

Parásitos intestinales

ENFERMEDAD DE CHAGAS

Cardiac mitochondria dysfunction along *Trypanosoma cruzi* infection

Alejandra Báez, Silvina Lo Presti, Carolina Bazán, Mariana Strauss, Walter Rivarola, Patricia Paglini
Cátedra de Física Biomédica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina

Introduction. *Trypanosoma cruzi* invasion and replication in cardiomyocytes induce cellular injuries and cytotoxic reactions, with the production of inflammatory cytokines and nitric oxide, both source of reactive oxygen species. The myocyte response to oxidative stress involves the progression of cellular changes primarily targeting mitochondria. We studied the cardiac mitochondrial structure and function through the enzymatic activity of citrate synthase (mitochondrial matrix) and respiratory chain CI–CIV complexes mitochondrial cristae).

Materials and methods. In Albino Swiss mice infected with *T. cruzi*, Tulahuen strain and SGO Z12 isolate in the acute (30 days post infection dpi, n=10) chronic indeterminate (75 dpi, n=10) and chronic phase (365 dpi, n=10). A non infected group (n=10) was also studied). Data were analyzed by ANOVA and Chi-square test for categorical variables. Axiovision 3.0 program was used to quantify mitochondria. Significance level was set at $p < 0.05$.

Results. Activity of complexes I to IV and citrate synthase, measured by spectrophotometric methods, was altered in different ways, according to the strain employed and the alteration were increasing from the acute to the chronic phase ($p < 0.01$). Changes in mitochondrial structure studied by electronic microscopy were detected in 71%, 60% and 89% of Tulahuen, and 88%, 60% and 58% of SGO Z12-infected mice for the acute, chronic indeterminate and chronic phase respectively. Parasites were detected all along infection.

Conclusions. Here we demonstrate that parasite persistence and inflammation are likely to be involved in the structural and functional alterations in cardiac mitochondria from the acute to the chronically *T. cruzi*-infected mice, demonstrating that in chagasic cardiopathy the parasite strain determines different mitochondrial changes that are involved in the pathophysiology of heart failure

and could be important predictors of the evolution of cardiopathy.

• • •

Efecto de la aspirina sobre los niveles plasmáticos de marcadores de disfunción endotelial en un modelo de infección crónica de la enfermedad de Chagas

Alfredo Molina-Berrios¹, Ulrike Kemmerling², Antonio Morello¹, Juan Diego Maya¹

¹ Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile

² Programa de Anatomía y Biología del desarrollo, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Introducción. La enfermedad de Chagas es causada por el protozoo hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. Alrededor de 30% de los pacientes desarrollan la fase cardíaca crónica de la enfermedad (cardiomiopatía chagásica), con falla cardíaca y arritmias potencialmente fatales, originando una alta morbilidad en la población afectada. Las lesiones cardíacas se explican en parte por anomalías microvasculares (microtrombos, disfunción endotelial, aumento de la actividad plaquetaria). El tromboxano A₂ produce disfunción endotelial mediante respuestas inflamatorias.

La síntesis de tromboxano A₂ es inhibida por la aspirina, fármaco que en estudios *in vitro* de nuestro laboratorio ha mostrado ser capaz de reducir la infección en células RAW 264.7 y la parasitemia de ratones BALB/c en un modelo agudo de infección. De acuerdo con estos antecedentes, se evaluó el efecto de aspirina sobre los niveles plasmáticos de marcadores de disfunción endotelial (sICAM y sE-selectina), en un modelo crónico de la enfermedad de Chagas.

Materiales y métodos. Los animales fueron infectados con 500 tripomastigotes de la cepa Dm28c por vía intraperitoneal y sacrificados los días 24 y 90 después de la infección (etapa aguda y crónica, respectivamente). Los ratones se trataron por vía oral con aspirina, 2 y 40 mg/kg, a partir del día 2 después de la infección durante 20 días. Los niveles de sICAM, sE-selectina y tromboxano

A₂ se determinaron mediante kits comerciales de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Cayman chemical, R&D Systems).

Resultados. Los animales infectados presentaron una elevación de los niveles de tromboxano A₂, sICAM y sE-selectina, lo que confirma la disfunción endotelial producto de la infección. El tratamiento con aspirina, 2 y 40 mg/kg, disminuyó los niveles de estos marcadores hasta los valores del grupo control, efecto que persistió incluso hasta 60 días después de finalizado el tratamiento.

