase en el plano (a, n) y se grafica la evolución de las otras poblaciones (r, T y c) para un conjunto establecido de parámetros y deducir así algunas propiedades dinámicas de nuestro modelo. Los valores de los parámetros son los mismos usados en la Fig. 6.2.

En las Figs. 6.3 se muestra la dinámica de las poblaciones para un caso en que el sistema evoluciona hacia el estado de curación. La Fig. 6.3(a) muestra

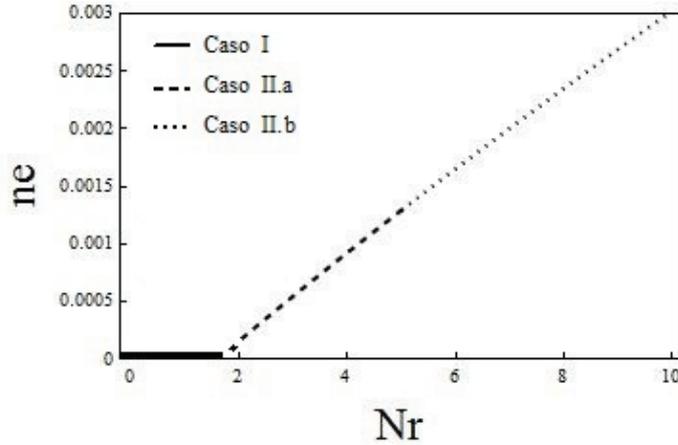


Figura 6.2: Transición de n_s por los tres estados estacionarios en función de N_r . $\gamma = 40$, el resto de los valores de los parámetros son los mismos que los de la Fig. 6.1.

el retrato de fase en el plano (a, n) : puede verse que el sistema regresa a su estado inicial sin infección ($a_s = a_0 = 2, n = 0$) luego de sufrir un crecimiento transitorio del número de anticuerpos. La Fig. 6.3(b) muestra la evolución de las células infectadas hacia $r_s = 0$. A un tiempo corto el número de células r aumenta, para luego disminuir rápidamente hasta ser eliminadas por completo. En la Fig. 6.3(c) se exhibe la evolución temporal de las células citotóxicas no activadas T . Se observa el rápido decrecimiento de la población T al principio de la infección, para luego comenzar a crecer hasta alcanzar su valor asintótico $T_s = \sigma\tau_c = 30$, el cual es el valor en ausencia de infección. El decrecimiento de las células citotóxicas no activadas es debido a que ellas están pasando a un estado activado (debido a la presencia del parásito) como puede observarse en la Fig. 6.3(d). Nótese el rápido crecimiento de la población c hasta que a tiempos largos vuelve a $c_s = 0$, su valor en ausencia de infección.

Las Figs. 6.4 muestran la dinámica de las poblaciones en los estados crónico II.a ($N_r = 4$, línea punteada) y crónico II.b ($N_r = 100$, línea a trazos). En la Fig. 6.4(a) se muestran los retratos de fase en el plano (a, n) para ambos casos. Puede observarse para ambos valores de N_r cómo el sistema oscila hasta llegar a sus respectivos valores en estado estacionario ($a_{e,1} \approx 2.3, n_{e,1} \approx 9.24 \times 10^{-4}$) para el caso crónico II.a, y ($a_{e,2} \approx 7.302, n_{e,2} \approx 2.93 \times 10^{-2}$) para el crónico II.b. En el caso $N_r = 4$ el sistema a un tiempo intermedio pasa por un estado transitorio de muy baja parasitemia. La Fig. 6.4(b) muestra la evolución temporal de las células infectadas para $N_r = 4$ y $N_r = 100$. Para

ambos casos el sistema experimenta a tiempo intermedio una disminución de las células infectadas, para después crecer y oscilar amortiguadamente hasta llegar a sus valores atractores $r_{e,1} \approx 3.9 \times 10^{-3}$ para $N_r = 4$ y $r_{e,2} \approx 9 \times 10^{-3}$ para $N_r = 100$. La Fig. 6.4(c) muestra la evolución temporal de las células citotóxicas no activadas para los dos casos crónicos ya mencionados. En ambos casos se observa que a tiempos cortos el sistema experimenta un rápido decrecimiento de la población T . En el caso de $N_r = 4$ (línea punteada) a tiempos intermedios se observa un incremento de la población T hasta que a tiempos muy largos esta alcanza su valor estacionario $T_{e,1} \approx 29.5$. Para $N_r = 100$ el número de células citotóxicas no activadas también incrementa a tiempos intermedios y oscila amortiguadamente hasta que finalmente alcanza su valor asintótico $T_{e,2} \approx 20.70$. Para valores grandes de N_r la población T alcanza su estado estacionario más rápidamente. La Fig. 6.4(d) muestra la evolución temporal de las células citotóxicas activadas para ambos valores de N_r . Al igual que en el caso de curación, en estos casos también el decrecimiento a un tiempo corto de la población T es debido a que las células de esta población están pasando a un estado activado por la presencia del parásito. Esto puede observarse en el crecimiento a tiempo corto de la población de c en la Fig. 6.4(d). Para $N_r = 4$ puede verse que la población c disminuye notablemente, para incrementar después y oscilar amortiguadamente hasta alcanzar su valor asintótico ($c_{e,1} \approx 0.54$). En el caso de $N_r = 100$, a un tiempo intermedio la población c sufre un aumento y empieza a oscilar también amortiguadamente para llegar a su valor en estado estacionario ($c_{e,2} \approx 12.13$). El sistema alcanza su estado asintótico más rápido cuando el valor de N_r es bastante grande. Las condiciones iniciales en la población de células infectadas y las células citotóxicas activadas son $r(0) = 0$ y $c(0) = 0$ respectivamente, puesto que no hay células dañadas ni células citotóxicas activadas al comienzo de la infección.

6.5. Discusión

En este capítulo se ha introducido una extensión del modelo para incluir la respuesta inmune celular, durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas. Dos resultados importantes de esta extensión del modelo son:

- La presencia de la respuesta inmune celular hace que la zona de curación sea estable completamente, además no altera el valor de su frontera ($N_r = 1 + \alpha a_0 / \xi$) en el diagrama de fase, la cual depende exclusivamente del número de anticuerpos iniciales a_0 . Esto indica que la población de anticuerpos es el factor determinante para que el sistema pueda

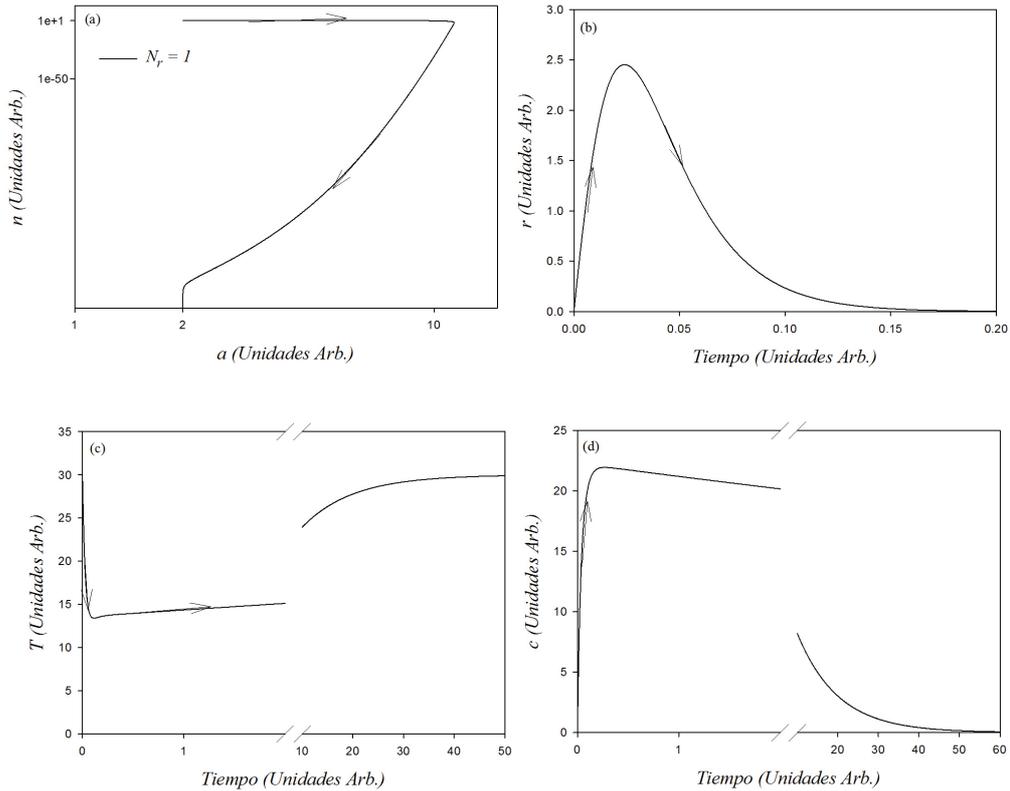


Figura 6.3: (a) Retrato de fase que describe la trayectoria de la población de parásitos y anticuerpos en el estado de curación (Caso I). Evolución (b) del número de células infectadas (r), (c) del número de células citotóxicas precursoras (T), y (d) de las células citotóxicas (c), en el estado de curación. Las condiciones iniciales son: $n_0 = 20$, $T_0 = 30$ y $c_0 = 0$. El acortamiento del eje del tiempo en las Figs. 6.3(c)-(d) se debe al querer mostrar el comportamiento rápido a tiempos cortos de de las poblaciones de los linfocitos T citotóxicos no activos T y linfocitos T citotóxicos activos c . El gráfico completo es mostrado en el Apéndice C.1.

