

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, NATURALES Y AMBIENTALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

CARRERA DE MICROBIOLOGÍA

PLAN DE MONOGRAFÍA

Nombre del estudiante: Michael Silva

Nombre del tutor de la monografía: Jaime Costales C., PhD.

Título de la monografía: Vías asociadas a la muerte celular programada en *Trypanosoma cruzi*: estrés oxidativo, permeabilización de membrana, condensación de la cromatina y reducción del potencial mitocondrial (ATP)

Área en la que se inscribe la investigación: Parasitología

Quito, 2026

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Monografía de Microbiología del Sr. Michael Alejandro Silva Buenaño ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto; puede ser presentada para la calificación correspondiente.



Jaime Costales Cordero, PhD

DIRECTOR DE LA DISERTACIÓN

Quito, 12 de junio del 2026

DEDICATORIA

Agradezco en primer lugar a Dios, por guiarme en cada paso de mi vida y por brindarme la sabiduría y la perseverancia necesarias para culminar esta etapa académica.

A toda mi familia y a mis amigos, por su apoyo constante, cariño, confianza y compañía a lo largo de este camino.

A mi padre Ángel Silva, por su cariño incondicional, esfuerzo y sacrificio, y porque gracias a su apoyo pude acceder a la educación universitaria y culminar con éxito esta importante meta.

A mi madre Lourdes Buenaño, por ser ejemplo de valores, fe y fortaleza espiritual, así como por su amor y acompañamiento permanente.

A mi tutor Jaime Costales Cordero, por su guía brindada en todo el proceso de la monografía, sus valiosos conocimientos y por ser un referente de excelencia y dedicación en mi formación académica.

Al Centro de Investigación para la Salud en América Latina (CISeAL) y, de manera muy especial, al Laboratorio de Chagas, por haberme acogido con tanto cariño, por abrirme sus puertas y por brindarme valiosas oportunidades de aprendizaje, orientación y un apoyo fundamental durante toda mi formación académica.

Finalmente, agradezco a los profesores de la carrera de Microbiología y a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, por los conocimientos brindados, experiencias, espacios y oportunidades que contribuyeron a mi formación tanto académica y personal.

TABLA DE CONTENIDOS

1. RESUMEN:	1
2. ABSTRACT:	2
3. INTRODUCCIÓN:	3
4. OBJETIVOS:	6
4.1. OBJETIVO GENERAL:	6
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	6
5. DESARROLLO TEÓRICO	7
5.1. ENFERMEDAD DE CHAGAS O TRIPANOSOMIASIS AMERICANA	7
5.2. CICLO DE VIDA DE <i>TRYPANOSOMA CRUZI</i> Y SU ADAPTACIÓN A CONDICIONES DE ESTRÉS CELULAR Y AMBIENTAL	11
5.3. TRATAMIENTOS ANTICHAGÁSICOS TRADICIONALES EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS	13
5.4. MECANISMOS DE MUERTE CELULAR Y MUERTE CELULAR PROGRAMADA EN <i>T. CRUZI</i>	16
5.4.1. Muerte celular:	16
5.4.2. Muerte celular programada (PCD):	17
5.4.3. Apoptosis o muerte celular tipo I:	17
5.4.4. Autofagia o muerte celular tipo II:	20
5.4.5. Muerte celular no programada	21
5.4.5.1. Necrosis y Oncosis	21
5.4.6. Muerte celular regulada:	22
5.4.6.1. Ferroptosis:	22
5.4.6.2. Necroptosis:	22
5.4.7. Mecanismos de muerte celular programada en <i>T. cruzi</i> :	23
5.4.7.1. Permeabilización de la membrana:	24
5.4.7.2. Estrés oxidativo:	25
5.4.7.3. Reducción del potencial mitocondrial:	26
5.5. ESTRATEGIAS TERAPEÚTICAS BASADAS EN LA CONDENSACIÓN DE LA CROMATINA COMO ELEMENTO DIANA EN LA APOPTOSIS DE <i>TRYPANOSOMA CRUZI</i> 27	
6. Conclusiones:	29

7. Referencias Bibliográficas:	30
--------------------------------------	----

1. RESUMEN

La enfermedad de Chagas (EC) o tripanosomiasis americana es una infección causada por el parásito intracelular obligado *Trypanosoma cruzi* y transmitida por insectos hematófagos a través de su picadura y posterior deposición de heces. Es considerada como una enfermedad tropical desatendida por la Organización Mundial de la Salud, ya que aproximadamente 7 millones de personas están infectadas con el parásito. Su prevalencia está asociada a pueblos rurales que viven en condiciones de pobreza y pobreza extrema. La EC presenta dos fases clínicas: la fase aguda caracteriza por parasitemia elevada y durar semanas a meses y la fase crónica, caracterizada por ser asintomática y durar meses hasta años. El ciclo de vida de *T. cruzi* se caracteriza por tener diferentes estadios que incluyen epimastigotes, tripomastigotes metacíclicos, amastigotes tripomastigotes infecciosos. Los medicamentos aprobados son el benznidazol (BNZ) y el nifurtimox (NFX), sin embargo, presentan limitaciones tales como elevada toxicidad, efectos secundarios, tiempo de administración prolongado, resistencia por *T. cruzi*, por ello, se necesitan buscar estrategias terapéuticas basadas en la muerte celular de *T. cruzi*, por lo tanto el objetivo del estudio fue evaluar potenciales dianas terapéuticas basadas en los mecanismos de muerte celular en *T. cruzi* con especial énfasis en la condensación de la cromatina. Como conclusión del trabajo, la condensación de la cromatina representa una potencial diana terapéutica ya que está estrechamente relacionada con los eventos de muerte celular similar a la apoptosis, este mecanismo no ha sido considerado como una potencial diana ya que está asociado a la fase tardía de la muerte celular tipo apoptosis; sin embargo, la cromatina y sus componentes celulares asociados a su condensación pueden ser potenciales dianas terapéuticas de baja toxicidad en humanos para un tratamiento eficaz de la enfermedad de Chagas.

Palabras clave: Condensación de cromatina, muerte celular, muerte celular programada, similar a la apoptosis, *Trypanosoma cruzi*

2. ABSTRACT

Chagas disease (CD), also known as American trypanosomiasis, is an infection caused by the obligate intracellular parasite *Trypanosoma cruzi* and transmitted by blood-feeding insects through their bites and subsequent feces. It is classified as a neglected tropical disease by the World Health Organization, as approximately 7 million people are infected with the parasite. Its prevalence is associated with rural populations living in conditions of poverty and extreme poverty. CD has two clinical phases: the acute phase, characterized by high parasitemia and lasting weeks to months, and the chronic phase, characterized by being asymptomatic and lasting months to years. The life cycle of *T. cruzi* is characterized by different stages, including epimastigotes, metacyclic tripomastigotes, and infectious tripomastigotes. The approved drugs are benznidazole (BNZ) and nifurtimox (NFX); however, they have limitations such as high toxicity, side effects, prolonged treatment duration, and resistance by *T. cruzi*; therefore, therapeutic strategies based on *T. cruzi* cell death must be sought. Consequently, the objective of this study was to evaluate potential therapeutic targets based on *T. cruzi* cell death mechanisms, with a special emphasis on chromatin condensation. In conclusion, chromatin condensation represents a potential therapeutic target, as it is closely related to apoptosis-like cell death events; however, this mechanism has not been considered a potential target because it is associated with the late phase of apoptosis-like cell death; however, chromatin and its cellular components associated with its condensation may be potential therapeutic targets with low toxicity in humans for the effective treatment of Chagas disease.

Keywords: Apoptosis-like, cell death, chromatin condensation, programmed cell death, *Trypanosoma cruzi*

3. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas (EC) o tripanosomiasis americana, es una infección causada por el parásito protozoo hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* y transmitida por triatomíneos hematófagos (Ribeiro et al., 2020a). Está clasificada como una enfermedad tropical desatendida (NTD, por sus siglas en inglés) por la Organización Mundial de la Salud (OMS), y se estima que al menos 7 millones de personas se encuentran infectadas con el *T. cruzi* (World Health Organization, 2025). Se calcula que 10,000 personas al año se contagian de EC, la cual produce un elevado índice de morbilidad y mortalidad comparado con otras enfermedades parasitarias (Pedra-Rezende et al., 2022). La EC es especialmente prevalente en poblaciones que viven en condiciones de pobreza y pobreza extrema y es altamente prevalente en países en vías de desarrollo, donde la infección suele ocurrir sin que las personas tengan conciencia de las graves consecuencias a largo plazo para su salud (Skryabina et al., 2025).

La EC tiene dos fases clínicas: la fase aguda, caracterizada por una parasitemia elevada y la fase crónica, que puede ser sintomática o asintomática (Menna-Barreto, 2019a). La miocardiopatía crónica representa una de las formas clínicas más debilitantes de la enfermedad, y ocurre en aproximadamente un tercio de las personas infectadas, provocando severos síntomas asociados a arritmias, insuficiencia cardíaca, tromboembolia, e inclusive muerte súbita. Como vectores, conocidos como triatomíneos, y un hospedador mamífero (incluyendo al ser humano) (Martín-Escolano et al., 2022a). El parásito, en la forma de epimastigote, se adhiere al intestino medio del triatomo, donde se multiplica. A continuación, el parásito migra al intestino posterior del vector, donde se diferencia en tripomastigote metacíclico, forma que tiene capacidad de infectar hospederos mamíferos (Menna-Barreto, 2019a).

Cuando los triatominos se alimentan de sangre de mamífero, depositan heces que contienen tripomastigotes metacíclicos, mismos que infectan la herida de la picadura, otras heridas en la piel o las membranas mucosas. Los tripomastigotes metacíclicos invaden células nucleadas en el hospedero, inician el proceso de diferenciación a amastigotes y establecen infección intracelular en el citoplasma (Martín-Escolano et al., 2022b). Intracelularmente, los amastigotes se replican repetidamente para posteriormente diferenciarse en tripomastigotes y egresar de la célula hospedadora al torrente sanguíneo. Desde allí, pueden infectar nuevas células en el hospedador mamífero o infectar triatominos que se alimentan de su sangre (Sueth-Santiago et al., 2017).

Los tratamientos disponibles para la EC consisten únicamente en dos medicamentos nitroheterocíclicos: el benznidazol y nifurtimox. El primero, es un nitroimidazol que genera estrés oxidativo en el parásito, mediante reducción del grupo nitro (NO₂) del fármaco a grupo amino (NH₂) por la acción de enzimas nitroreductasas del parásito, que causan acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y metabolitos electrófilos que pueden provocar muerte celular (Rajão et al., 2014). Por otro lado, el nifurtimox es un nitrofurano que interactúa especialmente con enzimas parasitarias llamadas nitroreductasas (tipo II), que le transfieren electrones, convirtiéndolo en un radical nitroanión altamente reactivo. Este proceso genera ROS, que causan muerte celular en el parásito (Gomes et al., 2023).