Conclusión. La aspirina es capaz de normalizar los niveles de sE-selectina y sICAM mediante la inhibición de la síntesis de tromboxano A₂.

Financiamiento. Proyecto Fondecyt 1090078 y ACT-112



Infección por *Trypanosoma cruzi* del cerebro de rata durante la gestación

Ana Lugo de Yarbu¹, Cesare Colasante², Sonia Araujo¹, Maritza Alarcón¹, Elio Moreno¹

¹ Laboratorio de Parasitología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela

² Laboratorio de Fisiología de la Conducta, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela

Introducción. La enfermedad de Chagas es una parasitosis tropical de Latinoamérica producida por *Trypanosoma cruzi*. Prolifera en varios tipos de células y pocas veces compromete el sistema nervioso central.

Objetivo. El estudio consistió en analizar el efecto de la preñez sobre el cerebro de ratas con infección aguda por *T. cruzi*.

Materiales y métodos. Se inyectaron 10 ratas hembras Wistar por vía subcutánea con 4x10⁶ tripanosomas de la cepa YBM TcI, a los 12 días después de la infección las ratas fueron apareadas y a los 20 días de preñadas fueron sacrificadas con vapores de cloroformo. Se expuso la caja torácica, se bloqueó la arteria aorta descendente y se introdujo paraformaldehído a través del ventrículo izquierdo.

El cerebro de las ratas infectadas preñadas y de ratas no preñadas infectadas con *T. cruzi*, se fijó con formalina al 10 %, se deshidrató y se incluyó en Paraplast. Se analizaron los cortes de cerebro de 7 µm coloreados con hematoxilina-eosina y las reacciones inmunohistoquímica de astrocitos anti-GFAP, neuronas anti-NeuN y de microglía-anti-integrina alfa M (CD11b) reveladas por inmunofluorescencia indirecta.

Resultados. Durante la fase aguda, en las ratas infectadas preñadas se observó incremento significativo de la parasitemia patente con respecto a las ratas no preñadas (p<0,05). La histología reveló abundantes amastigotes cercanos a linfocitos activados y a neuronas en proceso degenerativo con núcleos hiper cromáticos, linfocitos asociados a neuronas hiper cromáticas y deterioro de la neuropila circundante a los cuerpos neuronales y gliales del parénquima cerebral. El análisis histocuantitativo mostró significativa reducción del número de astrocitos y neuronas, e incremento de microglía en el cerebro de las ratas infectadas preñadas con respecto a las ratas no preñadas (p<0,05).

Conclusiones. Los resultados revelan que la preñez induce exacerbación de la infección, *T. cruzi* prolifera en el parénquima cerebral y en astrocitos del cerebro, y se tornan patógenos, posiblemente debido a una inmunodepresión de carácter celular en las ratas preñadas.



The wild rodent *Octodon degus* as a reservoir for Chagas' disease in Chile

Carezza Botto-Mahan¹, Antonella Bacigalupo², Juana P. Correa², Esteban Oda¹, Gemma Rojo², Natalia Lártiga², Mariela Puebla², Lucila Moreno³, Aldo Solari⁴

¹ Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

² Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

³ Departamento de Zoología, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

⁴ Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Introduction. In the present study, we assess under natural conditions the survivorship and *Trypanosoma cruzi*-infection rate of the endemic rodent *Octodon degus* from a hyper-endemic area of Chagas' disease in Chile.

Materials and methods. Individuals of *O. degus* were collected at the Reserva Nacional Las Chinchillas (Región de Coquimbo, Chile), an area where the sylvatic and domestic transmission cycles of Chagas' disease overlap, by live animal trapping. Blood was withdrawn by saphenous vein puncture with a 21G needle and collected in vials. Each individual was ear-tagged with a unique combination of numbers and released at the exact point of capture after complete recover from anesthesia. Parasite detection was performed

by PCR assays to amplify minicircles' DNA on extracted blood samples of individuals captured in austral summer of 2010. The same trapping procedure was followed in 2011, recording the tag number of recaptured individuals. We assessed the survival probability between infected and non infected individuals (G test for goodness of fit).