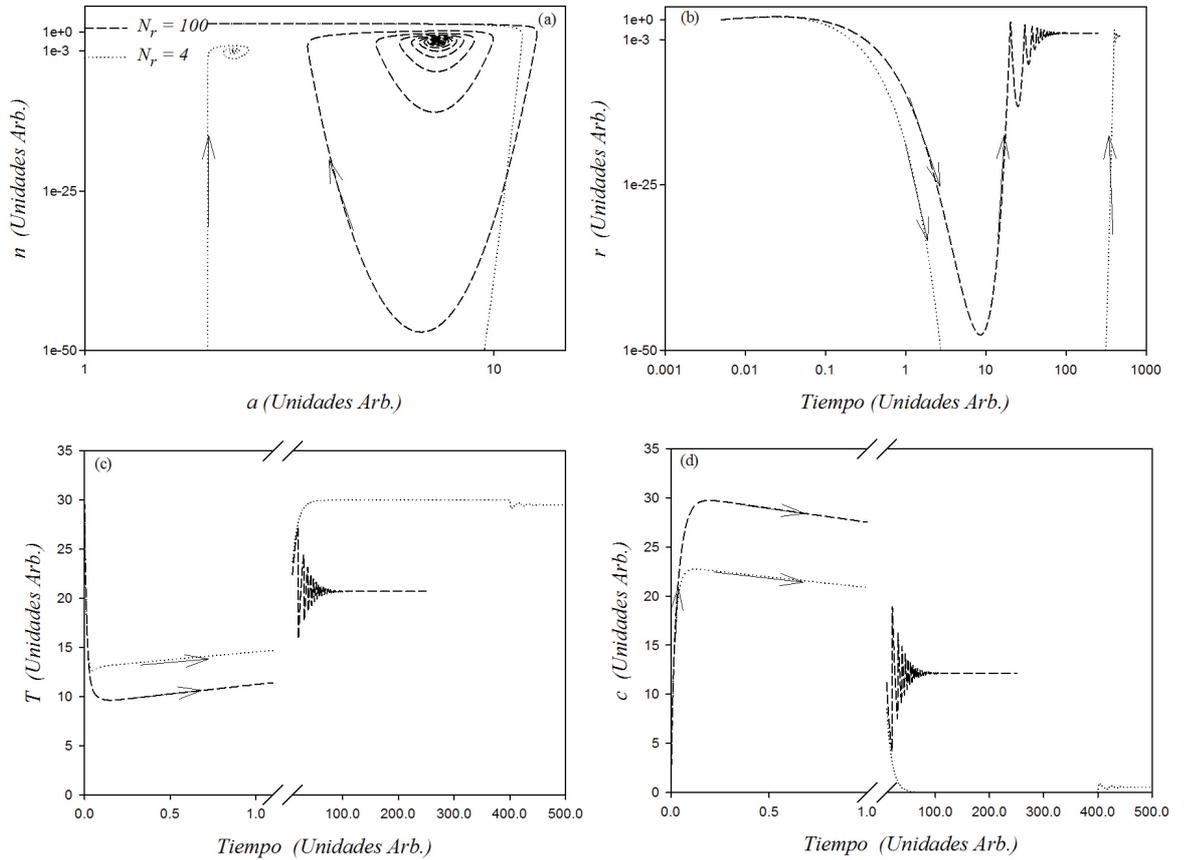


Figura 6.4: (a) Retrato de fase que describe la trayectoria de la población de parásitos y anticuerpos en los estados crónicos II.a y II.b. Evolución (b) del número de células infectadas (r), (c) del número de células citotóxicas precursoras (T), y (d) de las células citotóxicas (c) en los estados crónicos II.a y II.b. Las condiciones iniciales son: $n_0 = 20$, $T_0 = 30$ y $c_0 = 0$. El acortamiento del eje del tiempo en las Figs. 6.4(c)-(d) se debe al querer mostrar el comportamiento rápido a tiempos cortos de de las poblaciones de los linfocitos T citotóxicos no activos T y linfocitos T citotóxicos activos c . El gráfico completo es mostrado en el Apéndice C.2.

eliminar a la población parasitaria y retornar a un estado saludable, libre de infección.

- La inclusión de la inmunidad mediada por células, o linfocitos citotóxicos T hace desaparecer la zona de muerte en el diagrama de fase. En este modelo aparecen en su lugar dos posibles estados crónicos. Esta situación termina siendo beneficiosa para el parásito ya que no destruye el organismo hospedero y puede prolongar su tiempo de vida.

En estudios previos, que incluían solamente la inmunidad humoral [31, 32, 34, 35], se encontró que para valores pequeños de N_r y γ existía una zona ($N_r < 1 + \frac{\alpha a_0}{\xi}$ y $\gamma < \xi(N_r - 1)$) en el diagrama de fase (N_r, γ) donde la evolución de la parasitemia dependía de la cantidad de parásitos inoculados n_0 (ver Sec. 3.2.4, Fig. 3.4) [35]. La inclusión de la respuesta inmune celular hace esta zona estable y la incluye en la zona de curación del diagrama de fase. La zona de curación es únicamente dependiente de los parámetros α , a_0 y ξ .

La inclusión de la inmunidad mediada por células en nuestro modelo, muestra que ahora es posible encontrar al organismo hospedero en un estado de cronicidad, si este no alcanza el estado de curación. Sin embargo, aunque en teoría el organismo hospedero a un tiempo largo deba terminar en un estado estacionario de cronicidad, este puede morir debido al valor transitoriamente elevado de la población de parásitos. El crecimiento de la población de parásitos causa daños en el organismo hospedador, ya que destruye los diferentes tejidos u órganos donde se aloja la forma intracelular del *T. cruzi* (corazón, colón, esófago, entre otros).

La introducción de la respuesta inmune celular en el modelo causa la eliminación de la zona de crecimiento exponencial de la población de parásitos (Caso III) en el diagrama de fase (ver Fig. 3.4). El estado asintótico de muerte ya no está presente, lo que implica un gran beneficio para el parásito ya que no destruye su propio hábitat. Si bien el mamífero ya no muere, su probabilidad de curación es la misma que sin la acción del sistema inmune celular.

Capítulo 7

Conclusiones y Comentarios Finales

En esta sección se presentan las conclusiones del trabajo desarrollado, también se sugieren algunas recomendaciones y planteamos algunas ideas que pueden desarrollarse a futuro.

Al comenzar este trabajo existía un modelo desarrollado previamente por Sibona-Condat [31]-[35] que describía la interacción del parásito *T. cruzi* con la respuesta humoral del sistema inmune. El modelo describía la evolución de tres poblaciones interactuantes: el parásito *T. cruzi*, las células infectadas, y los anticuerpos. Primeramente se extendió el modelo considerando una infección con dos cepas parasitarias distintas del tripanosoma (sin tener en cuenta el daño celular producido). Como resultado de esta primera fase del trabajo se concluye que el modelo no predice una infección crónica donde ambas cepas coexistan en estado estacionario. La cronicidad en un paciente infectado va a ser causada por solo una de las cepas. Aunque ambas hayan coexistido en la fase aguda, a largos tiempos, una de las cepas termina siendo eliminada, quedando el mamífero hospedero con una infección crónica debido a la otra cepa. Nuestros resultados están de acuerdo con estudios clínicos como los de Añez *et al.* [55] y Ramírez *et al.* [54], y, con estudios experimentales como los de Franco *et al.* [62] y Machado *et al.* [66]. En los estudios clínicos, Añez y Ramírez no pudieron identificar más de una cepa en un test hemocultural practicado a pacientes en estado crónico de la enfermedad de Chagas que residen en regiones donde circulan diferentes cepas del parásito *T. cruzi*. En relación con los estudios experimentales, el modelo arroja resultados similares a los de Franco *et al.* [62] donde ratones de la especie Balb/C coinfectados con las cepas JG y CL Brener del *T. cruzi* exhibieron solamente parásitos de la cepa JG (la menos agresiva) en la etapa crónica de la enfermedad. En

el caso de los experimentos de Machado *et al.* los resultados no son muy distintos. Ellos coinfectaron y reinfectaron perros con las cepas 147 y SC-1 del *T. cruzi*, obteniendo que al final de la etapa crónica solamente fue posible identificar la cepa 147 en las muestras de sangre extraídas de los animales.

Otro resultado del estudio de la infección heteróloga es que la presencia de una primera cepa causa una reducción del nivel parasitario de la segunda cepa, debido a la sobre-estimulación del sistema inmune humoral. Este resultado sirvió de base para modelar los trabajos de la Dra. Basso. Ella y sus colaboradores realizaron experimentos, observando que una pre-infección con el *Tripanosoma rangeli* induce una alta respuesta humoral y ofrece una alta protección al mamífero hospedador contra una posterior infección con *T. cruzi*. Usando los modelos previamente desarrollados se logró reproducir los datos experimentales encontrados en la literatura para infecciones con solo *T. rangeli*. A partir de allí y en conjunto con parámetros encontrados anteriormente se lograron reproducir diversos experimentos para una infección mixta *T. rangeli-T. cruzi*. El modelo también describe los efectos de “vacunación” causados por la preinfección con *T. rangeli* y observados por la Dra. Basso. Una preinfección con *T. rangeli* activa el sistema inmune causando un aumento en el número de anticuerpos, y prepara al mamífero para defenderse de una infección posterior con *T. cruzi*. Sin embargo este efecto inmunizador es temporario, ya que el *T. rangeli* es un parásito que puede ser eliminado por el sistema inmune, lo cual causa que el sistema regrese a su estado inicial (número de anticuerpos anterior a haber sido infectado) y pierda el alto nivel de anticuerpos que hacían posible la eliminación de la infección chagásica. Esta pérdida de inmunidad humoral, es justamente lo que hace inviable una vacuna con el parásito *T. rangeli*, puesto que se debería vacunar la población cada 3 o 4 meses para mantener los altos niveles de anticuerpos en los organismos mamíferos hospederos. Además el ciclo de vida del parásito y sus efectos en seres humanos no está completamente claro.

Basado en nuestros estudios y el hecho de que el *T. rangeli* es perjudicial para el insecto vector de la enfermedad de Chagas (*Triatoma infestans* o vinchuca) [84] se puede sugerir que una posibilidad de reducir la tasa de incidencia del *T. cruzi* en humanos es a través de la disminución de la parasitemia vectorial. La estrategia puede ser vacunar con parásitos del *T. rangeli* a los animales mamíferos que sirven como reservorios intradomiciliarios de la enfermedad de Chagas (ampliamente conocidos por el papel que juegan en el ciclo de transmisión doméstico [99]). Al inmunizar con parásitos del *T. rangeli* se logra elevar los niveles de anticuerpos en las especies mamíferas domésticas (perros, gatos). En caso de una posible infección con *T. cruzi* (a

través del insecto vector), los animales desarrollarán una parasitemia menor y los efectos dañinos del parásito serán más leves. De esta manera, cuando el insecto vector se alimente de la sangre de los animales vacunados contraerá el parásito *T. rangeli* causando el desarrollo de la infección y posible muerte del triatomino. Esta campaña de vacunación debiera hacerse cada tres o cuatro meses para mantener los niveles de anticuerpos en los animales en proporciones altas, con lo cual se puede lograr una reducción de la transmisión de parásitos a humanos y de las tasas de incidencia de la enfermedad en humanos en áreas donde es considerada endémica. La idea de vacunar con parásitos del *T. rangeli* se debe a que este parásito y el *T. cruzi* comparten áreas endémicas y vectores, poseen material antigénico muy similar e inducen una respuesta humoral con las mismas poblaciones de anticuerpos específicas (IgG, IgM e IgGE [78]).