El estudio de los mecanismos asociados a la muerte celular programada en *T. cruzi*, puede potencialmente proporcionar opciones para la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas y nuevos posibles blancos que lleven a la muerte del parásito. La literatura científica indica que la muerte celular del parásito no se describe estrictamente como un evento de muerte celular programada (PCD, por sus siglas en inglés); en su lugar, se describe frecuentemente a un fenómeno de muerte celular “similar a la apoptosis” (apoptosis-like, en inglés), el cual se asocia a la regulación en el ciclo de vida de *T. cruzi* (Menna-Barreto & de Castro, 2015). Por lo tanto, la muerte celular del parásito constituye un proceso biológico de

culminación del metabolismo celular, asociado a cambios morfológicos, físicos y químicos, que puede darse de forma controlada o no controlada (Menna-Barreto, 2019a). La PCD es una vía metabólica esencial, que actúa como una cascada de eventos controlados que culminan en un colapso de todos los procesos metabólicos celulares (Pandey et al., 2018).

La apoptosis es un proceso asociado a la PCD, que puede ser iniciada por distintos eventos, tales como formación de cuerpos apoptóticos, formación de poros en la membrana celular, fragmentación del ADN, reducción del potencial mitocondrial y condensación de la cromatina (Reece et al., 2011). Por otra parte, la necrosis se define como un proceso no controlado de muerte celular asociada a factores externos como infecciones provocadas por agentes infecciosos y lesiones (Pandey et al., 2018).

La apoptosis se inicia mediante dos vías, la vía extrínseca caracterizada por la unión de proteínas de superficie y sus ligandos homólogos de muerte y activación de caspasas iniciadoras y efectoras y la vía intrínseca o vía asociada a la mitocondria ocurre por proteínas pertenecientes al citocromo C es liberado de las mitocondrias, lo que conlleva a la activación de proteasas dependientes de cisteína y dirigidas por aspartato o comúnmente conocidas como caspasas (caspasa-2, caspasa--3, caspasa--6, caspasa--7, caspasa-8 y caspasa--9) y los apoptosomas (McIlwain et al., 2013). Si bien no existen caspasas propiamente dichas en *T. cruzi*, la apoptosis en este parásito ocasiona cambios morfológicos, citoplasmáticos y nucleares, así como la fragmentación del ADN y migración de la cromatina a la membrana celular (Ribeiro et al., 2020a).

La información disponible en la actualidad sobre los mecanismos que conllevan a la muerte celular programada en *T. cruzi* se centran en estrés oxidativo (producción de ROS), permeabilización de la membrana celular y reducción del potencial mitocondrial (ATP). Por otra parte, las vías apoptóticas relacionadas a la cromatina han sido menos exploradas. La cromatina del parásito intracelular consta de una estructura nucleosómica típica que contiene

octámeros de histonas cada 146 pb de ADN (Moretti & Schenkman, 2013), la estructura de la cromatina influye en la expresión génica y es controlada por cambios a nivel transcripcional por factores epigenéticos como las histonas, enzimas modificadoras y las bases nitrogenadas modificadas, además influye en la replicación del ADN, la segregación cromosómica y la progresión del ciclo celular (Reece et al., 2011).

Por consiguiente, el presente trabajo de revisión bibliográfica se concentrará en los mecanismos asociados a la PCD en *T. cruzi*, con especial énfasis en la condensación de la cromatina, como indicador crítico asociado a la apoptosis. De esta manera, el estudio pretende dilucidar posibles estrategias innovadoras y poco estudiadas en el diseño estratégico de dianas terapéuticas que induzcan la muerte en el parásito y un tratamiento efectivo de la enfermedad de Chagas.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL:

Evaluar los mecanismos asociados a la muerte celular programada en el parásito

T. cruzi, mediante revisión de literatura científica.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Recopilar información bibliográfica asociada a mecanismos de muerte celular programada, con mayor énfasis en la condensación de la cromatina y fragmentación del ADN como marcadores apoptóticos clave
- Identificar los factores de inducción extracelular y señalización intracelular menos reportados que desencadenan la muerte celular programada de *T. cruzi*
- Determinar posibles puntos diana de parásito asociado a su muerte celular programada con fines terapéuticos clave basado en bibliografía científica

5. DESARROLLO TEÓRICO

5.1. ENFERMEDAD DE CHAGAS O TRIPANOSOMIASIS AMERICANA

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas (EC), es una enfermedad parasitaria causada por el parásito protozoo hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. Su nombre análogo se debe al descubrimiento de la enfermedad en el estado de Minas Gerais en Brasil, por parte del médico y científico brasileño Carlos Chagas en 1908, quien pudo dilucidar y consolidar todos los parámetros de una enfermedad infecciosa (agente etiológico, vector, modo de transmisión, huéspedes implicados y sus manifestaciones clínicas) (Sueth-Santiago et al., 2017). Carlos Chagas diseccionó a chinches triatominos y descubrió que, en sus intestinos, albergaban una gran cantidad de protozoos flagelados. Chagas aludió a este nuevo avance, el nombre de *T. cruzi* en honor a su mentor y amigo, el médico y bacteriólogo brasileño Oswaldo Cruz (Steverding, 2014). Chagas determinó que el vector de la enfermedad estaba asociado a la picadura de triatominos de la región, específicamente insectos hematófagos del género *Triatoma* spp. (mayormente involucrado *Triatoma infestans*), *Rhodnius* spp. (*Rhodnius prolixus*) y *Panstrongylus* spp. (*Panstrongylus megistus*), principales vectores de la transmisión de la enfermedad, conocidos vulgarmente como “vinchucas” en países del cono sur de América latina y “barbeiros” en Brasil (Sueth-Santiago et al., 2017).

Los chinches triatominos (orden Hemiptera, familia Reduviidae, subfamilia Triatominae) constituyen un grupo de aproximadamente 140 especies, caracterizadas por habitar en copas de palmeras, troncos huecos de árboles, madrigueras, rocas y otros refugios naturales, donde mantienen una estrecha relación con sus hospedadores debido a su condición de hematófagos obligados, generalmente de mamíferos terrestres y arborícolas (Lazzari et al., 2013). No obstante, la deforestación y la pérdida de los ecosistemas de sus hospedadores, ocasionadas por actividades humanas con fines agrícolas y ganaderos, han

provocado la migración de estas especies hacia zonas pobladas y urbanizadas en busca de alimento ((Altamiranda-Saavedra et al., 2024). En este contexto, los chinches triatominos actúan como vectores en la transmisión y diseminación de *T. cruzi* hacia los asentamientos humanos, ya que suelen habitar en las grietas y hendiduras de viviendas rurales construidas, generalmente, con adobe, las cuales le sirven de refugio y permiten su proliferación. Esta situación incrementa el riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas de forma silenciosa, debido al escaso o nulo conocimiento de las personas sobre su presencia y posterior transmisión. Por lo tanto, esta enfermedad es considerada silenciosa, invisible y potencialmente mortal, afectando principalmente a comunidades en condiciones de pobreza y extrema pobreza (Skryabina et al., 2025).

Chagas asoció la transmisión de la enfermedad con la picadura de dichos insectos en zonas expuestas del rostro, especialmente a la altura de los labios y ojos, donde evidenció y reportó una mayor frecuencia en personas pertenecientes a zonas rurales empobrecidas. Chagas asoció estos casos a un sistema de jerarquización social marcada por la desigualdad en la infraestructura y condiciones de vida que facilitaban la transmisión de la enfermedad infecciosa (Martín-Escolano et al., 2020). Además, resaltó que la tripanosomiasis americana debe ser anali(Martín-Escolano et al., 2020). Además, resaltó que la tripanosomiasis americana debe ser analizada desde diferentes aspectos globales, englobando temas de carácter biológico, cultural, social, de salud pública, con el objetivo de visibilizar las enfermedades infecciosas desatendidas y llevar a cabo estrategias terapéuticas clave que sean eficaces en el tratamiento de la enfermedad (Skryabina et al., 2025).

T. cruzi se transmite principalmente por la picadura de un triatomino infectado y la deposición de sus heces en un área circulante a la herida, ocasionando que la persona se rasque de forma reiterada por la picazón ocasionada por la picadura, permitiendo que el ingreso del parásito al torrente sanguíneo dando lugar a la infección (Menna-Barreto & de Castro, 2015). Además, existen diversas vías de transmisión relevantes como la transfusión

de sangre y órganos, la transmisión congénita por medio de la placenta y lactancia materna y en menor medida por la ingesta de alimentos o bebidas contaminados con parásitos y posibles accidentes dentro de un laboratorio (Martín-Escolano et al., 2020).

La enfermedad de Chagas es considerada como una enfermedad tropical desatendida (NTD, por sus siglas en inglés) por la Organización Mundial de la Salud (OMS), que afirma que alrededor de 7 millones de personas están infectadas con *T. cruzi*, provocando alrededor de más de 10 000 muertes anualmente, y más de 100 millones de personas se encuentran en un posible riesgo de infección (World Health Organization, 2025). La distribución global se concentra principalmente en el continente americano, partiendo de diversas zonas endémicas pertenecientes a 21 países, en su mayoría de América Latina (Kourbeli et al., 2021). No obstante, la enfermedad se ha extendido a regiones no endémicas ocasionado por flujos migratorios asociados a la globalización, registrándose brotes en países como Canadá, Estados Unidos, Japón, así como en diversas naciones de Europa y Oceanía (Skryabina et al., 2025b).

La infección por *T. cruzi* se caracteriza por presentar dos fases clínicas, la fase aguda y la fase crónica. La primera fase usualmente es asintomática o presentar molestias leves, con una duración aproximada de 4 a 8 semanas. Entre los síntomas frecuentemente reportados son fiebre, malestar general, linfadenopatía y hepatoesplenomegalia (Ribeiro et al., 2020b). De igual manera, algunos pacientes pueden presentar lesiones cutáneas inflamatorias en forma de nódulos rojos e indurados en el sitio de la picadura conocidas como “chagomas”, así como edemas palpebrales de tonos violáceos denominadas como “signo de Romaña” (Skryabina et al., 2025b). Durante esta fase, pueden manifestarse manifestaciones más graves como el desarrollo de miocarditis y meningoencefalitis. En la mayoría de los casos, los síntomas desaparecen espontáneamente durante semanas o meses, sin embargo; si la infección persiste, entra en la fase crónica, en la cual la parasitemia se vuelve indetectable debido a la diseminación masiva de parásitos desde el sitio de la picadura hacia

los tejidos del paciente. En esta fase puede durar años e incluso décadas (Medina-Rincón et al., 2021).

La fase crónica comprende cuatro formas clínicas bien descritas, que incluyen la forma asintomática, caracterizada por representar el 70% de casos de personas infectadas, quienes no muestran signos ni síntomas visibles y la parasitemia es muy baja. En el 30% restante de pacientes, presenta sintomatología asociada a las formas cardíacas, digestivas y cardiodigestivas, que suelen aparecer entre los 10 a 30 años posteriores a la infección (de la Rosa et al., 2018). La forma cardíaca comprende la manifestación más grave y potencialmente letal denominada como miocardiopatía crónica, considerada como de las manifestaciones clínicas más debilitantes de la enfermedad, ya que posee un amplio cuadro clínico que incluye arritmias cardíacas, insuficiencia cardíaca, accidentes cerebrovasculares, tromboembolias y puede llegar a ocasionar muerte súbita cardíaca (Medina-Rincón et al., 2021).