Results. In 2010, a total of 90 *O. degus* were captured and blood sampled (45 females and 45 males). Overall, *T. cruzi*-infection reached 70%. In 2011, 22 out of the 90 *O. degus* were recaptured (13 females and 9 males). A total of eight non-infected *O. degus* in 2010 were recaptured in 2011, and molecular parasite detection indicates that all these individuals did not acquire the infection in the lapse of one year. The chance to survive from 2010 to 2011 did not differ between infected and non-infected *O. degus* ($G=0.020$, $df=1$, $p=0.886$; females: $G=0.549$, $df=1$, $p=0.459$).

Conclusions. The protozoan *T. cruzi* does not increase the mortality of this long-lived wild rodent species, suggesting that it could be considered a good mammalian reservoir.

FONDECYT 11090086, 1085154, 1100339, PBCTPSD66

• • •

Effect of *Trypanosoma cruzi* infection on the space use of two sylvatic rodent species

Carezza Botto-Mahan¹, Antonella Bacigalupo², Juana P. Correa²,

Esteban Oda¹, Aldo Solari³

¹ Departamento de Ciencias Ecológicas, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

² Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

³ Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Introduction. In spite of the importance of the wild transmission cycle of Chagas' disease, only few studies have examined the effect of *Trypanosoma cruzi* on its native reservoirs and how this affects its maintenance, transmission and dispersion. In this study, we assess under natural conditions the effect of *T. cruzi* on the space use of two native rodents: *Phyllotis darwini* and *Octodon degus*, from a hyper-endemic area of Chagas' disease in Chile.

Materials and methods. During the austral summer of 2010, we obtained the area used by each individual of both rodent species by means of capture-mark-recapture method at the Reserva

Nacional Las Chinchillas (Región de Coquimbo, Chile). Space use was calculated as the minimum convex polygon with a 5 m buffer. The areas were compared by two-way ANCOVA, with sex and status as factors and total number of capture-recaptures as covariate. Each captured individual was blood sampled by submandibular or saphenous vein puncture. *T. cruzi* detection was performed on the extracted blood samples by PCR assays to amplify minicircles' DNA.

Results. Infected males and females of *P. darwini* used a space twice as large as non-infected ones (Sex: $F_{1,48}=1.39$, $p=0.245$; status: $F_{1,48}=6.20$, $p=0.016$; sex status: $F_{1,48}=0.059$, $p=0.810$). On the other hand, the infection with *T. cruzi* did not affect the space use of *O. degus*, following the same pattern males and females (sex: $F_{1,57}=0.22$, $p=0.640$; status: $F_{1,57}=0.002$, $p=0.966$; sex status: $F_{1,57}=0.06$, $p=0.810$).

Conclusions. We suggest that higher energetic requirements by infected *P. darwini* could explain at least in part this aberrant behaviour, with a net result of over-dispersion of Chagas' disease in the sylvatic transmission cycle in semiarid Chile.

FONDECYT 11090086, 1085154, 1100339, PBCT-PSD66

• • •

Anatomo-pathological behavior of artificial oral *Trypanosoma cruzi* infection in ICR line mice

Diana K. Quintero¹, Martha L. Salas¹, Marleny Montilla¹, Edgar Parra¹, Juan David Ramírez², Felipe Guhl², José Alejandro Daza¹

¹ Grupo de Parasitología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

² Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

Introduction. Chagas' disease caused by the parasite *Trypanosoma cruzi* is considered an important problem in public health. The main route of infection is vectorial by Reduviidae bugs but oral infection has gained paramount importance. There are recent several outbreaks of oral infection in Brazil, Venezuela and Colombia. The course of this infection leads to severe cardiomyopathies and in some cases to sudden death.

The aim of this work was to observe the anatomopathological behavior of *T. cruzi* infection by comparing artificial oral route and intraperitoneally infection in experimental animals.

Methods and materials. It was selected a *T. cruzi* strain isolated from an oral outbreak in Colombia

(MHOM/CO/09/NCh) characterized as TcI using the intergenic region of mini-exon gene. Twenty mice were infected by oral route and intraperitoneally with neat concentrations. After infection a blood sample was collected every two days to observe parasites, after 30 days they were sacrificed and organs were collected for histopathological analyses.