Otro aporte de este trabajo al modelado de la enfermedad de Chagas, fué la inclusión de la respuesta inmune celular. El nuevo modelo posee tres estados estacionarios (el trivial, asociado a la curación, y dos no triviales asociados a estados diferentes de cronicidad). La incorporación de la respuesta inmune celular modifica el diagrama de fase en el plano definido por la tasa de reproducción de los anticuerpos (γ) y el número de parásitos emergentes en una ruptura celular (N_r). En el diagrama de fase construido con la versión anterior del modelo, la cual solamente incluía la respuesta inmune humoral, obteníamos los casos de curación, cronicidad y muerte. Al incluir la respuesta inmune celular desaparece la zona de muerte, la cual es sustituida por un nuevo caso de cronicidad. La desaparición del estado de muerte, y su reemplazo por otro de cronicidad, es interpretado como una forma de extender la vida del organismo hospedero y a su vez la del parásito, ya que no destruye su propio hábitat ni se destruye a sí mismo. Aunque si bien el modelo no tiene un estado asintótico de muerte, el mamífero puede dejar de existir por el efecto acumulativo del daño celular causado por la infección. La condición de estabilidad para el estado de curación es preservada ($N_r < 1 + \alpha a_0 / \xi$), es decir el valor de su frontera no se ve alterado. La extensión de la zona de curación en el diagrama de fase sigue siendo función del número de anticuerpos iniciales (a_0), su eficiencia (α) y la infectividad de los parásitos (ξ). La inclusión de la respuesta inmune celular teniendo en cuenta la mediación de los linfocitos T citotóxicos en la eliminación de las células infectadas, no amplía la probabilidad de curación de un organismo hospedero. De acuerdo a nuestros resultados, el caso más beneficioso para el mamífero es que tenga un gran número de anticuerpos al momento inicial de la infección y que estos sean altamente eficaces para eliminar a la población de tripomastigotes entrantes del parásito. En definitiva, el gran beneficiario de la acción de la

respuesta inmune celular es el parásito, ya que puede replicarse dentro del organismo hospedero sin llegar a causar su muerte. El hospedero ya no muere pero queda a merced del parásito invasor.

Algunos aspectos del presente trabajo sobre las que podemos profundizar a futuro son:

- Estudiar la incorporación de un retardo en la respuesta inmune celular y cómo este retardo afecta la dinámica del modelo. Este retraso se toma como el tiempo transcurrido desde que el parásito ingresa en el mamífero hasta que se produce la activación de los linfocitos T citotóxicos. La razón para tener en cuenta este retraso es que la respuesta inmune celular no es inmediata. La finalidad principal de la respuesta inmune celular es la eliminación de las células infectadas, por parte de los linfocitos T citotóxicos. Este proceso de eliminación sucede después de una serie de interacciones entre las diferentes células que intervienen en la respuesta inmune. Las interacciones comienzan cuando el parásito es fagocitado por un macrófago, para luego ser presentado en su membrana (presentación de antígeno) y reconocido por una célula colaboradora (T_H , Helper). Seguidamente de esta interacción (célula colaboradora-célula presentadora de antígeno) se secreta la citocina, que produce la activación de los linfocitos T citotóxicos y el reconocimiento de las células infectadas para iniciar la apoptosis celular. El retardo puede ser tomado introduciendo un tiempo de retraso θ_c en el término que representa la activación de los linfocitos T citotóxicos. El retraso se toma como el número de parásitos que se tiene en un tiempo anterior θ_c .
- Hacer la comparación del modelo con resultados experimentales de la respuesta inmune celular para determinar su confiabilidad. Resultados como los de Sato *et al.* están siendo investigados al momento de la presentación de esta tesis. En su trabajo ellos muestran la evolución durante 18 días de células CD8 (células citotóxicas) en la sangre de ratas de la especie Wistar Furth infectadas via intraperitoneal con 2×10^5 tripomastigotes de la cepa Y del T. cruzi [113]. Nuestro objetivo es hacer el mejor ajuste posible de estos datos a través de nuestro modelo y establecer parámetros asociados con el accionar inmune celular del mamífero al modelo. Lo anterior se compilará en un artículo que esta en preparación para ser enviado a una revista científica indexada [114].
- En futuros ajustes de datos experimentales implementaremos otras técnicas como el método de los mínimos cuadrados o aplicar los intervalos de confianza para estimar parámetros del modelo.

- Incorporar la respuesta del sistema inmune innato introduciendo ecuaciones en el modelo que describan la evolución de las células que intervienen en la primera defensa de un organismo mamífero ante la invasión de un patógeno. Las poblaciones a considerar serían: las células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos y células dendríticas), basófilos y eosinófilos, y células asesinas naturales (*natural killers*). También podemos mejorar el modelo al describir con más detalle las interacciones que se llevan a cabo en el proceso de la respuesta inmune celular (por ejemplo, la interacción célula colaboradora-célula presentadora de antígeno). Para verificar nuestros resultados comprobaremos los avances del modelo con los resultados experimentales de otros grupos de investigación [115].
- Hacer un modelo epidemiológico para estudiar si la presencia o prevalencia del *T. rangeli* podría disminuir la prevalencia del *T. cruzi* en un entorno doméstico. Existen áreas donde ambos parásitos son endémicos, comparten organismos hospederos y reservorios [83, 90, 91]. El efecto patógeno del parásito *T. rangeli* en la población vectorial lleva también a la extinción de la parasitemia vectorial del *T. cruzi* y a la disminución de la prevalencia de la enfermedad de Chagas en humanos. Hacer un modelo para analizar la competencia entre ambos parásitos en una población es interesante para estudiar estrategias que nos ayuden a combatir esta problemática de salud pública.
- Proponer en la comunidad académica el estudio de animales que puedan ser considerados hospedadores crónicos del parásito *T. rangeli*, de manera que se puedan incorporar al modelo epidemiológico como fuente permanente de vacunación en un entorno doméstico.

Apéndices

Apéndice A

Condiciones de Routh-Hurwitz

A.1 Condiciones de Routh-Hurwitz para un polinomio de grado cuatro

A partir del procedimiento para deducir las condiciones de Routh-Hurwitz explicado en la Sec. 2.4, se muestra a continuación como se deduce las condiciones de Routh-Hurwitz para establecer la estabilidad de los puntos críticos de un sistema con polinomio característico de grado cuatro.

Sea el polinomio característico:

$$l_4\lambda^4 + l_3\lambda^3 + l_2\lambda^2 + l_1\lambda + l_0 = 0$$

$$\begin{array}{c|ccc} \lambda^4 & l_4 & l_2 & l_0 \\ \lambda^3 & l_3 & l_1 & \\ \lambda^2 & b_1 & b_2 & \\ \lambda^1 & c_1 & 0 & \\ \lambda^0 & d_1 & & \end{array}$$

donde

$$\begin{aligned} b_1 &= \frac{l_3l_2 - l_1l_4}{l_3}, & b_2 &= \frac{l_3l_0 - l_4 * 0}{l_3} = l_0, \\ c_1 &= \frac{b_1l_1 - l_3b_2}{b_1}, & c_2 &= \frac{b_1 * 0 - l_3 * 0}{b_1} = 0 \\ d_1 &= \frac{c_1b_2 - b_1c_2}{c_1} = b_2 = l_0 \end{aligned}$$

Para que el sistema sea estable debe cumplir que $l_i > 0$, para $i = 1, \dots, 4$, además que b_1, c_1 sean mayores que cero.

$$b_1 = \frac{l_3l_2 - l_1l_4}{l_3} > 0,$$

Simplificando nos quedamos con el numerador de la anterior expresión y teniendo en cuenta que $b_1 > 0$ se establece la condición:

$$l_3l_2 - l_1l_4 > 0 \quad (\text{A.1})$$

Ahora estudiemos el coeficiente c_1 , teniendo en cuenta que $c_1 > 0$ y sustituyendo a b_1 :

$$(l_3l_2 - l_1l_4)l_1 - l_3^2l_0 > 0 \quad (\text{A.2})$$

Entonces para que el sistema sea estable debe cumplir que todos los $l_i > 0$ para $i = 1, \dots, 4$, junto con las condiciones A.1 y A.2.

A manera de ejemplo se muestra la aplicación de las condiciones de Routh-Hurwitz para obtener la estabilidad de los puntos críticos y estados estacionarios del modelo para una infección mixta con dos poblaciones de parásitos. Una población de parásitos se reproduce extracelularmente $m(t)$ y la otra intracelularmente $n(t)$, ambas por fisión binaria.

Sea el modelo,

$$\frac{dm(t)}{dt} = \kappa_m m(t) - \sum_{i=1}^N \alpha_{i,m}(t) a_i(t) m(t) \quad (\text{A.3})$$

$$\frac{dr(t)}{dt} = \xi n(t) - \eta r(t) \quad (\text{A.4})$$

$$\frac{dn(t)}{dt} = \eta N_r r(t) - \sum_{i=1}^N \alpha_{i,n}(t) a_i(t) n(t) - \xi n(t) \quad (\text{A.5})$$

Las poblaciones de anticuerpos están determinadas por:

$$\begin{aligned} \frac{da_i(t)}{dt} = & \gamma_{i,m} m(t - \theta_{i,m}) + \gamma_{i,n} n(t - \theta_{i,n}) \\ & - \alpha_{i,m}(t) a_i(t) m(t) - \alpha_{i,n}(t) a_i(t) n(t) + \frac{1}{\tau_i} [a_{i0} - a_i(t)] \end{aligned} \quad (\text{A.6})$$

Al buscar los puntos críticos igualamos a cero las derivadas temporales anteriores. Al considerar una sola especie de anticuerpos y hacer el estudio en el régimen asintótico:

$$\kappa_m m_s - \alpha_m a_s m_s = 0 \quad (\text{A.7})$$

$$\xi n_s - \eta r_s = 0 \quad (\text{A.8})$$

$$\eta N_r r_s - \alpha_n a_s n_s - \xi n_s = 0 \quad (\text{A.9})$$

$$\gamma_m m_s + \gamma_n n_s - \alpha_m a_s m_s - \alpha_n a_s n_s + \frac{1}{\tau} [a_{i0} - a_s] = 0 \quad (\text{A.10})$$

Los puntos críticos que se obtienen son:

- $m_s = 0, n_s = 0, r_s = 0, a_s = a_0$
- $m_s = \frac{\kappa_m - \alpha_m a_0}{\alpha_m \tau (\gamma_m - \kappa_m)}, n_s = 0, r_s = 0, a_s = \frac{\kappa_m}{\alpha_m}$
- $m_s = 0, n_s = \frac{(N_r - 1)\xi - \alpha_n a_0}{\alpha_m \tau (\gamma_m - (N_r - 1)\xi)}, r_s = \frac{\xi}{\eta} n_s, a_s = \frac{(N_r - 1)\xi}{\alpha_n}$

El siguiente paso es establecer la matriz jacobiana J asociada al sistema,

$$J = \begin{pmatrix} \kappa_m - \alpha_m a_s & 0 & 0 & -\alpha_m m_s \\ 0 & -\eta & \xi & 0 \\ 0 & \eta N_r & -\alpha_n a_s - \xi & -\alpha_n n_s \\ \gamma_m - \alpha_m a_s & 0 & \gamma_n - \alpha_n a_s & -\alpha_m m_s - \alpha_n n_s - \frac{1}{\tau} \end{pmatrix}.$$