La forma digestiva se presenta comúnmente como alteraciones gastrointestinales. El megaesófago es una condición que ocurre cuando el esfínter esofágico interno no se relaja adecuadamente, dificultando el paso de los alimentos al estómago, como consecuencia el esófago pierde la capacidad de movilizar correctamente al alimento contrayéndose y desencadenando complicaciones digestivas asociadas a la enfermedad (Sueth-Santiago et al., 2017b). Por otro lado, el colon se ve afectado desarrollando la patología conocida como megacolon chagásico, definido como un ensanchamiento irreversible de los segmentos del colon, especialmente del recto, el colon sigmoide y el colon descendente (Hugo García Orozco et al., 2022). También pueden verse afectados otros componentes del sistema digestivo como las glándulas salivales, estómago, intestino delgado, vesícula y árbol biliares (Matsuda et al., 2009).

5.2. CICLO DE VIDA DE *TRYPANOSOMA CRUZI* Y SU ADAPTACIÓN A CONDICIONES DE ESTRÉS CELULAR Y AMBIENTAL

T. cruzi es un microorganismo eucariota altamente adaptable ante condiciones de estrés celular y ambiental, pertenece al grupo de los cinetoplástidos, es decir protozoos flagelados que se caracterizan por poseer una masa de ADN conocido con el nombre de cinetoplasto., Ssu ciclo de vida comprende etapas complejas y específicas en torno a sus huéspedes, los insectos triatominos y mamíferos vertebrados terrestres y arborícolas. *T. cruzi* posee cuatro estadios bien diferenciados morfológicamente que son: epimastigotes, tripomastigotes metacíclicos, amastigotes y tripomastigotes sanguíneos (De Souza et al., 2010). Su ciclo comienza cuando un triatomino no infectado succiona la sangre de un individuo previamente infectado y presenta tripomastigotes sanguíneos circundantes. Una vez digeridos por el insecto, la mayoría de tripomastigotes son lisados en el estómago; sin embargo, como un mecanismo de supervivencia, los tripomastigotes restantes migran hacia el inicio del tracto gastrointestinal de insecto donde se convierten en epimastigotes mediante un proceso denominado epimastigogénesis (Sana et al., 2025). El tracto gastrointestinal del insecto triatomino se divide en cuatro zonas especificadas: intestino anterior, intestino medio, intestino medio posterior, e intestino posterior o cloaca del insecto (Navarro A et al., 2012).

La epimastigogénesis es un fenómeno que ocurre naturalmente en el intestino medio del triatomino, ocasionado por la diferencia de temperatura corporal entre el insecto y el mamífero (Sana, Rossi, Sabatke, et al., 2025). Durante esta etapa, el parásito experimenta una importante reestructuración morfológica a nivel celular, que incluye modificaciones en el cuerpo celular, cambios en la posición del cinetoplasto y alteraciones del flagelo en torno al núcleo (Sana et al., 2025). Los epimastigotes se replican en del intestino medio posterior y posteriormente migran a la región posterior del intestino medio para iniciar el proceso de diferenciación denominada metaciclogénesis (Ferreira et al., 2024). Durante este fenómeno, los epimastigotes pasan de ser formas replicativas no infecciosas para convertirse en

tripomastigotes metacíclicos, formas infecciosas no replicativas responsables de la infección y desarrollo de la enfermedad. Este proceso ocurre por la adherencia del flagelo del epimastigote al tejido epitelial del recto del insecto (Navarro A et al., 2012).

Durante la diferenciación, el epimastigote experimenta cambios estructurales a nivel celular, entre los que se incluyen una elongación del cuerpo celular, reorganización de la cromatina, desplazamiento del cinetoplasto y modificaciones en el flagelo (Ferreira et al., 2024). De igual manera, las condiciones de estrés ambiental y diversos factores celulares actúan como inductores clave en este proceso, destacándose el tipo de especie del insecto triatomino, el pH, temperatura, disponibilidad de nutrientes, estrés oxidativo, potencial redox, entre otros (Sana, Rossi, & Ramirez, 2025). El ciclo de vida continua cuando el insecto triatomino infectado se alimenta de sangre de un mamífero vertebrado y defeca u orina en el área circundante a la picadura, sus heces contienen tripomastigotes metacíclicos que ingresan a la mucosa lesionada al torrente sanguíneo del huésped, donde comienzan a diseminarse por los tejidos circundantes (Zingales & Bartholomeu, 2021). Los tripomastigotes carecen de capacidad replicativa, inicialmente infectan células nucleadas de diferentes tejidos y, posteriormente, células inmunitarias del hospedador, donde continúan su proceso de invasión y supervivencia intracelular (Cardoso et al., 2016).

Los mecanismos de invasión por parte de los tripomastigotes hacia las células huésped se fundamentan en cuatro procesos ampliamente estudiados: el reconocimiento y adhesión de la célula huésped, la internalización del parásito, la maduración de la vacuola parasitófora y el escape hacia el citosol (Ferri & Edreira, 2021). Para lograrlo, los tripomastigotes manipulan distintas vías de señalización celular para ingresar a la membrana citoplasmática de las células huésped, con el propósito de escapar del citoplasma externo y evitar ser fagocitados por células inmunitarias. Entre los mecanismos de internalización del parásito destaca la presencia de la proteína GP82, anclada a la superficie de los tripomastigotes metacíclicos, esta proteína interactúa con los receptores en las células

hospederas y desencadena la activación de IP3 (inositol trifosfato), molécula involucrada en la vía de señalización y producción intracelular de Ca^{+2} (Cardoso et al., 2016). El aumento de este ión induce la movilización de los lisosomas hacia el sitio de invasión, donde se fusionan con la membrana celular y forman vacuolas parasitólogas con propiedades lisosomales, estas características mencionadas son imprescindibles ya que favorecen la estabilidad de la vacuola y permiten retener la retención efectiva de los tripomastigotes, facilitando una invasión exitosa hacia el citosol de la célula (Ferri & Edreira, 2021).

Posteriormente, la acidificación lisosomal de la vacuola activa proteínas líticas dependientes de un pH ácido, permitiendo que el parásito inicie su diferenciación a amastigotes y escape hacia el citosol (Andrade & Andrews, 2004). Los amastigotes son formas altamente replicativas y resistentes a condiciones de estrés nutricional, donde se replican por fisión binaria en el interior de la célula (Peña-Callejas et al., 2022). Tras replicarse en reiteradas ocasiones, los parásitos se replican en forma de tripomastigotes sanguíneos o derivados de células, los cuales destruyen la membrana celular y se dispersan por el entorno extracelular, alcanzando otros tejidos circundantes o desplazándose por el torrente sanguíneo (Martín-Escolano et al., 2022a). Finalmente, estos tripomastigotes pueden ser ingeridos por insectos triatominos no infectados, reiniciando así el ciclo de infección.

5.3. TRATAMIENTOS ANTICHAGÁSICOS TRADICIONALES EN EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

El tratamiento parasitológico para la enfermedad de Chagas se basa en el uso del benznidazol (BZN) y el nifurtimox (NFX), fármacos nitro heterocíclicos establecidos desde las décadas de 1960-1970. Los compuestos nitro heterocíclicos poseen un grupo nitro unido a un anillo aromático, estos medicamentos son considerados profármacos, que son reducidos enzimáticamente y convertidos en metabolitos altamente reactivos y radicales libres, capaces de inducir daño oxidativo en el parásito hasta provocar su muerte celular. Su activación es mediada por enzimas propias del parásito, denominadas específicamente nitrorreductasas

(NTR, por sus siglas en inglés), enzimas comúnmente descritas en bacterias, pero escasamente reportadas en organismos eucariotas, fueron descritas por primera vez por Wilkinson y colaboradores en 2008 (Wilkinson et al., 2008).

Las NTR tripanosomales se clasifican en Tipo I y II en relación con el oxígeno. Las nitrorreductasas tipo I son proteínas de unión no covalente al mononucleótido de flavina (FMN, por sus siglas en inglés) empleado como cofactor en la reducción de dos electrones del grupo nitro para lugar a una reacción de oxido-reducción, son insensibles al oxígeno por lo tanto no producen especies reactivas de oxígeno (ROS), son condicionados al uso de la nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) y están ubicados en la mitocondria del parásito (Rosa et al., 2022). Por otro lado, las nitrorreductasas tipo II son proteínas ligadas a flavina adenina dinucleótido empleado como cofactor en la reducción de un electrón del grupo nitro generando un radical nitro inestable, además, son sensibles al oxígeno y producen ROS (Cirqueira et al., 2022).

El benznidazol (BZN) es una molécula derivada del 2-nitroimidazol cuyo nombre químico es N-bencil-2-(2-nitro-1H-imidazol-1-il) acetamida (Bermudez et al., 2016), conocido por su nombre comercial Abarax®. Aunque su mecanismo de acción aún no se comprende totalmente, se conoce que actúa como una prodroga cuya actividad tripanocida es mediada por la bioactivación de metabolitos altamente reactivos en el parásito (Hall et al., 2011). Este proceso ocurre mediante la acción de enzimas nitrorreductasas de tipo I tripanosomales de *T. cruzi*, las cuales catalizan la reducción enzimática por acción de FMN y NADH del parásito sobre el grupo nitro (-NO₂) del fármaco, para generar un intermediario metabólico nitroso, rápidamente reducido a un derivado de hidroxilamina, que posteriormente es transformado mediante reacciones no enzimáticas para generar metabolitos altamente reactivos y radicales libres, incluyéndose el glioxal (Losada Galván et al., 2021). Este metabolito es un dialdehído altamente reactivo, citotóxico y mutagénico que interfiere directamente en la síntesis de ADN, ARN, proteínas y otras moléculas esenciales para metabolismo del parásito. La generación

de estos metabolitos reactivos produce un efecto tripanocida rápido y localizado sobre las formas extra e intracelulares de *T. cruzi* (Müller Kratz et al., 2018). Además, inhibe el sistema antioxidante del parásito, incrementando una mayor susceptibilidad al estrés y daño oxidativo inducido por el medicamento (Losada Galván et al., 2021).

De igual manera, el nifurtimox, vendido comercialmente con el nombre de Lampit®, es una molécula derivada del nitrofurano cuya fórmula química es (RS)-N-(3-metil-1,1-dioxo-1,4-tiazinan-4-il)-1-(5-nitro-2-furil) metanimina, su mecanismo de acción en el caso de las nitrorreductasas de Tipo I se centra en la reducción del fármaco a un nitrilo insaturado de cadena abierta con actividad tripanocida (Hall et al., 2011). Este metabolito reactivo interactúa con biomoléculas esenciales del parásito, incluyendo ADN, ARN, proteínas y nucleótidos, alterando el funcionamiento de procesos celulares y comprometiendo a su viabilidad y supervivencia parasitaria (Rosa et al., 2022).