Results and conclusions. It was possible to observe the parasitemia in mice inoculated orally on the tenth day and intraperitoneally from day 26. The inflammatory involvement was observed in all organs of the two routes of inoculation. 77.7% of mice inoculated both intraperitoneally and orally were positive for pathological findings. The parasite was found in all tissues including the digestive tract, but to be effective oral infection requires greater parasite concentration. This is the first attempt to understand the mechanism of oral infection in mice showing the relevance and recent importance of this route of infection in epidemiological and clinical terms.



Estandarización de un protocolo de dilución limitante para la clonación celular de aislamientos colombianos de *Trypanosoma cruzi*

Juan David Ramírez, Claudia Herrera, Lina Rendón, Daniel Suárez, Yizeth Bogotá, Alejandro Suárez, Felipe Guhl

Centro de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Tropical, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. La enfermedad de Chagas causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* es una enfermedad endémica del continente americano y se considera un importante problema en salud pública. *Trypanosoma cruzi* está compuesto de poblaciones heterogéneas, por lo cual ha sido subdividido en seis unidades discretas de tipificación (DTU). Recientes estudios han demostrado un patrón de multiclonos en los aislamientos de *T. cruzi* obtenidos a partir de humanos, insectos vectores y reservorios. El objetivo de este trabajo fue evaluar un nuevo protocolo para la clonación celular de aislamientos de *T. cruzi*.

Materiales y métodos. Se seleccionaron 10 aislamientos colombianos de *T. cruzi* provenientes de humanos, insectos vectores y reservorios. Se realizó la curva de crecimiento de los aislamientos y se sincronizaron con pases sucesivos. Se hizo el cálculo por medio de la distribución de Poisson, con el fin de obtener la verosimilitud de un parásito por pozo; se confirmó la presencia de

un único parásito por pozo mediante microscopio invertido. Este pozo se lavó con LIT y se pasó a un medio bifásico hasta observar crecimiento. Se obtuvieron de 5 a 10 clones por aislamiento, los cuales se sometieron a extracción de ADN y análisis mediante 10 marcadores microsatélites para observar la ausencia de multiclonales dentro de un mismo clon.

Resultados y conclusiones. A partir de los resultados de los marcadores microsatélites, se observó ausencia de multiclonos entre todos los clones, incluyendo diferencias entre clones de los mismos aislamientos, lo que corrobora el patrón de multiclonales observado en este parásito. Nuestros resultados nos permiten proponer la estrategia de dilución limitante en aislamientos de *T. cruzi* como una alternativa eficiente y rápida para realizar la clonación celular de este parásito, con el propósito de adelantar estudios de epidemiología molecular, inmunología y proteómica, entre otros.



Distribución de *Trypanosoma cruzi* en sangre, corazón y músculo esquelético durante la etapa aguda de la infección experimental

M. Silvina Lo Presti, Samuel Bordigoni, Blanca Esteves, Carolina Bazán, Walter Rivarola, Patricia Paglini
Cátedra de Física Biomédica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina

Introducción. La amplia gama de signos clínicos que caracterizan a la enfermedad de Chagas puede explicarse en parte por la heterogeneidad genética del parásito y por la distribución de los diferentes clones de *Trypanosoma cruzi* en un mismo individuo. Por ello, en el presente trabajo se determinó la distribución y presencia de dos aislamientos diferentes de *T. cruzi* en sangre, corazón y músculo esquelético durante la etapa aguda de la infección experimental (35 días después de la infección).

Materiales y métodos. Se infectaron ratones albino suizos (n=30) con 50 parásitos de cada aislamiento del parásito [Tulahuen (T) y SGO Z12 (Z)] o con una mezcla de ambos (TZ). Su presencia en los diferentes tejidos se determinó por PCR específica para *T. cruzi*. Se determinó la cantidad de parásitos en sangre por conteo en cámara de Neubauer. Las alteraciones tisulares se analizaron mediante estudios histopatológicos.

Resultados. Los cortes de corazón y músculo esquelético del grupo Z presentaron leves infiltrados inflamatorios y ausencia de nidos de amastigotes.

Los grupos T y TZ presentaron intensos infiltrados inflamatorios en corazón y presencia de nidos de amastigotes en músculo esquelético. Las PCR específicas para *T. cruzi* fueron positivas para las muestras de sangre y para corazón y músculo esquelético de estos grupos.