Ahora se obtiene el polinomio característico de grado cuatro $l_4 \lambda^4 + l_3 \lambda^3 + l_2 \lambda^2 + l_1 \lambda + l_0 = 0$ a partir de la ecuación $\det|J - \lambda I| = 0$, donde $l_4 = 1$,

$$l_3 = \frac{1 + a_s \alpha_m \tau + a_s \alpha_n \tau + \eta \tau - \kappa \tau + \alpha_m m_s \tau + \alpha_n n_s \tau + \tau \xi}{\tau}$$

$$l_2 = \frac{1}{\tau} (a_s \alpha_m + a_s \alpha_n + \eta - \kappa + a_s^2 \alpha_m \alpha_n \tau + a_s \alpha_m \eta \tau + a_s \alpha_n \eta \tau - a_s \alpha_n \kappa \tau - \eta \kappa \tau + a_s \alpha_m \alpha_n m_s \tau + \alpha_m \eta m_s \tau + \alpha_m \gamma_m m_s \tau - \alpha_m \kappa m_s \tau + a_s \alpha_m \alpha_n n_s \tau + \alpha_n \eta n_s \tau + \alpha_n \gamma_n n_s \tau - \alpha_n \kappa n_s \tau + \xi + a_s \alpha_m \tau \xi + \eta \tau \xi - \kappa \tau \xi + \alpha_m m_s \tau \xi + \alpha_n n_s \tau \xi - \eta \tau N_r \xi)$$

$$l_1 = (1/\tau) (a_s^2 \alpha_m \alpha_n + a_s \alpha_m \eta + a_s \alpha_n \eta - a_s \alpha_n \kappa - \eta \kappa + a_s^2 \alpha_m \alpha_n \eta \tau - a_s \alpha_n \eta \kappa \tau + a_s \alpha_m \alpha_n \eta m_s \tau + a_s \alpha_m \alpha_n \gamma_m m_s \tau + \alpha_m \eta \gamma_m m_s \tau - a_s \alpha_m \alpha_n \kappa m_s \tau - \alpha_m \eta \kappa m_s \tau + a_s \alpha_m \alpha_n \eta n_s \tau + a_s \alpha_m \alpha_n \gamma_n n_s \tau + \alpha_n \eta \gamma_n n_s \tau - \alpha_n \eta \kappa n_s \tau - \alpha_n \gamma_n \kappa n_s \tau + a_s \alpha_m \xi + \eta \xi - \kappa \xi + a_s \alpha_m \eta \tau \xi - \eta \kappa \tau \xi + \alpha_m \eta m_s \tau \xi + \alpha_m \gamma_m m_s \tau \xi - \alpha_m \kappa m_s \tau \xi + a_s \alpha_m \alpha_n n_s \tau \xi + \alpha_n \eta n_s \tau \xi - \alpha_n \kappa n_s \tau \xi - \eta N_r \xi - a_s \alpha_m \eta \tau N_r \xi + \eta \kappa \tau N_r \xi - \alpha_m \eta m_s \tau N_r \xi - \alpha_n \eta n_s \tau N_r \xi)$$

$$l_0 = (1/\tau) (a_s^2 \alpha_m \alpha_n \eta - a_s \alpha_n \eta \kappa + a_s \alpha_m \alpha_n \eta \gamma_m m_s \tau - a_s \alpha_m \alpha_n \eta \kappa m_s \tau + a_s \alpha_m \alpha_n \eta \gamma_n n_s \tau - \alpha_n \eta \gamma_n \kappa n_s \tau + a_s \alpha_m \eta \xi - \eta \kappa \xi + \alpha_m \eta \gamma_m m_s \tau \xi - \alpha_m \eta \kappa m_s \tau \xi + a_s \alpha_m \alpha_n \eta n_s \tau \xi - \alpha_n \eta \kappa n_s \tau \xi - a_s \alpha_m \eta N_r \xi + \eta \kappa N_r \xi - \alpha_m \eta \gamma_m m_s \tau N_r \xi + \alpha_m \eta \kappa m_s \tau N_r \xi - a_s \alpha_m \alpha_n \eta n_s \tau N_r \xi + \alpha_n \eta \kappa n_s \tau N_r \xi)$$

El objetivo es establecer la estabilidad de cada uno de los puntos críticos y la zona que cada uno de ellos ocupa en el diagrama de fase $(N_r - \gamma)$. Para hacerlo

se dan valores a los demás parámetros del modelo y se grafican las condiciones de Routh-Hurwitz en la región del espacio de fase donde son validas las inecuaciones ($l_i > 0$ con $i = 1, \dots, 4$, $l_3l_2 - l_1l_4 > 0$ y $(l_3l_2 - l_1l_4)l_1 - l_3^2l_0 > 0$). A partir de igualar a cero las inecuaciones se encuentran las fronteras donde son estables estos puntos críticos o estados estacionarios.

A continuación se muestran en las Figs. A.1-A.3, el análisis de estabilidad hecha a los tres puntos críticos obtenidos anteriormente con las condiciones de Routh-Hurwitz usando el software Wolfram Mathematica 9.0. En el programa $W = N_r$ y $\text{gama2} = \gamma_n$. Los valores de los parámetros se muestran en las figuras.

En la Fig A.1 se aprecia el area en el diagrama de fase ($N_r - \gamma$) donde el punto crítico trivial asociado con un estado estacionario de curación es estable para este conjunto de parámetros.

En la Fig. A.2 se aprecia que el punto crítico asociado con una cronicidad para la población parasitaria $m(t)$ que se replica extracelularmente $(m_s, n_s, r_s, a_s) = (\frac{\kappa_m - \alpha_m a_0}{\alpha_m \tau (\gamma_m - \kappa_m)}, 0, 0, \frac{\kappa_m}{\alpha_m})$ no es estable para este conjunto de parámetros, puesto que no aparece un area sombreada al graficar las inecuaciones en el diagrama de fase ($N_r - \gamma$).

En la Fig. A.3 se muestra el area en el diagrama de fase ($N_r - \gamma$) donde el punto crítico asociado con un estado estacionario de cronicidad para la población parasitaria $n(t)$ que se replica intracelularmente por fisión binaria, $(m_s, n_s, r_s, a_s = 0, \frac{(N_r - 1)\xi - \alpha_n a_0}{\alpha_m \tau (\gamma_m - (N_r - 1)\xi)}, \frac{\xi}{\eta} n_s, \frac{(N_r - 1)\xi}{\alpha_n})$ es estable para este conjunto de parámetros.

También se debe analizar la región del espacio de fase donde no existe estabilidad para los puntos críticos encontrados y saber como se comportan las poblaciones del sistema estudiado. En esa región del diagrama de fase $n(t)$ crece sin control (es decir, $n \rightarrow \infty$) y la población de anticuerpos se aproxima $a_s \approx \frac{\gamma_n}{\alpha_n}$. luego desde las Ec. A.5 se tiene:

$$\eta N_r r - \alpha_n a_s n - \xi n > 0$$

$$\text{entonces, } \eta N_r r > (\alpha_n a_s - \xi)n \quad (\text{A.11})$$

A partir de la Ec. A.4 se tiene:

$$\xi n - \eta r > 0 \quad \text{entonces, } \xi n > \eta r \quad (\text{A.12})$$

```

In[27]:= ae := a0;
          ne := 0;
          me := 0;
          eta := 1;
          xi := 10;
          alfa1 := 2.5;
          alfa2 := 2.5;
          k := 4;
          gama1 := 6;
          tau := 10;
          a0 := 2;
          p1 = RegionPlot[10 > 0 && 11 > 0 && 12 > 0 && 13 > 0 && 14 > 0 && 13 12 - 14 11 > 0
                          && 13 12 11 - (14 11 11 + 13 13 10) > 0, {W, 0, 30}, {gama2, 0, 30}]

```

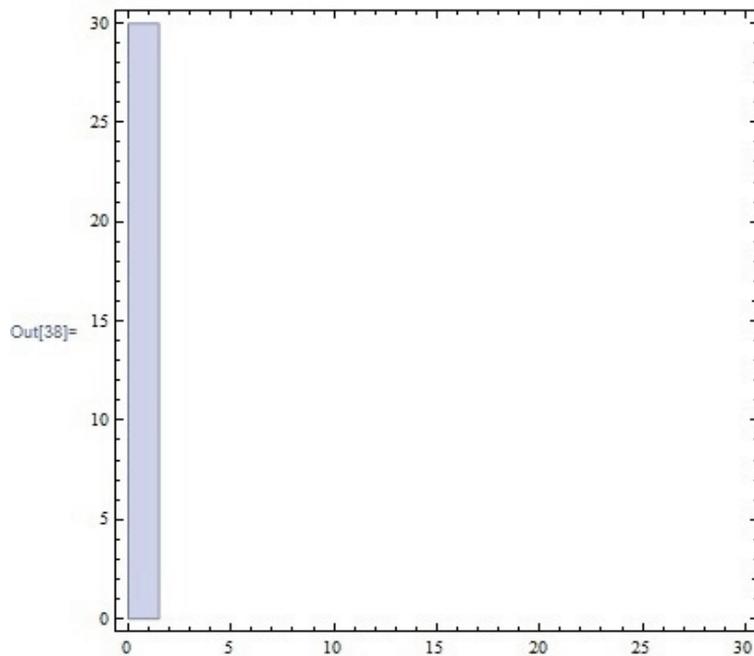


Figura A.1: Análisis de estabilidad con las condiciones de Routh-Hurwitz del punto crítico $(m_s, n_s, r_s, a_s) = (0, 0, 0, a_0)$ en el diagrama de fase $(N_r - \gamma)$.