En respuesta al daño genético inducido por el fármaco, las células parasitarias poseen diversos mecanismos encargados de la reparación de ADN genómico eucariótico (Cirqueira et al., 2022). Entre ellos se encuentran la reparación de desajustes (MMR, por sus siglas en inglés), responsable de corregir bases incorporadas erróneamente durante la replicación; la reparación por escisión de nucleótidos (NER, por sus siglas en inglés), encargada de reconocer y eliminar lesiones que alteran la conformación estructural de la doble hélice del ADN; la reparación por escisión de bases (BER, por sus siglas en inglés) ruta celular encargada de la eliminación bases oxidadas metiladas o desaminadas mediante la acción de enzimas ADN glicosilasas; y los mecanismos de recombinación homóloga, que restauran rupturas en el ADN utilizando regiones homólogas a la cromatina hermana como molde de reparación (Hall et al., 2011). A pesar de la existencia de diversas rutas celulares asociadas a la reparación genómica, la capacidad de mantenimiento celular es limitada, por lo que pueden persistir lesiones genómicas que comprometen la integridad del genoma y desencadenar procesos de muerte celular en *T. cruzi*.

Actualmente, el tratamiento farmacológico antichagásico actual radica en el uso del nifurtimox y benznidazol, dos fármacos desarrollados hacen más de cincuenta décadas que presentan importantes limitaciones en el tratamiento eficaz del EC (De Rycker et al., 2023), presentan intervalos prolongados de administración, con una duración aproximada de 60 días, y su uso está contraindicado durante el embarazo por el posible riesgo de desarrollo de posibles alteraciones en el feto (Francisco et al., 2020). De igual manera, se estima que alrededor del 90% de pacientes tratados con estos fármacos han experimentado síntomas secundarios adversos asociados al desarrollo de patologías cutáneas, gastrointestinales y neurológicas (De Rycker et al., 2023). Aunque ambos fármacos muestren eficacia en la fase aguda de la enfermedad, su efectividad se ve reducida considerablemente en la fase crónica de la enfermedad. Adicionalmente, la diversidad y plasticidad genética de *T. cruzi* favorecen el apareamiento de cepas posiblemente resistentes a los tratamientos tradicionales, por ello surge la necesidad de desarrollar estrategias terapéuticas y potenciales dianas en la muerte celular del parásito.

5.4. MECANISMOS DE MUERTE CELULAR Y MUERTE CELULAR PROGRAMADA EN *T. CRUZI*

5.4.1. Muerte celular:

La muerte celular se define como la culminación y colapso irreversible de todas las funciones metabólicas esenciales que permiten el funcionamiento y supervivencia de las células procedentes de organismos vivos, incluyendo procesos como crecimiento, reproducción, adaptabilidad, capacidad de respuesta, etc. (Pandey et al., 2018). Este fenómeno es regulado por la activación de señales intracelulares y extracelulares que activan complejas cascadas moleculares, las cuales conducen finalmente a la muerte celular. Desde una perspectiva funcional, este fenómeno biológico ocurre de forma controlada y programada (PCD), incluyendo la apoptosis clásica y autofagia, o de manera no controlada que incluye el fenómeno de necrosis (Sandes et al., 2014).

En organismos multicelulares, la PCD constituye un mecanismo genético altamente regulado y conservado que desempeña un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis tisular (Kopeina et al., 2025). Su función principal es la eliminación de células innecesarias o superfluas, envejecidas, dañadas o potencialmente infectadas con el fin de garantizar el correcto desarrollo y funcionamiento de los tejidos celulares. Además, este proceso está involucrado en la regulación del sistema inmunitario y prevención de potenciales patologías asociadas a microorganismos que involucren posibles alteraciones en la proliferación y muerte celular (Tang et al., 2019).

5.4.2. Muerte celular programada (PCD):

La muerte celular programada constituye un mecanismo genético regulado y altamente conservado, desempeña un papel esencial en el mantenimiento de la homeostasis tisular, el desarrollo embrionario y la eliminación de células innecesarias o superfluas, envejecidas, dañadas o potencialmente infectadas (Mustafa et al., 2024). Este proceso permite mantener el equilibrio celular entre proliferación y muerte celular garantizando el correcto desarrollo y funcionamiento de los tejidos celulares (Kopeina et al., 2025). Los organismos modelo como *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster* y *Mus musculus* han sido organismos clave en el entendimiento de los mecanismos que desembocan a la muerte celular programada en el desarrollo de diversos organismos eucarióticos (Tang et al., 2019).

5.4.3. Apoptosis o muerte celular tipo I:

La apoptosis o muerte celular tipo I es un mecanismo de muerte celular programada ampliamente estudiada, su terminología proviene de las palabras en griego ἀπόπτωσις, cuyo significado se refiere a “caída” o “desprendimiento”, término ligado al proceso de muerte y decaimiento celular. Este proceso constituye una estrategia altamente regulada de eliminación de células dañadas o potencialmente infectadas sin desencadenar reacciones inflamatorias en tejidos circundantes (Qian et al., 2024). La apoptosis se desarrolla mediante

una serie de eventos controlados asociados a dos etapas específicas: En la primera etapa, la célula activa mecanismos de reparación del contenido celular afectado ocasionado por factores externos e internos; sin embargo, cuando las alteraciones superan la capacidad de reparación celular, se desencadena una compleja cascada molecular que conduce al desarrollo de cambios morfológicos y bioquímicos (Yuan & Ofengeim, 2024).

Entre estos eventos destacan la activación de endonucleasas encargadas de la degradación controlada del ADN, el colapso del citoesqueleto mediado por proteasas, el desmantelamiento y permeabilización de la membrana nuclear, pérdida del potencial mitocondrial por alteraciones en membranas mitocondriales, liberación de moléculas proapoptóticas al espacio intermembranario, así como la condensación y fragmentación de la cromatina (Qian et al., 2024). Estas modificaciones culminan en el desmantelamiento celular y constituyen marcadores moleculares en la identificación de apoptosis (Coria-Paredes et al., 2025). La iniciación de este proceso puede ser desencadenado a diversas señalizaciones extracelulares e intracelulares asociadas al estrés oxidativo, daño genético, entre otros. De igual manera, las células del sistema inmune regulan la apoptosis mediante la producción de señales capaces de inducir la eliminación de células dañadas y evitar la liberación de sus componentes celulares al entorno extracelular (Tang et al., 2019).

Este proceso altamente conservado puede activarse a través de dos vías principales, la vía intrínseca y la vía extrínseca, las cuales convergen en la activación de proteasas dependientes de cisteína o caspasas. Estas enzimas actúan como endoproteasas capaces de hidrolizar enlaces peptídicos específicos mediante la participación de residuos de cisteína presentes en su sitio catalítico y residuos de ácido aspártico localizados en sus sustratos proteicos (McIlwain et al., 2013). Las caspasas son sintetizadas inicialmente como precursores inactivos denominados procaspasas o zimógenos, cuya estructura está compuesta por un dominio amino-terminal, una subunidad catalítica mayor que contiene el sitio activo y una subunidad proteolítica menor que participa en la conformación funcional de

la enzima (Dho et al., 2025).

Las caspasas intervienen en la apoptosis mediante la activación por escisión encargados de la destrucción controlada de componentes celulares internos. Además de intervenir en la apoptosis, las caspasas intervienen en diversos procesos fisiológicos relacionados con el mantenimiento de la homeostasis celular. De acuerdo con su función dentro de la cascada apoptótica, se clasifican en caspasas iniciadoras (caspasas-2,-8,-9 y -10) activadas únicamente por dimerización en condiciones de estrés celular y eventos de señalización previa y caspasas efectoras (caspasas -3,-6 y 7) activadas por escisión de las caspasas iniciadoras y encargadas de la proteólisis de los sustratos celulares y posterior muerte celular (Fernández-Lázaro et al., 2024).

La apoptosis guiada por la vía extrínseca o vía de receptores de muerte, ocurre por la activación de los ligandos externos de muerte y su respectiva unión a los receptores específicos ubicados en la superficie de la célula, entre los mecanismos más ampliamente estudiados se encuentran el receptor del factor de necrosis tumoral y su ligando homólogo inductor de apoptosis relacionado con TNF (TRAIL), el receptor de muerte 3 (DR3) mediado por la activación de su ligando TL1A, y el receptor Fas conjunto a su ligando FasL, con el fin de entender este mecanismo apoptótico, radica la activación del receptor transmembranal Fas además, conocido como FasR u antígeno de apoptosis 1 (APO-1, por sus siglas en inglés), una proteína de membrana cuyo peso molecular consiste en 48 kDa, pertenece a la familia de receptores del factor de necrosis tumoral, estos receptores se expresan en la mayoría de células y tejidos, con especial énfasis en células T y macrófagos activados, mediada por la interacción con su ligando homólogo FasL, perteneciente a los ligandos de la familia del factor de necrosis tumoral y altamente expresada en linfocitos T y células asesinas naturales (NK, por sus siglas en inglés) (Hu et al., 2025).

Dicha unión provoca una trimerización que permite la formación del complejo

multiproteico de señalización inductor de muerte (DISC, por sus siglas en inglés) en el citoplasma de la célula, donde se une la molécula adaptadora de señalización al dominio de muerte asociada a Fas (FADD, por sus siglas en inglés), que permite el reclutamiento de moléculas proapoptóticas entre ellas las caspasas iniciadoras -8 y -10, que a su vez escinden a las caspasas efectoras -3,-6 y -7 para que sean activadas iniciando el proceso de la muerte celular programada (Mustafa et al., 2024). En cambio, la apoptosis mediada por la vía intrínseca o vía relacionada a la mitocondria, ocurre cuando las células son sometidas a procesos de estrés celular que incluyen radiación UV, falta de nutrientes, ausencia de oxígeno o hipoxia, degradación del ADN, desmantelamiento del citoesqueleto, etc. (Fernández-Lázaro et al., 2024). Estos factores desencadenan la perturbación de la membrana mitocondrial mediada por la formación de poros por las proteínas BaX y BaK, proteínas pertenecientes a la familia de proteínas Bcl-2, que conducen a la permeabilización de la membrana mitocondrial externa donde las proteínas asociadas al espacio intermembranario de la mitocondria en el citosol son liberadas al citoplasma para desencadenar esta ruta apoptótica, entre ellas se encuentra el citocromo C, proteína asociada a la cadena de transporte de electrones en el espacio intermembranario de la mitocondria, se une a la proteína activadora de procaspasas denominada factor activador de proteasas apoptóticas 1 (Apaf-1), esta unión permite el cambio estructural de Apaf1 y forma un apoptosoma, que trata acerca de un complejo multiproteico encargado del reclutamiento de moléculas proapoptóticas, en específico la activación de la caspasa 9 iniciadora cuya estructura está definida por un dominio de activación y un prodominio denominado dominio de reclutamiento de caspasas (CARD) que le sirve de anclaje al apoptosoma y facilita la interacción proteína a proteína con el CARD del factor Apaf-1, posteriormente esta caspasa recluta las caspasas efectoras -3,-6 y -7, las escinde y activa iniciando el fenómeno de apoptosis (Tang et al., 2019).