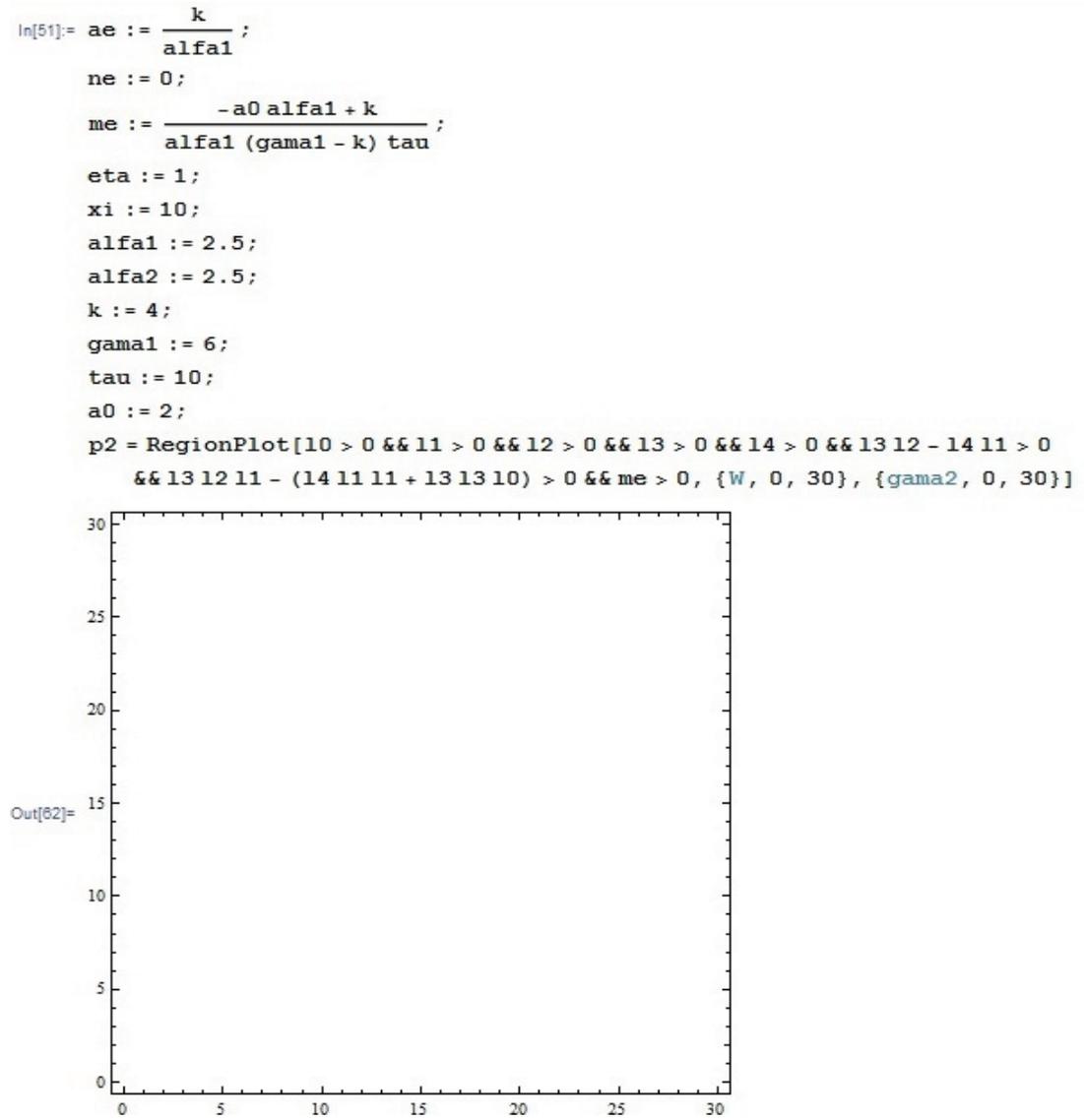


Figura A.2: Análisis de estabilidad con las condiciones de Routh-Hurwitz del punto crítico $(m_s, n_s, r_s, a_s) = \left(\frac{\kappa_m - \alpha_m a_0}{\alpha_m \tau (\gamma_m - \kappa_m)}, 0, 0, \frac{\kappa_m}{\alpha_m}\right)$ en el diagrama de fase $(N_r - \gamma)$.

```

In[75]:= ae :=  $\frac{-xi + W xi}{alfa2}$ ;
me := 0;
ne :=  $\frac{-a0 alfa2 - xi + W xi}{alfa2 tau (gama2 + xi - W xi)}$ ;
eta := 1;
xi := 10;
alfa1 := 2.5;
alfa2 := 2.5;
k := 4;
gama1 := 6;
tau := 10;
a0 := 2;
p3 = RegionPlot[10 > 0 && l1 > 0 && l2 > 0 && l3 > 0 && l4 > 0 && l3 l2 - l4 l1 > 0
&& l3 l2 l1 - (l4 l1 l1 + l3 l3 l0) > 0 && ne > 0, {W, 0, 30}, {gama2, 0, 30}]

```

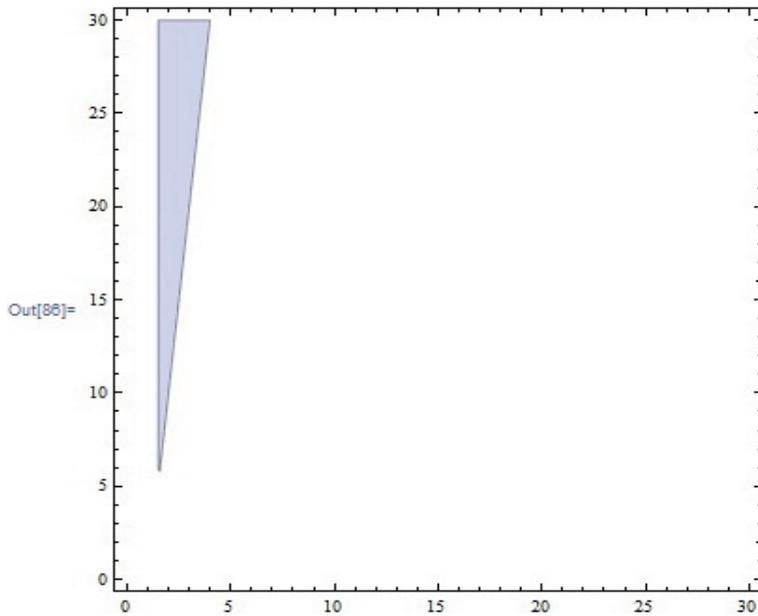


Figura A.3: Análisis de estabilidad con las condiciones de Routh-Hurwitz del punto crítico $(m_s, n_s, r_s, a_s) = (0, \frac{(N_r-1)\xi - \alpha_n a_0}{\alpha_m \tau (\gamma_m - (N_r-1)\xi)}, \frac{\xi}{\eta} n_s, \frac{(N_r-1)\xi}{\alpha_n})$ en el diagrama de fase $(N_r - \gamma)$.

Multiplicando ambos lados de la Inec. A.12 por N_r se obtiene $N_r\xi n > N_r\eta r$ y sustituyendo en la Inec. A.11 se obtiene la condición:

$$N_r\xi n > (\alpha_n a_s - \xi)n \quad (\text{A.13})$$

Simplificando n en ambos lados de la inecuación y sustituyendo $a_s = \frac{\gamma_n}{\alpha_n}$, se obtiene la condición para el crecimiento sin control de la población $n(t)$ al despejar para γ_n de la siguiente forma:

$$\gamma_n < (N_r - 1)\xi \quad (\text{A.14})$$

La Inec. A.14 indica la condición para obtener un crecimiento ilimitado de la población parasitaria $n(t)$, a continuación se muestra la deducción de las condiciones para el comportamiento de la otra población parasitaria $m(t)$. La población parasitaria $m(t)$ puede crecer sin control ($m \rightarrow \infty$) o extinguirse hasta desaparecer (es decir, $m \rightarrow 0$).

A partir de la Ec. A.3, si $m \rightarrow 0$ es debido a:

$$\kappa_m - \alpha_m a_s < 0,$$

$$\text{o sea, } \kappa_m < \alpha_m a_s \quad (\text{A.15})$$

Sustituyendo el valor de $a_s = \frac{\gamma_n}{\alpha_n}$ y despejando para γ_n se obtiene la condición para la extinción de la población parasitaria $m(t)$,

$$\gamma_n > \frac{\alpha_n}{\alpha_m} \kappa_m \quad (\text{A.16})$$

Ahora si ($m \rightarrow \infty$), es debido a que $\kappa_m - \alpha_m a_s < 0$, y siguiendo un procedimiento parecido al anterior se obtiene la condición para que la población parasitaria $m(t)$ crezca sin control:

$$\gamma_n < \frac{\alpha_n}{\alpha_m} \kappa_m \quad (\text{A.17})$$

Resumiendo, el resto del diagrama de fase donde no existe zona sombreada esta dado por los estados estacionarios:

- $(m \rightarrow 0, n \rightarrow \infty, r \rightarrow \infty, a_s \rightarrow \gamma_2/\alpha_2)$, si $\gamma_n < (N_r - 1)\xi$, $\gamma_n > \alpha_n/\alpha_m \kappa$ y $N_r > 1 + \alpha_n a_0/\xi$.
- $(m \rightarrow \infty, n \rightarrow \infty, r \rightarrow \infty, a_s \rightarrow \gamma_2/\alpha_2)$, si $\gamma_n < (N_r - 1)\xi$, $\gamma_n < \alpha_n/\alpha_m \kappa$ y $N_r > 1 + \alpha_n a_0/\xi$.

A.2 Condiciones de Routh-Hurwitz para un polinomio de grado cinco

A partir del procedimiento para deducir las condiciones de Routh-Hurwitz explicado en la Sec. 2.4, se muestra a continuación como se deduce las condiciones de Routh-Hurwitz para establecer la estabilidad de los puntos críticos de un sistema con polinomio característico de grado cinco.

Suponga el polinomio característico:

$$l_5\lambda^5 + l_4\lambda^4 + l_3\lambda^3 + l_2\lambda^2 + l_1\lambda + l_0 = 0$$

λ^5	l_5	l_3	l_1
λ^4	l_4	l_2	l_0
λ^3	b_1	b_2	0
λ^2	c_1	c_2	0
λ^1	d_1	0	
λ^0	e_1		

donde

$$b_1 = \frac{l_4l_3 - l_5l_2}{l_4}, \quad b_2 = \frac{l_1l_4 - l_0l_5}{l_4},$$

$$c_1 = \frac{b_1l_2 - l_4b_2}{b_1}, \quad c_2 = \frac{b_1l_0 - 0}{b_1} = l_0$$

$$d_1 = \frac{c_1b_2 - b_1c_2}{c_1}, \quad e_1 = c_2 = l_0$$

Recordemos que para que el sistema sea estable todos los coeficientes (l_i con $i = 1, \dots, 5$) del polinomio deben ser mayores que cero junto con b_1 , c_1 , d_1 y e_1 . Desarrollando el coeficiente c_1 , al sustituir b_1 y b_2 y teniendo en cuenta que la condición de estabilidad establece que $c_1 > 0$:

$$c_1 = \frac{\frac{l_3l_4 - l_5l_2}{l_1}l_2 - l_1\frac{l_1l_4 - l_0l_5}{l_4}}{\frac{l_3l_4 - l_5l_2}{l_4}} > 0,$$

simplificando y considerando la condición a cumplir nos quedaría

$$(l_3l_4 - l_5l_2)l_2 - (l_1l_4 - l_0l_5)l_4 > 0 \quad (\text{A.18})$$

De igual forma sustituyendo b_1 , b_2 , c_1 y c_2 en d_1 , la condición para cumplir sería:

$$[((l_4l_3 - l_5l_2)l_2 - l_4(l_4l_1 - l_5l_0))(l_4l_1 - l_5l_0) - (l_4l_3 - l_5l_2)(l_4l_3 - l_5l_2)l_0] > 0 \quad (\text{A.19})$$

Luego para que el sistema sea estable debe cumplir que todos los $l_i > 0$ con $i = 1, \dots, 5$, junto con las condiciones 1.3 y 1.4.

Apéndice B

Coefficientes

A modo de información quiero complementar el Cap. 6 expresando los coeficientes que conforman el polinomio característico obtenido desde $\det|J - \lambda I|$, con J como la matriz jacobiana asociada al sistema de ecuaciones que conforman el modelo que incluye ambas respuestas inmunes humoral y ceular. El polinomio característico es $l_5\lambda^5 + l_4\lambda^4 + l_3\lambda^3 + l_2\lambda^2 + l_1\lambda + l_0 = 0$, donde $l_5 = 1$,

$$l_4 = -(1/(\tau_a\tau_c\tau_T))(-\tau_a\tau_c - \tau_a\tau_T - \tau_c\tau_T - \eta\tau_a\tau_c\tau_T - \xi\tau_a\tau_c\tau_T - \alpha a_s\tau_a\tau_c\tau_T - \kappa c_s\tau_a\tau_c\tau_T - \alpha n_s\tau_a\tau_c\tau_T - \phi n_s\tau_a\tau_c\tau_T),$$

$$l_3 = -(1/(\tau_a\tau_c\tau_T))(-\tau_a - \tau_c - \eta\tau_a\tau_c - \xi\tau_a\tau_c - \alpha a_s\tau_a\tau_c - \kappa c_s\tau_a\tau_c - \alpha n_s\tau_a\tau_c - \tau_T - \eta\tau_a\tau_T - \xi\tau_a\tau_T - \alpha a_s\tau_a\tau_T - \kappa c_s\tau_a\tau_T - \alpha n_s\tau_a\tau_T - \phi n_s\tau_a\tau_T - \eta\tau_c\tau_T - \xi\tau_c\tau_T - \alpha a_s\tau_c\tau_T - \kappa c_s\tau_c\tau_T - \phi n_s\tau_c\tau_T - \eta\xi\tau_a\tau_c\tau_T + \eta N_r\xi\tau_a\tau_c\tau_T - \alpha\eta a_s\tau_a\tau_c\tau_T - \kappa\xi c_s\tau_a\tau_c\tau_T - \alpha\kappa a_s c_s\tau_a\tau_c\tau_T - \alpha\eta n_s\tau_a\tau_c\tau_T - \alpha\gamma n_s\tau_a\tau_c\tau_T - \eta\phi n_s\tau_a\tau_c\tau_T - \alpha\xi n_s\tau_a\tau_c\tau_T - \phi\xi n_s\tau_a\tau_c\tau_T - \alpha\phi a_s n_s\tau_a\tau_c\tau_T - \alpha\kappa c_s n_s\tau_a\tau_c\tau_T - \kappa\phi c_s n_s\tau_a\tau_c\tau_T - \alpha\phi n_s^2\tau_a\tau_c\tau_T + \delta\phi n_s r_s\tau_a\tau_c\tau_T),$$

$$\begin{aligned}
l_2 = & -(1/(\tau_a \tau_c \tau_T))(-1 - \eta \tau_a - \xi \tau_a - \alpha a_s \tau_a - \kappa c_s \tau_a - \alpha n_s \tau_a - \eta \tau_c - \xi \tau_c \\
& - \alpha a_s \tau_c - \kappa c_s \tau_c - \eta \xi \tau_a \tau_c + \eta N_r \xi \tau_a \tau_c - \alpha \eta a_s \tau_a \tau_c - \kappa \xi c_s \tau_a \tau_c \\
& - \alpha \kappa a_s c_s \tau_a \tau_c - \alpha \eta n_s \tau_a \tau_c - \alpha \gamma n_s \tau_a \tau_c - \alpha \xi n_s \tau_a \tau_c - \alpha \kappa c_s n_s \tau_a \tau_c - \eta \tau_T \\
& - \xi \tau_T - \alpha a_s \tau_T - \kappa c_s \tau_T - \phi n_s \tau_T - \eta \xi \tau_a \tau_T + \eta N_r \xi \tau_a \tau_T - \alpha \eta a_s \tau_a \tau_T \\
& - \kappa \xi c_s \tau_a \tau_T - \alpha \kappa a_s c_s \tau_a \tau_T - \alpha \eta n_s \tau_a \tau_T - \alpha \gamma n_s \tau_a \tau_T - \eta \phi n_s \tau_a \tau_T \\
& - \alpha \xi n_s \tau_a \tau_T - \phi \xi n_s \tau_a \tau_T - \alpha \phi a_s n_s \tau_a \tau_T - \alpha \kappa c_s n_s \tau_a \tau_T - \kappa \phi c_s n_s \tau_a \tau_T \\
& - \alpha \phi n_s^2 \tau_a \tau_T - \eta \xi \tau_c \tau_T + \eta N_r \xi \tau_c \tau_T - \alpha \eta a_s \tau_c \tau_T - \kappa \xi c_s \tau_c \tau_T - \alpha \kappa a_s c_s \tau_c \tau_T \\
& - \eta \phi n_s \tau_c \tau_T - \phi \xi n_s \tau_c \tau_T - \alpha \phi a_s n_s \tau_c \tau_T - \kappa \phi c_s n_s \tau_c \tau_T + \delta \phi n_s r_s \tau_c \tau_T \\
& - \alpha \eta \gamma n_s \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \eta \xi n_s \tau_a \tau_c \tau_T - \eta \phi \xi n_s \tau_a \tau_c \tau_T + \alpha \eta N_r \xi n_s \tau_a \tau_c \tau_T \\
& + \eta \phi N_r \xi n_s \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \eta \phi a_s n_s \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \gamma \kappa c_s n_s \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \kappa \xi c_s n_s \tau_a \tau_c \tau_T \\
& - \kappa \phi \xi c_s n_s \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \kappa \phi a_s c_s n_s \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \eta \phi n_s^2 \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \gamma \phi n_s^2 \tau_a \tau_c \tau_T \\
& - \alpha \phi \xi n_s^2 \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \kappa \phi c_s n_s^2 \tau_a \tau_c \tau_T + \delta \eta \phi n_s r_s \tau_a \tau_c \tau_T + \delta \phi \xi n_s r_s \tau_a \tau_c \tau_T \\
& + \alpha \delta \phi a_s n_s r_s \tau_a \tau_c \tau_T + \alpha \delta \phi n_s^2 r_s \tau_a \tau_c \tau_T - \eta \kappa \phi N_r r_s T_s \tau_a \tau_c \tau_T),
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
l_1 = & -(1/(\tau_a \tau_c \tau_T))(-\eta - \xi - \alpha a_s - \kappa c_s - \eta \xi \tau_a + \eta N_r \xi \tau_a - \alpha \eta a_s \tau_a - \kappa \xi c_s \tau_a \\
& - \alpha \kappa a_s c_s \tau_a - \alpha \eta n_s \tau_a - \alpha \gamma n_s \tau_a - \alpha \xi n_s \tau_a - \alpha \kappa c_s n_s \tau_a - \eta \xi \tau_c + \eta N_r \xi \tau_c \\
& - \alpha \eta a_s \tau_c - \kappa \xi c_s \tau_c - \alpha \kappa a_s c_s \tau_c - \alpha \eta \gamma n_s \tau_a \tau_c - \alpha \eta \xi n_s \tau_a \tau_c + \alpha \eta N_r \xi n_s \tau_a \tau_c \\
& - \alpha \gamma \kappa c_s n_s \tau_a \tau_c - \alpha \kappa \xi c_s n_s \tau_a \tau_c - \eta \kappa \phi N_r r_s T_s \tau_a \tau_c - \eta \xi \tau_T + \eta N_r \xi \tau_T \\
& - \alpha \eta a_s \tau_T - \kappa \xi c_s \tau_T - \alpha \kappa a_s c_s \tau_T - \eta \phi n_s \tau_T - \phi \xi n_s \tau_T - \alpha \phi a_s n_s \tau_T \\
& - \kappa \phi c_s n_s \tau_T - \alpha \eta \gamma n_s \tau_a \tau_T - \alpha \eta \xi n_s \tau_a \tau_T - \eta \phi \xi n_s \tau_a \tau_T + \alpha \eta N_r \xi n_s \tau_a \tau_T \\
& + \eta \phi N_r \xi n_s \tau_a \tau_T - \alpha \eta \phi a_s n_s \tau_a \tau_T - \alpha \gamma \kappa c_s n_s \tau_a \tau_T - \alpha \kappa \xi c_s n_s \tau_a \tau_T \\
& - \kappa \phi \xi c_s n_s \tau_a \tau_T - \alpha \kappa \phi a_s c_s n_s \tau_a \tau_T - \alpha \eta \phi n_s^2 \tau_a \tau_T - \alpha \gamma \phi n_s^2 \tau_a \tau_T \\
& - \alpha \kappa \phi c_s n_s^2 \tau_a \tau_T - \eta \phi \xi n_s \tau_c \tau_T + \eta \phi N_r \xi n_s \tau_c \tau_T - \alpha \eta \phi a_s n_s \tau_c \tau_T \\
& - \alpha \kappa \phi a_s c_s n_s \tau_c \tau_T + \delta \eta \phi n_s r_s \tau_c \tau_T + \delta \phi \xi n_s r_s \tau_c \tau_T + \alpha \delta \phi a_s n_s r_s \tau_c \tau_T \\
& - \eta \kappa \phi N_r r_s T_s \tau_c \tau_T - \alpha \eta \gamma \phi n_s^2 \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \eta \phi \xi n_s^2 \tau_a \tau_c \tau_T + \alpha \eta \phi N_r \xi n_s^2 \tau_a \tau_c \tau_T \\
& - \alpha \gamma \kappa \phi c_s n_s^2 \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \kappa \phi \xi c_s n_s^2 \tau_a \tau_c \tau_T + \delta \eta \phi \xi n_s r_s \tau_a \tau_c \tau_T - \kappa \phi \xi c_s n_s \tau_c \tau_T \\
& + \alpha \delta \eta \phi a_s n_s r_s \tau_a \tau_c \tau_T + \alpha \delta \eta \phi n_s^2 r_s \tau_a \tau_c \tau_T + \alpha \delta \gamma \phi n_s^2 r_s \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \phi \xi n_s^2 \tau_a \tau_T \\
& + \alpha \delta \phi \xi n_s^2 r_s \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \eta \kappa \phi N_r n_s r_s T_s \tau_a \tau_c \tau_T - \delta \eta \phi N_r \xi n_s r_s \tau_a \tau_c \tau_T),
\end{aligned}$$

y

$$\begin{aligned}
l_0 = & -(1/(\tau_a \tau_c \tau_T))(-\eta \xi + \eta N_r \xi - \alpha \eta a_s - \kappa \xi c_s - \alpha \kappa a_s c_s - \alpha \eta \gamma n_s \tau_a - \alpha \eta \xi n_s \tau_a \\
& + \alpha \eta N_r \xi n_s \tau_a - \alpha \gamma \kappa c_s n_s \tau_a - \alpha \kappa \xi c_s n_s \tau_a - \eta \kappa \phi N_r r_s T_s \tau_c - \alpha \eta \kappa \phi N_r n_s r_s T_s \tau_a \tau_c \\
& - \eta \phi \xi n_s \tau_T + \eta \phi N_r \xi n_s \tau_T - \alpha \eta \phi a_s n_s \tau_T - \kappa \phi \xi c_s n_s \tau_T - \alpha \kappa \phi a_s c_s n_s \tau_T \\
& - \alpha \eta \gamma \phi n_s^2 \tau_a \tau_T - \alpha \eta \phi \xi n_s^2 \tau_a \tau_T + \alpha \eta \phi N_r \xi n_s^2 \tau_a \tau_T - \alpha \gamma \kappa \phi c_s n_s^2 \tau_a \tau_T \\
& - \alpha \kappa \phi \xi c_s n_s^2 \tau_a \tau_T + \delta \eta \phi \xi n_s r_s \tau_c \tau_T - \delta \eta \phi N_r \xi n_s r_s \tau_c \tau_T + \alpha \delta \eta \phi a_s n_s r_s \tau_c \tau_T \\
& + \alpha \delta \eta \phi \xi n_s^2 r_s \tau_a \tau_c \tau_T - \alpha \delta \eta \phi N_r \xi n_s^2 r_s \tau_a \tau_c \tau_T) + \alpha \delta \eta \gamma \phi n_s^2 r_s \tau_a \tau_c \tau_T
\end{aligned}$$

Apéndice C

Gráficos Complementarios

C.1 Gráficas de la Evolución de las Poblaciones de Linfocitos T Citotóxicos No Activos T y los Linfocitos T Citotóxicos Activos c en el Estado de Curación

A continuación se muestran las Figs 6.3(c) y 6.3(d) sin el acortamiento del eje del tiempo que se mostró en la Sec. 6.4. En las Figs. 7.1(c)-(d) se muestra la dinámica completa de las poblaciones de linfocitos T citotóxicos no activos T y los linfocitos T citotóxicos activos c en el estado de curación.