5.4.4. Autofagia o muerte celular tipo II:

La palabra autofagia proviene de las palabras en griego “auto” y “phagos” que significan “auto alimentarse”, es un mecanismo de muerte celular programada altamente

regulado que se caracteriza por el secuestro de los componentes celulares dañados o en estados anormales en vacuolas intracelulares de doble membrana denominadas vacuolas autofágicas que se fusionan con los lisosomas e inician el proceso de degradación a moléculas más simples, por ello, este proceso es asociado a la homeostasis y mantenimiento de la integridad celular con enfoque de inhibir el daño tisular de células anormales o dañadas, donde estos residuos son empleados para el mantenimiento de otras células o participar en otras rutas metabólicas esenciales de los tejidos celulares (Gong & Kim, 2014).

Este proceso inicia con formación y expansión de una membrana que secuestra a los componentes celulares dañados denominada fagóforo hasta formar el autofagosoma, luego se fusionan con lisosomas para formar autolisosomas, donde los componentes celulares son degradados y reciclados intracelularmente por enzimas hidrolíticas (Liu et al., 2023). La autofagia en *T. cruzi* está regulada por diversas moléculas inductoras, entre las cuales se incluyen inhibidores de proteínas quinasas como la estaurosporina, asociada a la inhibición serina/treonina quinasa; la genisteína, inhibidor de la tirosina quinasa y la wortmannina, inhibidor del fosfatidilinositol 3/quinasa (Brennand et al., 2012). Estas moléculas participan en la regulación de la autofagia favoreciendo la formación de autofagosomas y posterior fusión con lisosomas, asociados a la degradación y reciclaje de componentes celulares internos (Das et al., 2021).

5.4.5. Muerte celular no programada

5.4.5.1. Necrosis y Oncosis

La necrosis es un mecanismo de muerte celular no controlada o accidental inducida por exposición de factores externos de forma continua que incluyen hipoxia, daños y lesiones celulares, entre otros, resultando en la pérdida de la homeostasis interna perdiendo su integridad celular mediada por la ruptura de su membrana, que desencadena la liberación de sus componentes celulares hacia el exterior produciendo el daño tisular y el reclutamiento de células fagocíticas y otras moléculas asociadas al sistema inmune. En *T. cruzi*, la necrosis es

mediada por la alteración del potencial mitocondrial y permeabilización de membrana celular, aumento intracelular de ROS y la hinchazón de los reservosomas, organelos de almacenamiento de nutrientes asociados exclusivamente en epimastigotes.

La oncosis es un mecanismo de muerte celular accidental mediada a la exposición repentina de factores externos que incluyen la exposición a la radiación UV y sustancias químicas, hipoxia, entre otros, que resultan en un proceso de hinchazón en el interior de las células y orgánulos y un aumento de la permeabilidad de la membrana celular, mediado posiblemente por fallas en bombas iónicas y agotamiento de la producción de ATP, en este proceso no ocurre fragmentación del ADN (Kühn et al., 2004).

5.4.6. Muerte celular regulada:

5.4.6.1. Ferroptosis:

Es un mecanismo de muerte celular altamente regulada mediada por la acumulación y sobrecarga intracelular de moléculas de hierro específicamente iones ferrosos libres (Fe^{2+}), que producen directamente ROS mediante la reacción de Fenton y ocasionan peroxidación lipídica donde los sistema antioxidantes responsable de la degradación de ROS, entre ellos el sistema glutatión (GSH) y el sistema glutatión peroxidasa 4 (GPX4) sufren alteraciones influyendo en la acumulación desmedida de peróxidos lipídicos en el entorno celular, los peróxidos incluyen ácidos grasos poliinsaturados de cadena libre (AGPL) situados en fosfolípidos de membrana pueden incrementar la reacción hasta lograr la muerte celular por ferroptosis (Pawłowska et al., 2025). A nivel morfológico, el núcleo celular no presenta daños visibles, sin embargo, se observan daños en diversos orgánulos, principalmente las mitocondrias son orgánulos comúnmente asociados a sufrir alteraciones específicas en su estructura mitocondrial que incluyen aumento de la densidad de la membrana mitocondrial, contracción y disminución de crestas mitocondriales, entre otros (Chen et al., 2025).

5.4.6.2. Necroptosis:

Es un mecanismo de muerte celular altamente regulada similar a la necrosis que depende de la unión de las proteínas quinasas, específicamente la proteína quinasa tipo 1 de serina/treonina con su receptor RIPK1, cual permite que este proceso no esté ligado o sea independiente al mecanismo de acción de las caspasas, específicamente la caspasas -1, posteriormente este receptor interactúa con su receptor homólogo RIPK3 y forma un complejo de microfilamentos denominado “necrosoma” (Ju et al., 2022), el cual posteriormente activa y fosforila a la proteína pseudocinasa similar al dominio de la quinasa de linaje mixto (MLKL, por sus siglas en inglés), molécula efectora que forma oligómeros, transloca y permeabiliza la membrana celular, ocasionando una disrupción y muerte celular (Martinez-Osorio et al., 2023).

5.4.7. Mecanismos de muerte celular programada en *T. cruzi*:

La muerte celular programada en *T. cruzi* es un fenómeno que no se ha comprendido totalmente en comparación a mecanismos descritos en organismos multicelulares superiores. No obstante, numerosos estudios demuestran que la exposición del parásito a condiciones de estrés desencadena una serie de marcadores apoptóticos claves observados fenotípicamente en la muerte celular del parásito. Entre los principales marcadores asociados a muerte celular están son el estrés oxidativo mediado por la formación de vesículas apoptóticas y producción de radicales libres (ROS), permeabilización de la membrana celular y exposición a la fosfatidilserina, reducción del potencial mitocondrial, fragmentación del ADN cromosómico y condensación de la cromatina (Menna-Barreto, 2019b). La aparición y formación de estos marcadores apoptóticos ocurre cuando las células parasitarias son sometidas a condiciones de estrés celular externo comprometiendo a su homeostasis interna, entre los mecanismos causantes de una pérdida de viabilidad celular se encuentran la exposición a fármacos y otras moléculas químicas inhibitorias, choque térmico, entre otros (Bruchhaus et al., 2007).

Estos fenómenos fenotípicos aunque son similares a los mecanismos observados durante la muerte celular programada en células nucleadas de mamíferos, la ruta apoptótica en células de *T. cruzi* no puede considerarse como una vía homóloga a la apoptosis clásica debido a diferencias asociadas a la ausencia de ciertas moléculas encargadas del proceso de inducción/ejecución a nivel molecular de la PCD (Kaczanowski et al., 2011), careciendo de moléculas clave de la maquinaria apoptótica de mamíferos que incluyen presencia de metacaspasas o caspasas homologas, ausencia de receptores y ligandos homólogos de muerte como Fas y FasL, proteínas de la familia Bcl-2, necesaria para inferir que se trate de un proceso de apoptosis como tal, por lo tanto diversos autores concluyen y definen como eventos similares a la apoptosis (apoptosis-like) en la muerte celular de *T. cruzi* (Ouaissi, 2003).

5.4.7.1. Permeabilización de la membrana:

La membrana celular de *T. cruzi* constituye una estructura fundamental que permite el transporte de nutrientes, señalización celular ante situaciones de estrés ambiental, donde la membrana de los tripomastigotes se caracteriza por poseer una membrana lipídica enriquecida con proteínas y glicolípidos anclados a su superficie celular, que incluyen a gran medida las proteínas mucinas conjuntas a proteínas de superficie asociadas a mucinas (MASPs) ancladas a la molécula glicosilfosfatidilinositol (GIPLs), glicoinositolfosfolípidos (GIPL), glicoproteínas de superficie Gp85, antígenos de superficie pequeña del tripomastigote (TSSA, por sus siglas en inglés) y antígenos tipo ToIT, y menor medida esfingomielina, cardiolipina, ácido fosfatídico, fosfatidilinositol fosfato y fosfatidilinositol bifosfato, componentes asociados al proceso de la infectividad e internalización del parásito hacia la célula huésped (Mucci et al., 2017).

La organización de la membrana plasmática de *T. cruzi* presenta cierta asimetría en la bicapa fosfolípida mediada por la actividad de proteínas de transporte de fosfolípidos conformadas por flipasas, flopadas y mezcladoras o escramblasas, encargadas del

movimiento de los fosfolípidos entre membranas celulares, al ocurrir el fenómeno similar a la apoptosis, la producción excesiva de ROS desencadena alteraciones en estas moléculas, que consecuentemente producen permeabilidad de la membrana celular, en especial énfasis la fosfatidilserina ubicada en la membrana interna en dirección al citosol sufre una translocación que ocasiona su externalización hacia el entorno extracelular sirviendo de diana en la fagocitosis parasitaria por células de sistema inmune (Bustos et al., 2017). Este fenómeno está asociado a eventos tempranos de la apoptosis (Mucci et al., 2017). Este mecanismo puede ser identificado en laboratorio mediante la adición de la proteína Anexina V unido a una sonda fluorescente que interactúa con células apoptóticas que emiten fosfatidilserina en su superficie celular, este proceso es dependiente de iones de calcio que actúan como un puente molecular en la unión de la anexina V con la fosfatidilserina (DaMatta et al., 2007).

5.4.7.2. Estrés oxidativo:

El estrés oxidativo constituye uno de los principales mecanismos asociados a la muerte celular similar a la apoptosis de *T. cruzi*. Debido a su metabolismo aeróbico, el parásito produce subproductos tóxicos altamente reactivos derivados de la respiración mitocondrial, donde en óptimas condiciones, estas moléculas participan en la señalización celular, diferenciación y regulación metabólica; sin embargo, cuando su producción supera la capacidad antioxidante del parásito, ocasiona un desequilibrio redox que conduce al daño oxidativo de proteínas, lípidos de membrana y otros orgánulos intracelulares (Bustos et al., 2015). Además, durante la infección, *T. cruzi* se enfrenta al estrés oxidativo ocasionado por células fagocíticas del sistema inmune del hospedador, los cuales producen especies reactivas de oxígeno (ROS) y aniones superóxido (O_2^-) como mecanismos de inhibición parasitaria (Machado-Silva et al., 2016).

A diferencia de las células de mamífero, las células del parásito pueden tolerar estos subproductos de forma limitada ya que carecen de enzimas antioxidantes como catalasas y

glutación peroxidasas (GPx) dependientes de selenio, encargadas de la degradación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) (Pawłowska et al., 2024). No obstante, el parásito desarrolló mecanismos alternativos asociados a sistemas antioxidantes regulados y ampliamente estudiados con el fin de llegar a una homeostasis interna redox. Entre ellos, se encuentra el sistema basado en la tripanotiona, molécula exclusiva de los tripanosomátidos, que actúa en conjunto con las enzimas tripanotiona reductasa, triparedoxina y peroxidasas dependientes de triparedoxina que degradan inicialmente a los metabolitos reactivos, para que posteriormente los sistemas tiorredoxina/tiorredoxina reductasa ocasionen una reducción de las proteínas oxidadas y regulación de la homeostasis celular (Battista et al., 2020). La exposición a diversos agentes químicos induce la inhibición y alteración de los sistemas antioxidantes del parásito, ocasionando la masiva acumulación intracelular de ROS e inicio de la activación de cascadas moleculares complejas asociados a la muerte celular similar a la apoptosis (Pawłowska et al., 2024).