En las gráficas que se muestran en la Sec. 6.4 no se aprecia el comportamiento a tiempos intermedios de ambas poblaciones, el cual se muestra en las Figs. C.1(c)-(d). De esta manera mientras a tiempos cortos (mostrado en la Fig. 6.3(c)) la población de linfocitos T citotóxicos no activos T decrece rápidamente, a tiempos intermedios empieza a crecer hasta alcanzar su valor asintótico sin infección $T_s = \sigma\tau_c = 30$. El decrecimiento de la población de los linfocitos T citotóxicos no activos se debe a que están siendo activados por la presencia de la infección. A tiempos cortos los linfocitos T citotóxicos activos aumentan (mostrado en la Fig. 6.3(d)), mientras a tiempos intermedios empiezan a decrecer hasta llegar a su valor en estado estacionario sin infección $c_s = 0$.

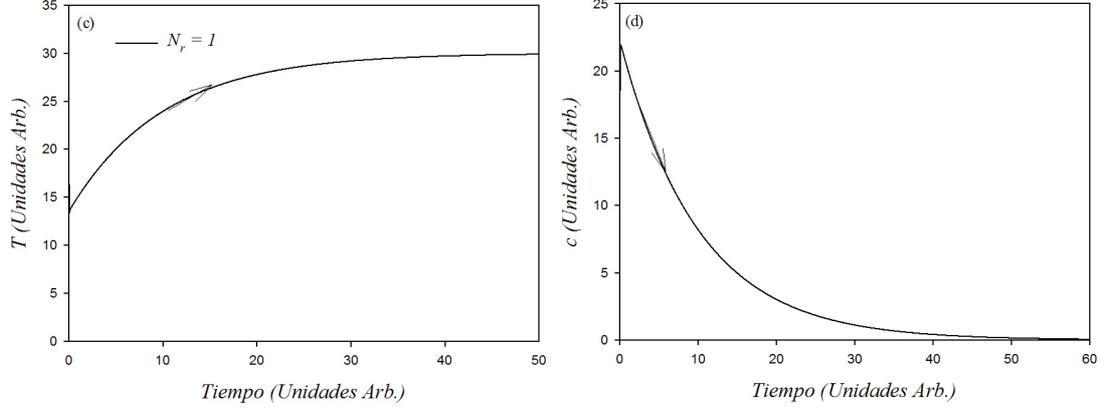


Figura C.1: Evolución (c) del número de células citotóxicas precursoras (T), y (d) de las células citotóxicas (c), en el estado de curación. Las condiciones iniciales son: $n_0 = 20$, $T_0 = 30$ y $c_0 = 0$.

C.2 Gráficas de la Evolución de las Poblaciones de Linfocitos T Citotóxicos No Activos T y los Linfocitos T Citotóxicos Activos c en los Estados Crónicos II.a y II.b

A continuación se muestran las Figs 6.3(c) y 6.3(d) sin el acortamiento del eje del tiempo para mostrar la dinámica completa de las poblaciones de linfocitos T citotóxicos no activos T y los linfocitos T citotóxicos activos c en los estados crónicos II.a y II.b.

En las gráficas que se muestran en la Sec. 6.4 no se aprecia el comportamiento a tiempos intermedios de ambas poblaciones en los diferentes estados crónicos. El comportamiento a tiempos intermedios se muestra en las Figs. C.2(c)-(d). De esta manera mientras a tiempos cortos (mostrado en la Fig. 6.4(c)) las poblaciones de linfocitos T citotóxicos no activos T decrecen rápidamente, a tiempos intermedios empiezan a crecer para después oscilar amortiguadamente hasta alcanzar sus correspondientes valores asintóticos ($T_{e,1}$ para el estado crónico II.a y $T_{e,2}$ para el estado crónico II.b). El decrecimiento de la población de linfocitos T citotóxicos no activos se debe a que están siendo activados por la presencia de la infección. A tiempos cortos los linfocitos T citotóxicos activos aumentan (mostrado en la Fig. 6.4(d)), mientras a tiempos intermedios disminuyen para volver a aumentar y oscilar

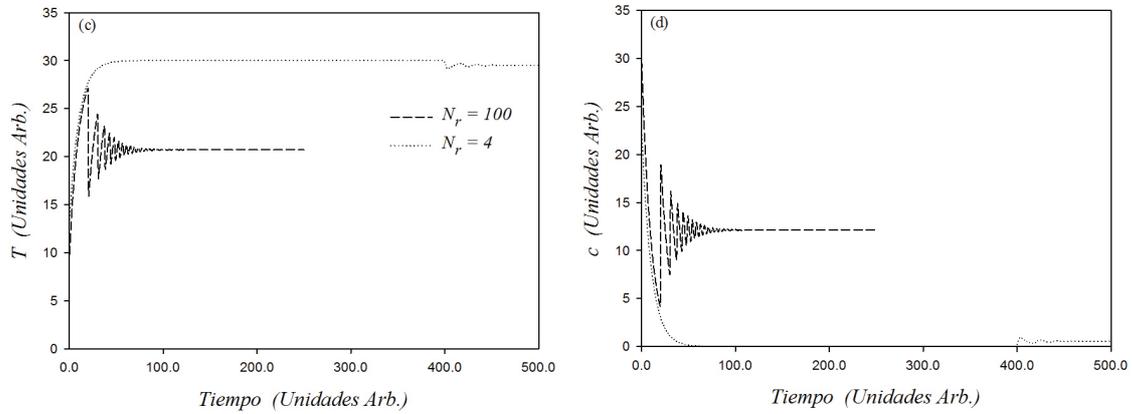


Figura C.2: Evolución (c) del número de células citotóxicas precursoras (T), y (d) de las células citotóxicas (c) en los estados crónicos II.a y II.b. Las condiciones iniciales son: $n_0 = 20$, $T_0 = 30$ y $c_0 = 0$.

amortiguadamente hasta alcanzar sus respectivos valores ($c_{e,1}$ para el estado crónico II.a y $c_{e,2}$ para el estado crónico II.b) en estado estacionario.

Bibliografía

- [1] World Expert Committee. World Health Organ. Tech. Rep. Ser. 905, i-vi, 1 (2002).
- [2] J. Jannin, & R. Salvatella, Quantitative Estimates of Chagas Disease in the Americas [OPS/HDM/CD/425-06] 1-28 (Pan American Health Organization, (2006).
- [3] G. Schumunis, *Mem. Ins. Oswaldo Cruz* **102**, 75 (2007).
- [4] R. Storino, J. Milei, *Enfermedad de Chagas*, Ed. Mosby Doyma, Buenos Aires - Argentina, 1994.
- [5] H.B. Tanowitz, *Clin. Microbiol. Rev* **5**, 400 (1992).
- [6] M.B.P. Soares and R. Ribeiro Dos Santos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **95**, 257 (1999).
- [7] F.S. Laranja, E. Dias, G. Nobrego and A. Marinda, *Circulation* **14**, 1035 (1956).
- [8] A. Prata, *Lancet Infect. Dis.* **1**, 92 (2001).
- [9] Z. Andrade, *Mem. Oswaldo Cruz* **94**, 71 (1999).
- [10] Z.A. Andrade *et al.*, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **57**, 328 (1997).
- [11] E. Umezawa, A.M.S. Stalf, C.E.P. Corbett and M.A. Shikanai-Yasuda, *Lancet* **357**, 797 (2000).
- [12] R. Storino, J. Milei, *Enfermedad de Chagas En Medicina*, Mautner B y col. Centro Editor Fundación Favalaro, Buenos Aires, Cap. 25: 774, 1998.
- [13] J.R. Cancado, *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **44**, 29 (2002).
- [14] H.O. Ferreira, *J. Pediat.* **64**, 126 (1988).

- [15] A.A. Fragata Filho, M.A. Da Silva, E. Boainain, *Sao Paulo Med J.* **113**, 867 (1995).
- [16] H.O. Ferreira, *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **23**, 209 (1990).
- [17] Benznidazole. Drugdex Drug Evaluations. Micromedex[®]: Healthcare Series. Thomson Micromedex, Greenwood Village, Colorado (USA). Vol. 124, expires 6/2005.
- [18] Organización Mundial de la Salud, Centro de Prensa. Agosto de 2013. *La Enfermedad de Chagas (Tripanosomiasis Americana.)* Nota Descriptiva N° 340.
- [19] J. Clayton, *Nature* **465**, No. 7301 Suppl, S12 (2010).
- [20] S. Cossy Isasi, A. Fernández, P. Paglini and D. Bronia, *Acta Tropica* **73**, 295 (1999).
- [21] R.M. Anderson and R.M. Ray, editors. *Infectious Diseases of Humans: Dynamics and Control*, Oxford University Press, Oxford, (1991).
- [22] N.T.J. Bailey, *The Mathematical Theory of Infectious Diseases*, Griffin, London, 2nd ed. (1975).
- [23] L. Edelstein-Keshet, *Mathematical Models in Biology*, Random House, New York (1988).
- [24] A. Hastings, *Population Biology* (1st edition 1997) New York, Springer-Verlag (2000).
- [25] F.C. Hoppensteadt, *Mathematical Theories of Populations: Demographics, Genetics and Epidemics*, Volume 20 of CBSMS Lectures. SIAM Publications, Philadelphia, 1975.
- [26] F.C. Hoppensteadt, *Mathematical Methods in Population Biology*, Cambridge University Press, Cambridge, 1985.
- [27] S.I. Rubinow, *Introduction to Mathematical Biology*, John Wiley, New York, 1975.
- [28] J.D. Murray, *Mathematical Biology*, 3rd ed. (Springer, New York, 2002).
- [29] N.F. Britton, *Essential Mathematical Biology*, 1st Ed. (Springer-Verlag, London, 2003).