5.4.7.3. Reducción del potencial mitocondrial:

La reducción del potencial mitocondrial ($\Delta\psi_m$) constituye uno de los eventos más relevantes y exhaustivamente estudiados asociado a la muerte celular similar a la apoptosis. *T. cruzi* se caracteriza por albergar una única mitocondria ramificada asociada al cinetoplasto, estructural celular de albergue del ADN mitocondrial del parásito (Pedra-Rezende et al., 2022). Además, el estado del potencial de la membrana mitocondrial se asocia al estado fisiológico de la célula, mediado por el metabolismo energético y a la viabilidad celular del parásito (Wang & Youle, 2009). El potencial mitocondrial es generado por la cadena de transporte de electrones a través de la cadena respiratoria ubicada en la membrana mitocondrial externa, durante este proceso ocurre un gradiente electroquímico que se encarga de la generación de ATP por la ATP sintasa (Pedra-Rezende et al., 2022).

La exposición a los agentes químicos tripanocidas ocasiona la generación excesiva de metabolitos altamente reactivos incluyendo a ROS, que producen la oxidación de las proteínas embebidas de cadena de respiración, lesiones en fosfolípidos mitocondriales, permeabilización de membranas entre otros (Nogueira et al., 2017). La pérdida del potencial mitocondrial desencadena la disminución de ATP celular, ocasionando que la demanda energética celular sea insuficiente para el desarrollo de las funciones metabólicas vitales de las células parasitarias (Bustos et al., 2017).

5.5. ESTRATEGIAS TERAPEÚTICAS BASADAS EN LA CONDENSACIÓN DE LA CROMATINA COMO ELEMENTO DIANA EN LA APOPTOSIS DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

La cromatina de *T. cruzi* constituye una estructura nucleosómica responsable del empaquetamiento del ADN y está organizada en octámeros de histonas distribuidos aproximadamente cada 146 pares de bases (Moretti & Schenkman, 2013). Sin embargo, presenta características distintivas respecto a la cromatina de otros organismos eucarióticos. Entre ellas, destaca la ausencia de una condensación cromosómica típica durante la mitosis, fenómeno relacionado con cambios estructurales de la histona H1, la cual carece de dominios globulares específicos (De Jesus et al., 2016). Asimismo, los diferentes estadios del parásito, infectivos y no infectivos, exhiben diferentes niveles de condensación de cromatina, reflejando cambios en su organización celular parasitaria (Beati et al., 2023). La estructura de la cromatina está regulada por factores epigenéticos y modificaciones postraduccionales de las histonas, así como enzimas modificadoras y las bases nitrogenadas modificadas (De Jesus et al., 2016). Estos mecanismos participan en la replicación del ADN, la segregación cromosómica y la progresión del ciclo celular. En consecuencia, la organización de la cromatina desempeña un rol esencial en la transcripción, replicación y reparación del material genético. Por otra parte, la condensación de la cromatina constituye uno de los principales marcadores de muerte celular similar a la apoptosis, este proceso implica una reorganización estructural del material genético nuclear, caracterizada por el reempaquetamiento de la

cromatina, la reducción del volumen celular y la redistribución del ADN en regiones altamente conservadas, fenómenos que reflejan alteraciones irreversibles de la homeostasis celular (Díaz-Viraqué et al., 2023).

El estrés oxidativo se encuentra estrechamente relacionado con la condensación de la cromatina. La acumulación de ROS, induce la oxidación de las bases nitrogenadas, alteraciones estructurales del ADN y modificaciones en proteínas nucleares asociadas a la organización de la cromatina (De Jesus et al., 2016). Aunque los sistemas antioxidantes de *T. cruzi* participan activamente en la reparación del daño genómico, cuando la generación de ROS supera la capacidad celular de respuesta se desencadenan alteraciones irreversibles que conducen a la compactación y condensación del material genético (Díaz-Viraqué et al., 2023). En células de mamífero, la fragmentación del ADN en fragmentos nucleosomales ocurre mediante la activación de la desoxirribonucleasa activada por caspasas (CAD), proceso que depende de la activación de la caspasa -3 y de la escisión de su complejo inhibidor (ICAD) (Beati et al., 2023). En contraste, debido a la ausencia de caspasas en tripanosomátidos, se ha propuesto que en *T. cruzi* este fenómeno podría estar mediado por metacaspasas capaces de inducir la degradación del ADN durante eventos similares a la apoptosis (Kosec et al., 2006); sin embargo, los mecanismos moleculares asociados a este proceso aún no han sido delucidados completamente.

Diversos estudios han considerado la condensación de la cromatina como un marcador tardío de muerte celular tipo apoptosis, ya que suele manifestarse después de la aparición de otros eventos fisiológicos asociados a la apoptosis, tales como incremento anormal de ROS, permeabilización de la membrana celular y reducción del potencial mitocondrial, por esta razón, la condensación de la cromatina es generalmente interpretada como una señal irreversible, indicando que la célula ha superado su capacidad de reparación y carece de poder retornar a su homeostasis celular (Díaz-Viraqué et al., 2023). En el contexto de la enfermedad de Chagas, la evaluación de los fármacos antichagásicos, BNZ Y NFX

sugiere que la condensación de la cromatina no constituye primario de su acción farmacológica. No obstante, este fenómeno se encuentra estrechamente relacionado a los mecanismos que desencadenan la muerte celular tipo apoptosis en el parásito. Diversas investigaciones reportan la condensación de la cromatina y fragmentación del ADN tras la exposición de *T. cruzi* a compuestos tripanocidas, lo que sugiere que ambos procesos reflejan la respuesta celular asociada a la muerte celular tipo apoptosis en el parásito (Bethencourt-Estrella et al., 2021).

Actualmente, la condensación de la cromatina no ha sido considerada como una diana terapéutica primaria en el tratamiento de la enfermedad de Chagas debido a que constituye como un evento tardío de la muerte celular tipo apoptosis en *T. cruzi* (Moretti & Schenkman, 2013). Sin embargo, el estudio de los componentes celulares de la cromatina representa una fuente potencial de dianas terapéuticas prometedoras, entre estas se incluyen las proteínas asociadas a la regulación del ADN parasitario, que incluyen histonas, acetilasas de histonas, topoisomerasas, entre otras (Beati et al., 2023). Su función consiste en regular el material genético y participar activamente en la supervivencia y mantenimiento del ADN del parásito, del modo que la inhibición o alteración de estas moléculas puede comprometer la regulación de procesos vitales como la replicación, transcripción, regulación y reparación del ADN conduciendo probablemente a una muerte celular (Díaz-Viraqué et al., 2023). Además, las proteínas reguladoras de cromatina en *T. cruzi* presentan diferencias estructurales y funcionales respecto a sus homólogas en células de mamíferos, este cambio evolutivo ofrece la posibilidad del diseño de estrategias terapéuticas selectivas capaces de interferir con el desarrollo celular del parásito y minimizar la toxicidad en células del hospedador. basadas en la condensación de la cromatina puede representar una menor toxicidad en la aplicación de pacientes humanos como una mayor especificidad en la inhibición de *T. cruzi* (Beati et al., 2023).

6. Conclusiones:

- La condensación de la cromatina representa una potencial diana terapéutica ya que está estrechamente relacionada con los eventos de muerte celular similar a la apoptosis, este mecanismo no ha sido considerado como una potencial diana ya que está asociado a la fase tardía de la muerte celular tipo apoptosis; sin embargo, la cromatina y sus componentes celulares asociados a su condensación pueden ser potenciales dianas terapéuticas de baja toxicidad en humanos para un tratamiento eficaz de la enfermedad de Chagas
- La recopilación bibliográfica permitió identificar a profundidad como los mecanismos de muerte celular programada tipo apoptosis de *T. cruzi*, están asociados a la condensación de cromatina y como puede ser empleada como una potencial diana terapéutica del tratamiento de la enfermedad
- Los factores de inducción de la muerte celular menos reportados estuvieron asociados a la condensación de la cromatina comparados al estrés oxidativo, permeabilización de membrana y reducción del potencial mitocondrial, representando el acto impactante científico que tiene la publicación del manuscrito.

7. Referencias Bibliográficas:

- Altamiranda-Saavedra, M., Montaña Contreras, S. C., Rivera Pacheco, J. C., Bernal Contreras, K. A., López, C. R. G., Vasquez Trujillo, A., & Moo-Llanes, D. A. (2024). Predicting the potential distribution and coexistence of Chagas disease vectors in the Americas. *Journal of Medical Entomology*, 61(5). <https://doi.org/10.1093/jme/tjae077>
- Andrade, L. O., & Andrews, N. W. (2004). Lysosomal fusion is essential for the retention of *Trypanosoma cruzi* inside host cells. *Journal of Experimental Medicine*, 200(9). <https://doi.org/10.1084/jem.20041408>
- Battista, T., Colotti, G., Ilari, A., & Fiorillo, A. (2020). Targeting trypanothione reductase, a key enzyme in the redox trypanosomatid metabolism, to develop new drugs against leishmaniasis and trypanosomiasis. In *Molecules* (Vol. 25, Number 8). <https://doi.org/10.3390/molecules25081924>

- Beati, P., Stepňicka, M. M., Larrea, S. C. V., Smircich, P., Alonso, G. D., & Ocampo, J. (2023). Improving genome-wide mapping of nucleosomes in *Trypanosoma cruzi*. *PLoS ONE*, 18(11 November). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293809>
- Bermudez, J., Davies, C., Simonazzi, A., Pablo Real, J., & Palma, S. (2016). Current drug therapy and pharmaceutical challenges for Chagas disease. In *Acta Tropica* (Vol. 156). <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.12.017>
- Bethencourt-Estrella, C. J., Delgado-Hernández, S., López-Arencibia, A., Nicolás-Hernández, D. S., Sifaoui, I., Tejedor, D., García-Tellado, F., Lorenzo-Morales, J., & Piñero, J. E. (2021). Acrylonitrile derivatives against *trypanosoma cruzi*: In vitro activity and programmed cell death study. *Pharmaceuticals*, 14(6). <https://doi.org/10.3390/ph14060552>
- Brennand, A., Rico, E., & Michels, P. A. M. (2012). Autophagy in trypanosomatids. *Cells*, 1(3). <https://doi.org/10.3390/cells1030346>
- Bruchhaus, I., Roeder, T., Rennenberg, A., & Heussler, V. T. (2007). Protozoan parasites: programmed cell death as a mechanism of parasitism. In *Trends in Parasitology* (Vol. 23, Number 8). <https://doi.org/10.1016/j.pt.2007.06.004>
- Bustos, P. L., Perrone, A. E., Milduberger, N. A., & Bua, J. (2017). Mitochondrial permeability transition in protozoan parasites: what we learned from *Trypanosoma cruzi*. In *Cell Death and Disease* (Vol. 8, Number 9). <https://doi.org/10.1038/CDDIS.2017.431>
- Bustos, P. L., Perrone, A. E., Milduberger, N., Postan, M., & Bua, J. (2015). Oxidative stress damage in the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi* is inhibited by Cyclosporin A. *Parasitology*, 142(8), 1024–1032. <https://doi.org/10.1017/S0031182015000232>
- Cardoso, M. S., Reis-Cunha, J. L., & Bartholomeu, D. C. (2016). Evasion of the immune response by *trypanosoma cruzi* during acute infection. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 6, Number JAN). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00659>
- Chen, J., Gou, Z., Yang, G., Zhou, L., Kim, A. N., Shi, W., & Zhou, Y. (2025). Ferroptosis, a Distinct Form of Cell Death, and Research Progress on Its Modulators. In *Pharmaceuticals* (Vol. 18, Number 12). <https://doi.org/10.3390/ph18121785>
- Cirqueira, M. L., Bortot, L. O., Bolean, M., Aleixo, M. A. A., Luccas, P. H., Costa-Filho, A. J., Ramos, A. P., Ciancaglini, P., & Nonato, M. C. (2022). *Trypanosoma cruzi* nitroreductase: Structural features and interaction with biological membranes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 221, 891–899. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.073>
- Coria-Paredes, D. M., Wilkins-Rodríguez, A. A., & Gutiérrez-Kobeh, L. (2025). Apoptosis: A Key Process That *Trypanosoma cruzi* Modulates as a Strategy to Perpetuate Infection. In *Journal of Parasitology Research* (Vol. 2025, Number 1). <https://doi.org/10.1155/japr/2093615>
- DaMatta, R. A., Seabra, S. H., Deolindo, P., Arnholdt, A. C. V., Manhães, L., Goldenberg, S., & De Souza, W. (2007). *Trypanosoma cruzi* exposes phosphatidylserine as an evasion mechanism. *FEMS Microbiology Letters*, 266(1). <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00495.x>

- Das, P., Saha, S., & BoseDasgupta, S. (2021). The ultimate fate determinants of drug induced cell-death mechanisms in Trypanosomatids. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 15. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2021.01.003>
- De Jesus, T. C. L., Nunes, V. S., Lopes, M. D. C., Martil, D. E., Iwai, L. K., Moretti, N. S., MacHado, F. C., De Lima-Stein, M. L., Thiemann, O. H., Elias, M. C., Janzen, C., Schenkman, S., & Da Cunha, J. P. C. (2016). Chromatin proteomics reveals variable histone modifications during the life cycle of trypanosoma cruzi. *Journal of Proteome Research*, 15(6). <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.6b00208>
- de la Rosa, E., Paglini-Oliva, P., Prato, L. B., Benizio, E., Triquell, M. F., Muñoz, S. E., & Fernández, E. A. (2018). Early detection of chronic asymptomatic chagas infection. In *Medical Science Monitor* (Vol. 24). <https://doi.org/10.12659/MSM.907735>
- De Rycker, M., Wyllie, S., Horn, D., Read, K. D., & Gilbert, I. H. (2023). Anti-trypanosomatid drug discovery: progress and challenges. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 21, Number 1). <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00777-y>
- De Souza, W., De Carvalho, T. M. U., & Barrias, E. S. (2010). Review on Trypanosoma cruzi: Host cell interaction. In *International Journal of Cell Biology*. <https://doi.org/10.1155/2010/295394>
- Dho, S. H., Cho, M., Woo, W., Jeong, S., & Kim, L. K. (2025). Caspases as master regulators of programmed cell death: apoptosis, pyroptosis and beyond. In *Experimental and Molecular Medicine* (Vol. 57, Number 6). <https://doi.org/10.1038/s12276-025-01470-9>
- Díaz-Viraqué, F., Chiribao, M. L., Libisch, M. G., & Robello, C. (2023). Genome-wide chromatin interaction map for Trypanosoma cruzi. *Nature Microbiology*, 8(11). <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01483-y>
- Fernández-Lázaro, D., Sanz, B., & Seco-Calvo, J. (2024). Mechanisms of programmed cell death: structural and functional pathways. A narrative review. *Investigacion Clinica (Venezuela)*, 65(2). <https://doi.org/10.54817/IC.V65N2A09>
- Ferreira, A. Z. L., de Araújo, C. N., Cardoso, I. C. C., de Souza Mangabeira, K. S., Rocha, A. P., Charneau, S., Santana, J. M., Motta, F. N., & Bastos, I. M. D. (2024). Metacyclogenesis as the Starting Point of Chagas Disease. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 25, Number 1). <https://doi.org/10.3390/ijms25010117>
- Ferri, G., & Edreira, M. M. (2021). All Roads Lead to Cytosol: Trypanosoma cruzi Multi-Strategic Approach to Invasion. In *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 11). <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.634793>
- Francisco, A. F., Jayawardhana, S., Olmo, F., Lewis, M. D., Wilkinson, S. R., Taylor, M. C., & Kelly, J. M. (2020). Challenges in Chagas Disease Drug Development. In *Molecules* (Vol. 25, Number 12). <https://doi.org/10.3390/molecules25122799>
- Gomes, D. C., Medeiros, T. S., Alves Pereira, E. L., da Silva, J. F. O., de Freitas Oliveira, J. W., Fernandes-Pedrosa, M. de F., de Sousa da Silva, M., & da Silva-Júnior, A. A. (2023). From Benznidazole to New Drugs: Nanotechnology Contribution in Chagas

- Disease. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Number 18).
<https://doi.org/10.3390/ijms241813778>
- Gong, J. S., & Kim, G. J. (2014). The role of autophagy in the placenta as a regulator of cell death. In *Clinical and Experimental Reproductive Medicine* (Vol. 41, Number 3).
<https://doi.org/10.5653/cerm.2014.41.3.97>
- Hall, B. S., Bot, C., & Wilkinson, S. R. (2011). Nifurtimox activation by trypanosomal type I nitroreductases generates cytotoxic nitrile metabolites. *Journal of Biological Chemistry*, 286(15), 13088–13095. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.230847>
- Hu, L., Lu, J., Fan, H., Niu, C., Han, Y., Caiyin, Q., Wu, H., & Qiao, J. (2025). FAS mediates apoptosis, inflammation, and treatment of pathogen infection. In *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* (Vol. 15). <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1561102>
- Hugo García Orozco, V., Enrique Villalvazo Navarro, J., Solar Aguirre, C., Manuel Ibarra Ocampo, C., Iván Díaz Sandoval, C., Alejandro Ortiz Gallegos, C., Javier Oregel Camacho, D., & Noriega Bucio, A. (2022). Digestive Disorders in Chagas Disease: Megaesophagus and Chagasic Megacolon. In *Chagas Disease - From Cellular and Molecular Aspects of Trypanosoma cruzi-Host Interactions to the Clinical Intervention*.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.102871>
- Ju, E., Park, K. A., Shen, H. M., & Hur, G. M. (2022). The resurrection of RIP kinase 1 as an early cell death checkpoint regulator—a potential target for therapy in the necroptosis era. In *Experimental and Molecular Medicine* (Vol. 54, Number 9).
<https://doi.org/10.1038/s12276-022-00847-4>
- Kaczanowski, S., Sajid, M., & Reece, S. E. (2011). Evolution of apoptosis-like programmed cell death in unicellular protozoan parasites. In *Parasites and Vectors* (Vol. 4, Number 1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-44>
- Kopeina, G. S., Efimenko, A. Y., Tkachuk, V. A., & Zhivotovsky, B. (2025). PROGRAMMED CELL DEATH AND TISSUE REGENERATION: A LINK THAT SHOULD BE RESOLVED. In *Physiological Reviews* (Vol. 105, Number 4).
<https://doi.org/10.1152/physrev.00036.2024>
- Kosec, G., Alvarez, V. E., Agüero, F., Sánchez, D., Dolinar, M., Turk, B., Turk, V., & Cazzulo, J. J. (2006). Metacaspases of *Trypanosoma cruzi*: Possible candidates for programmed cell death mediators. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 145(1).
<https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2005.09.001>
- Kourbeli, V., Chontzopoulou, E., Moschovou, K., Pavlos, D., Mavromoustakos, T., & Papanastasiou, I. P. (2021). An overview on target-based drug design against kinetoplastid protozoan infections: Human african trypanosomiasis, chagas disease and leishmaniasis. In *Molecules* (Vol. 26, Number 15).
<https://doi.org/10.3390/molecules26154629>
- Kühn, K., D'Lima, D. D., Hashimoto, S., & Lotz, M. (2004). Cell death in cartilage. In *Osteoarthritis and Cartilage* (Vol. 12, Number 1).
<https://doi.org/10.1016/j.joca.2003.09.015>

- Lazzari, C. R., Ricardo, Pereira, M. H., Orácio, & Lorenzo, M. G. (2013). Behavioural biology of Chagas disease vectors. In *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (Vol. 108). <https://doi.org/10.1590/0074-0276130409>
- Liu, S. Z., Yao, S. J., Yang, H., Liu, S. J., & Wang, Y. J. (2023). Autophagy: Regulator of cell death. In *Cell Death and Disease* (Vol. 14, Number 10). <https://doi.org/10.1038/s41419-023-06154-8>
- Losada Galván, I., Alonso-Padilla, J., Cortés-Serra, N., Alonso-Vega, C., Gascón, J., & Pinazo, M. J. (2021). Benznidazole for the treatment of Chagas disease. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 19(5). <https://doi.org/10.1080/14787210.2021.1834849>
- Machado-Silva, A., Cerqueira, P. G., Grazielle-Silva, V., Gadelha, F. R., Peloso, E. de F., Teixeira, S. M. R., & Machado, C. R. (2016). How *Trypanosoma cruzi* deals with oxidative stress: Antioxidant defence and DNA repair pathways. In *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* (Vol. 767). <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2015.12.003>
- Martín-Escolano, J., Marín, C., Rosales, M. J., Tsaousis, A. D., Medina-Carmona, E., & Martín-Escolano, R. (2022a). An Updated View of the *Trypanosoma cruzi* Life Cycle: Intervention Points for an Effective Treatment. In *ACS Infectious Diseases* (Vol. 8, Number 6). <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.2c00123>
- Martín-Escolano, J., Marín, C., Rosales, M. J., Tsaousis, A. D., Medina-Carmona, E., & Martín-Escolano, R. (2022b). An Updated View of the *Trypanosoma cruzi* Life Cycle: Intervention Points for an Effective Treatment. In *ACS Infectious Diseases* (Vol. 8, Number 6). <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.2c00123>
- Martín-Escolano, J., Medina-Carmona, E., & Martín-Escolano, R. (2020). Chagas Disease: Current View of an Ancient and Global Chemotherapy Challenge. In *ACS Infectious Diseases* (Vol. 6, Number 11). <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.0c00353>
- Martinez-Osorio, V., Abdelwahab, Y., & Ros, U. (2023). The Many Faces of MLKL, the Executor of Necroptosis. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Number 12). <https://doi.org/10.3390/ijms241210108>
- Matsuda, N. M., Miller, S. M., & Evora, P. R. B. (2009). The chronic gastrointestinal manifestations of chagas disease. In *Clinics* (Vol. 64, Number 12). <https://doi.org/10.1590/S1807-59322009001200013>
- McIlwain, D. R., Berger, T., & Mak, T. W. (2013). Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(4). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008656>
- Medina-Rincón, G. J., Gallo-Bernal, S., Jiménez, P. A., Cruz-Saavedra, L., Ramírez, J. D., Rodríguez, M. J., Medina-Mur, R., Díaz-Nassif, G., Valderrama-Achury, M. D., & Medina, H. M. (2021). Molecular and clinical aspects of chronic manifestations in chagas disease: A state-of-the-art review. In *Pathogens* (Vol. 10, Number 11). <https://doi.org/10.3390/pathogens10111493>
- Menna-Barreto, R. F. S. (2019a). Cell death pathways in pathogenic trypanosomatids: lessons of (over)kill. In *Cell Death and Disease* (Vol. 10, Number 2). <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1370-2>