- [30] S.H. Strogatz, *Nonlinear Dynamics and Chaos: with Applications in Physics, Biology, Chemistry, and Engineering*, Addison-Wesley Publishing, Reading, MA (1994).
- [31] G.J. Sibona and C.A. Condat, *Phys. Rev. E.* **65**, 031918 (2002).
- [32] S. Cossy Isasi, G.J. Sibona and C.A. Condat, *J. Theor. Biol.* **208**, 1 (2001).
- [33] A. El Bouhdidi, C. Truyens, M.T. Rivera, H. Bazin and I. Carlier, *Parasite Immunol.* **16**, 69 (1994).
- [34] C.A. Condat, S. Cossy Isasi and G.J. Sibona, *Comments Theor. Biol.* **8**, 587 (2003).
- [35] G.J. Sibona, C.A. Condat and S. Cossy Isasi, *Phys. Rev. E.* **71**, 020901(R) (2005).
- [36] J.X. Velasco-Hernandez y E. Perez-Chavela, *Differential Equations and Applications to Biology and to Industry* (Martelli, M., Cooke, K., Cumberbatch, E., Tang, B., & Thieme, H., eds), pp. 521. New Jersey: World Scientific 1996.
- [37] Z. Brener and A.U. Kretti. *Immunology of Chagas Disease*. W. H. Freeman and Company, New York, 1990.
- [38] I. Tizard, editor. *Immunology and Pathogenesis of Trypanosomiasis*. CRC Press, Inc, Boca Ratón, Florida, 1985.
- [39] Licia Silva Oliveira, *Modelando a Interação entre o Sistema Imunológico Humano e o Tripanossoma*. Tesis de maestría. Universidade Estadual de Campinas. 2010.
- [40] A.M. Macedo, S.D.J. Pena, *Parasitol. Today* **14**, 119 (1998).
- [41] D.A. Campbell, S.J. Westenberger, N.R. Sturn *Curr. Mol. Med.* **4**, 549 (2004).
- [42] M.A. Miles *et al.*, *Parasitol.* **136**, 1509 (2009).
- [43] M. Tibayrenc, *Kinet. Biol. Dis. Phys.* **2**, 1 (2003).
- [44] B. Zingales *et al.*, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **104**, 1051 (2009).
- [45] C.J. Schofield and D.E. Gorla, *Nature* **465**, No. 7301 Suppl, S8 (2010).

- [46] M. Yeo *et al.*, *Int. J. Parasitol.* **35**, 225 (2005).
- [47] B. Espinoza, T. Rico, S. Sosa, E. Oaxaca, A. Vizcaino-Castillo, M.L. Caballero, and I. Martínez, *J. Biomed. Biotech.* **2010**, ID 890672 (2010).
- [48] M. Bertoli, M.H. Ando, M.J.O. Toledo, S.M. DeAraujo and M.L. Gomes, *Parasitol. Res.* **99**, 7 (2006).
- [49] A. Wallace, S. Ortiz, G. Sanchez, R. Villagra, M. Muga and A. Solari, *Biol. Res.* **34**, 83 (2001).
- [50] S.F. Breniere *et al.*, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **53**, 179 (1995).
- [51] M.F. Bosseno *et al.*, *Medicina* **55**, 277 (1995).
- [52] M.F. Bosseno *et al.*, *Experimental Parasitology* **83**, 275 (1996).
- [53] A. Solari *et al.*, *Experimental Parasitology* **97**, 226 (2001).
- [54] J.D. Ramirez, F. Guhl, L.M. Rendón, F. Rosas, J.A. Marin-Nieto, C.A. Morillo, *PLOS Negl. Trop. Dis.* **4**, e899 (2010).
- [55] N. Añez *et al.*, *Trop. Med. Int. Health.* **9**, 1319 (2004).
- [56] J.C. Mantilla, G. Zafra, A.M. Macedo and C.I. Gonzáles, *Hum. Pathol.* **41**, 610 (2010).
- [57] H. Devillers, J.R. Lobry and Frédéric Menu, *J. Theor. Biol.* **255**, 307 (2008).
- [58] H.M. Valadares *et al.*, *Int. J. Parasitol.* **38**, 839 (2008).
- [59] J.M. Burgos *et al.*, *Dig. Mic. Inf. Dis.* **65**, 50 (2009).
- [60] P.J. Pavia *et al.*, *Biomédica* **27**, 238 (2007).
- [61] C.M. Rodrigues *et al.*, *PLOS Negl. Trop. Dis.* **4**, e846 (2010).
- [62] D.J. Franco, A.R. Vago, E. Chiari, F.C.A. Meira, L.M.C. Galvao and C.R.S. Machado, *Exp. Parasitol.* **104**, 54 (2003).
- [63] S. G. Andrade *et al.*, *Rev. Soc. Brasileira Med. Trop.* **39(1)**, 1 jan-fev (2006).
- [64] S. G. Andrade *et al.*, *Rev. Ins. Med. Trop. Sao Paulo* **12**, 395 (1970).

- [65] E.M.M. Machado *et al.*, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol.**96**(4), 545 (2001).
- [66] E.M.M. Machado *et al.*, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **65**, 958 (2001).
- [67] J.M. Bustamante, *Clinical Science* **104**, 415 (2003).
- [68] S. Revelli *et al.*, *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **32**, 260 (1990).
- [69] B. Basso, E. Moretti and R. Fretes, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **103**, 370 (2008).
- [70] B. Basso, I. Castro, V. Introini, P. Gil, C. Truyens and E. Moretti, *Vaccine* **25**, 3855 (2007).
- [71] KW. Okamoto and P. Amarasekare, *J. Theor. Biol.* **309**, 47 (2012).
- [72] JC. Arciero *et al.*, *PLOS ONE* **5**, e10066 (2010).
- [73] J. Day *et al.*, *J. Theor. Biol.* **242**, 237 (2006).
- [74] B. Basso, E. Moretti and E. Vottero-Cima, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **44**, 413 (1991).
- [75] B. Basso, I. Castro, V. Introini, P. Gil, C. Truyens and E. Moretti, *Vaccine* **25**, 3855 (2007).
- [76] L. Cervetta, E. Moretti and B. Basso, *Acta Parasitol* **47**(1), 73 (2002).
- [77] B. Basso, L. Cervetta, E. Moretti, Y. Carlier and C. Truyens, *Vaccine* **22**, 1868 (2004).
- [78] V Marini *et al.*, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **106**(1), 32 (2011).
- [79] C. Zuñiga, T. Paláu, P. Penin, C. Gamallo and J.A. de Diego, *Trop. Medicine and Int. Health* **2**(5), 482 (1997).
- [80] MT. Paláu, AJ. Mejía, U. Vergara and CA. Zuñiga, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **98**(4), 543 (2003).
- [81] L. Acosta, A.J. Romanha, H. Cosenza, A.U. Krettli, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **44**, 676 (1991).
- [82] J.R. Coura *et al.*, *Trans. R. Soc. Med. Hyg.* **90**, 278-279 (1996).
- [83] E.C. Grisard, M. Steindel, A.A. Guamieri, I. Eger-Mangrich, D.A. Campbell, A.J. Romanha, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **94**, 203 (1999).

- [84] F. Guhl and G.A. Vallejo, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* **98**, 435 (2003).
- [85] S. Urdaneta-Morales and F. Tejero, *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* **28(3)**, 166 (1986).
- [86] Y. Osorio, B.L. Travi, Gloria I. Palma and N.G. Saravia, *J. Parasitol.* **81(5)**, 687 (1995).
- [87] I. Eger-Mangrich, M.A. de Oliveira, E. C. Grisard, W. De Souza and M. Steindel, *Parasitol. Res.* **87**, 505 (2001).
- [88] N. Añez, J. Velandia and A. M. Rodriguez, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz,* **80(2)** 149 (1985).
- [89] L. Barbosa Koerich, P. Emmanuelle-Machado, K. Santos. E.C. Grisard and M. Steindel, *Parasitol. Res.* **88**, 21 (2002).
- [90] A. D'Alessandro and N. G. Saraiva, *In Parasitic Protozoa* Academic Press New York, 1 (1992).
- [91] F. Guhl, L. Hudson, C. Marinkelle, S. Morgan and C. Jaramillo, *Acta Tropica* **42**, 311 (1985).
- [92] R. Anthony, C. Johnson and O. Sousa, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **6**, 969 (1979).
- [93] B. Basso, E. Moretti, S. Fontenia and Vottero-Cima, *Revista Latinoamericana Microbiológica* **2**, 141 (1989).
- [94] S. P. Vega, G.J. Sibona and C.A. Condat, Curing by Infecting: Two-Strain Competition During the Acute Phase of Chagas Disease. In BIO-MAT 2011 International Symp. on Mathematical and Comp. Biology. Ed. R. Mondaini, World Scientific co (2011). Proceedings 11th International Symposium on Mathematical and Computational Biology, Santiago de Chile, 05th - 10th November 2011.
- [95] J. Andersson, A. Örn and D. Sunnermark, *Immunol. Lett.* **86**, 207 (2003).
- [96] S.P. Vega-Royero and G.J. Sibona, *J. Theor. Biol.* **340**, 23 (2014).
- [97] S.P. Vega-Royero, G.J. Sibona, S. Castaño and C.A. Condat *enviado a Journal of Biological Systems*, (2014).
- [98] B. Basso, private communication.

- [99] J.E. Cohen and R.E. Gürtler, *Science* **293**, 694 (2001).
- [100] R.E. Gürtler *et al.*, *J. Appl. Ecol.* **34**, 699 (1997).
- [101] P.E. Machado *et al.*, *Int. J. Parasitol.* **31**, 631 (2001).
- [102] G.A. Vallejo *et al.*, *Infec. Gen. Evol.* **3**, 39 (2003).
- [103] R.A. Goldsby, T.J. Kindt, B.A. Osborne y J. Kuby. *Inmunología*, 5a. ed., (Mc Graw-Hill Interamericana, San Nicolas Toletino, Mexico, 2004).
- [104] J.R. Regueiro, C. Lopez-Larrea, S. González-Rodríguez y E. Martínez-Noves. *Inmunología: Biología y Patología del Sistema Inmunitario*, 4a. ed., (Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina, 2010).
- [105] I.M. Roitt y P.J. Delves. *Inmunología: Fundamentos*, 10a. ed., (Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina, 2003).
- [106] R.L Tarleton, *J. Immunology.* **144**, 717 (1990).
- [107] R.L. Tarleton, M.J. Grusby, M. Postan, L.H. Glimcher, *Int. Immunol.* **8**, 13 (1996).
- [108] M.E. Rottenberg, M. Bakhiet, T. Olsson, K. Kristensson, T. Mak, H. Wigzell, and A. Orn, *Infect. Immun.* **61**, 5129 (1993).
- [109] M.E. Rottenberg, A. Riarte, L. Sporrang, J. Altchek, P. Petray, A. M. Ruiz, H. Wigzell, and A. Orn, *Immunol. Lett.* **45**, 53 (1995).
- [110] D.L. Martin *et al.*, *PLOS Pathog.* **2(8)**, e77 (2006).
- [111] H. P. Low, M. A.M. Santos, B. Wigzell and R. L. Tarleton, *J. Immunol.*, **160** 1817 (1998).
- [112] Y. Miyahira, S. Kobayashi, T. Takeuchi, T. Kamiyama, T. Nara, J. Nakahima-Shimada and T. Aoki, *Int. Immunology*, **11(2)**, 133 (1999).
- [113] M.N. Sato, E.H. Yamashiro-Kanashiro, M.M. Tanji, R. Kaneno, M.L. Higuchi, and A.J.S. Duarte, *Infection and Immunity*, **60**, 1024 (1992).
- [114] S.P. Vega-Royero and G.J. Sibona, *Mathematical Modeling of the Interaction Parasite-Host During the Acute Phase of Chagas Disease*, en preparación.
- [115] C.P. Knubel, F.F. Martínez, E.V. Acosta Rodríguez, A. Altamirano, H.W. Rivarola, C. Díaz Luján, R.E. Fretes, *et al*, *PLoS One*, **6(10)** e26550 (2011).