- Menna-Barreto, R. F. S. (2019b). Cell death pathways in pathogenic trypanosomatids: lessons of (over)kill. In *Cell Death and Disease* (Vol. 10, Number 2). <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1370-2>
- Menna-Barreto, R. F. S., & de Castro, S. L. (2015). Between Armour and Weapons — Cell Death Mechanisms in Trypanosomatid Parasites. In *Cell Death - Autophagy, Apoptosis and Necrosis*. <https://doi.org/10.5772/61196>
- Moretti, N. S., & Schenkman, S. (2013). Chromatin modifications in trypanosomes due to stress. In *Cellular Microbiology* (Vol. 15, Number 5, pp. 709–717). <https://doi.org/10.1111/cmi.12111>
- Mucci, J., Lantos, A. B., Buscaglia, C. A., Leguizamón, M. S., & Campetella, O. (2017). The *Trypanosoma cruzi* Surface, a Nanoscale Patchwork Quilt. In *Trends in Parasitology* (Vol. 33, Number 2). <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.10.004>
- Müller Kratz, J., Garcia Bournissen, F., Forsyth, C. J., & Sosa-Estani, S. (2018). Clinical and pharmacological profile of benznidazole for treatment of Chagas disease. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 11(10), 943–957. <https://doi.org/10.1080/17512433.2018.1509704>
- Mustafa, M., Ahmad, R., Tantry, I. Q., Ahmad, W., Siddiqui, S., Alam, M., Abbas, K., Moinuddin, Hassan, M. I., Habib, S., & Islam, S. (2024). Apoptosis: A Comprehensive Overview of Signaling Pathways, Morphological Changes, and Physiological Significance and Therapeutic Implications. In *Cells* (Vol. 13, Number 22). <https://doi.org/10.3390/cells13221838>
- Navarro A, M. C., Cordova L, A. S., Fernandez B, K. N., Arteaga O, R. Y., Graterol R I, D., Dominguez B I, M., De Lima R, A. R., Pineda, W. A., & Contreras A, V. T. (2012). *Trypanosoma cruzi* Epimastigogenesis: A Method for Studying Trypomastigote to Epimastigote Transformation In Vivo. *KASMER*, 40(2).
- Nogueira, N. P., Saraiva, F. M. S., Oliveira, M. P., Mendonça, A. P. M., Inacio, J. D. F., Almeida-Amaral, E. E., Menna-Barreto, R. F., Laranja, G. A. T., Torres, E. J. L., Oliveira, M. F., & Paes, M. C. (2017). Heme modulates *Trypanosoma cruzi* bioenergetics inducing mitochondrial ROS production. *Free Radical Biology and Medicine*, 108, 183–191. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.03.027>
- Ouaissi, A. (2003). Apoptosis-like death in trypanosomatids: Search for putative pathways and genes involved. In *Kinetoplastid Biology and Disease* (Vol. 2). <https://doi.org/10.1186/1475-9292-2-5>
- Pandey, S. S., Singh, S., Pathak, C., & Tiwari, B. S. (2018). “Programmed cell death: A process of death for survival” – How far terminology pertinent for cell death in unicellular organisms. *Journal of Cell Death*, 11. <https://doi.org/10.1177/1179066018790259>
- Pawłowska, M., Mila-Kierzenkowska, C., Szczegielniak, J., & Woźniak, A. (2024). Oxidative Stress in Parasitic Diseases—Reactive Oxygen Species as Mediators of Interactions between the Host and the Parasites. In *Antioxidants* (Vol. 13, Number 1). <https://doi.org/10.3390/antiox13010038>

- Pawłowska, M., Nuskiewicz, J., Jarek, D. J., & Woźniak, A. (2025). Ferroptosis and Metabolic Dysregulation: Emerging Chemical Targets in Cancer and Infection. In *Molecules* (Vol. 30, Number 14). <https://doi.org/10.3390/molecules30143020>
- Pedra-Rezende, Y., Bombaça, A. C. S., & Menna-Barreto, R. F. S. (2022). Is the mitochondrion a promising drug target in trypanosomatids? *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 117. <https://doi.org/10.1590/0074-02760210379>
- Peña-Callejas, G., González, J., Jiménez-Cortés, J. G., De Fuentes-Vicente, J. A., Salazar-Schettino, P. M., Bucio-Torres, M. I., Cabrera-Bravo, M., & Flores-Villegas, A. L. (2022). Chagas disease: biology and transmission of *Trypanosoma cruzi*. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 25(June).
- Qian, S., Long, Y., Tan, G., Li, X., Xiang, B., Tao, Y., Xie, Z., & Zhang, X. (2024). Programmed cell death: molecular mechanisms, biological functions, diseases, and therapeutic targets. In *MedComm* (Vol. 5, Number 12). <https://doi.org/10.1002/mco2.70024>
- Rajão, M. A., Furtado, C., Alves, C. L., Passos-Silva, D. G., De Moura, M. B., Schamber-Reis, B. L., Kunrath-Lima, M., Zuma, A. A., Vieira-da-Rocha, J. P., Garcia, J. B. F., Mendes, I. C., Pena, S. D. J., Macedo, A. M., Franco, G. R., De Souza-Pinto, N. C., De Medeiros, M. H. G., Cruz, A. K., Motta, M. C. M., Teixeira, S. M. R., & Machado, C. R. (2014). Unveiling Benznidazole's mechanism of action through overexpression of DNA repair proteins in *Trypanosoma cruzi*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 55(4). <https://doi.org/10.1002/em.21839>
- Reece, S. E., Pollitt, L. C., Colegrave, N., & Gardner, A. (2011). The meaning of death: Evolution and ecology of apoptosis in protozoan parasites. *PLoS Pathogens*, 7(12). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002320>
- Ribeiro, V., Dias, N., Paiva, T., Hagström-Bex, L., Nitz, N., Pratesi, R., & Hecht, M. (2020a). Current trends in the pharmacological management of Chagas disease. In *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* (Vol. 12). <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2019.11.004>
- Ribeiro, V., Dias, N., Paiva, T., Hagström-Bex, L., Nitz, N., Pratesi, R., & Hecht, M. (2020b). Current trends in the pharmacological management of Chagas disease. In *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* (Vol. 12). <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2019.11.004>
- Rosa, C.-G., Ignacio, M., & Bertha, E. (2022). *Papel de la enzima Nitroreductasa tipo I de Trypanosoma cruzi en el metabolismo de fármacos anti-chagásicos*. 2(15).
- Sana, A., Rossi, I. V., & Ramirez, M. I. (2025). Regulation and Roles of Metacyclogenesis and Epimastigogenesis in the Life Cycle of *Trypanosoma cruzi*. In *Pathogens* (Vol. 14, Number 11). <https://doi.org/10.3390/pathogens14111149>
- Sana, A., Rossi, I. V., Sabatke, B., & Ramirez, M. I. (2025). Extracellular Vesicles Mediate Epimastigogenesis in *Trypanosoma cruzi*: Strain-Specific Dynamics and Temperature-Dependent Differentiation. *Life*, 15(6). <https://doi.org/10.3390/life15060931>

- Sandes, J. M., Fontes, A., Regis-da-Silva, C. G., De Castro, M. C. A. B., Lima-Junior, C. G., Silva, F. P. L., Vasconcellos, M. L. A. A., & Figueiredo, R. C. B. Q. (2014). Trypanosoma cruzi cell death induced by the Morita-Baylis-Hillman adduct 3-hydroxy-2-methylene-3-(4-nitrophenyl)propanenitrile. *PLoS ONE*, 9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093936>
- Skryabina, A. A., Fedoseev, A. I., & Fedoseeva, M. I. (2025a). Chagas Disease: Epidemiology, Diagnosis, Treatment and Global Challenges. *Medicina*, 13(2). <https://doi.org/10.29234/2308-9113-2025-13-2-38-55>
- Skryabina, A. A., Fedoseev, A. I., & Fedoseeva, M. I. (2025b). Chagas Disease: Epidemiology, Diagnosis, Treatment and Global Challenges. *Medicina*, 13(2). <https://doi.org/10.29234/2308-9113-2025-13-2-38-55>
- Steverding, D. (2014). The history of Chagas disease. In *Parasites and Vectors* (Vol. 7, Number 1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-317>
- Sueth-Santiago, V., Decote-Ricardo, D., Morrot, A., Freire-de-Lima, C. G., & Lima, M. E. F. (2017a). Challenges in the chemotherapy of Chagas disease: Looking for possibilities related to the differences and similarities between the parasite and host. *World Journal of Biological Chemistry*, 8(1). <https://doi.org/10.4331/wjbc.v8.i1.57>
- Sueth-Santiago, V., Decote-Ricardo, D., Morrot, A., Freire-de-Lima, C. G., & Lima, M. E. F. (2017b). Challenges in the chemotherapy of Chagas disease: Looking for possibilities related to the differences and similarities between the parasite and host. *World Journal of Biological Chemistry*, 8(1). <https://doi.org/10.4331/wjbc.v8.i1.57>
- Tang, D., Kang, R., Berghe, T. Vanden, Vandenabeele, P., & Kroemer, G. (2019). The molecular machinery of regulated cell death. In *Cell Research* (Vol. 29, Number 5). <https://doi.org/10.1038/s41422-019-0164-5>
- Wang, C., & Youle, R. J. (2009). The role of mitochondria in apoptosis. In *Annual Review of Genetics* (Vol. 43). <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102108-134850>
- World Health Organization. (2025). *Chagas disease (also known as American trypanosomiasis)*. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
- Yuan, J., & Ofengeim, D. (2024). A guide to cell death pathways. In *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (Vol. 25, Number 5). <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00689-6>
- Zingales, B., & Bartholomeu, D. C. (2021). Trypanosoma cruzi genetic diversity: Impact on transmission cycles and chagas disease. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 116(1). <https://doi.org/10.1590/0074-02760210193>