Conclusiones. Los presentes resultados muestran una distribución tisular del parásito, aun en músculo cardíaco desde etapas tempranas de la infección. La presencia de parásitos en los cortes de músculo esquelético confirma la importancia de este órgano como reservorio de parásitos. Además, se observó una correlación entre la observación de nidos de amastigotes en músculo esquelético y la presencia de infiltrados inflamatorios graves en el corazón de los mismos animales infectados.

• • •

Proliferación de formas evolutivas de *Trypanosoma cruzi* en el aparato reproductor de ratones machos con infección aguda

Maritza Alarcón, Karina Cáceres, Ana Lugo de Yarbuh, Sonia Araújo, Elio Moreno
Laboratorio de Parasitología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

Introducción. *Trypanosoma cruzi* presenta diferente morfología en su ciclo biológico. En el huésped vertebrado, se ha descrito la transmisión del parásito por vía sexual, encontrándose formas tripomastigotas y amastigotas en los tejidos reproductores.

Objetivo. El presente estudio consistió en detectar la presencia de *T. cruzi* en el aparato reproductor y en el semen de ratones con infección aguda.

Materiales y métodos. Se inocularon 15 ratones machos NMRI por vía subcutánea con 2×10^4 tripomastigotes metacíclicos de la cepa M/HOM/VE/09/P6 linaje Tcl. Entre los 15 y 18 días después de la infección se separaron muestras del semen de cada ratón para el examen directo y coloración con Giemsa al 20 %. A los 21 días después de la infección, los animales fueron sacrificados con vapores de cloroformo y se extrajeron los testículos, conductos deferentes, vesículas seminales y penes. Se colorearon secciones histológicas de 7 μ m con hematoxilina-eosina para el estudio histopatológico.

Resultados. El estudio anatómico reveló lesiones necróticas en el pene de 8/15 (53,3 %) ratones con infección aguda. A los 15 días después de la infección, el examen directo del semen de un ratón reveló la presencia de epimastigotes de *T.*

cruzi junto con los espermatozoides. Los frotis del semen teñidos con Giemsa mostraron formas epimastigotas, tripomastigotas y amastigotes libres. Se observaron nidos de amastigotes en los conductos deferentes de 4/15 ratones (26,6 %), e infiltrados inflamatorios, en las secciones de penes y testículos.

Conclusiones. El parasitismo en el fluido seminal y en los conductos deferentes de los ratones con infección aguda, aporta información sobre la vía de transmisión sexual de *T. cruzi*. Las diferentes formas evolutivas de *T. cruzi* encontradas en el semen de un ratón, fueron similares a las observadas en el intestino del insecto vector, hallazgo epidemiológico importante en la transmisión del parásito entre roedores de áreas urbanas, donde la enfermedad de Chagas ha reemergido como un problema de salud pública.

• • •

Resistencia a las reinoculaciones en la evolución de la infección chagásica experimental en crías de ratas Wistar

Nora E. Mogollón¹, Elio Moreno¹, Maritza Alarcón, Ana Lugo de Yarbuh¹, Rafael Borges²

¹ Laboratorio de Parasitología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela

² Departamento de Estadística, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela

Introducción. En áreas endémicas de la enfermedad de Chagas, muchos individuos están expuestos a infecciones múltiples por *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) debido a la posibilidad de contacto con triatominos (Reduviidae: Triatominae) infectados.

Objetivo. Investigar la resistencia a las reinoculaciones con formas metacíclicas de cepas homólogas y heterólogas de *T. cruzi*, en la evolución de la infección en crías de ratas chagásicas.

Materiales y métodos. Se utilizaron 30 crías de madres infectadas con *T. cruzi* Planalto y 30 de madres sanas. Ambos lotes se dividieron en tres grupos de 10 cada uno. A las crías de los grupos (1,4) y (2,5), se les practicaron tres inoculaciones por vía intradérmica con inóculos de 5×10^4 formas metacíclicas de tripomastigotes de *T. cruzi* Planalto (cepas homóloga) y *T. cruzi* Y (cepa heteróloga), con intervalos de un mes. Los grupos controles infectado y sanos (3,6) recibieron inyecciones de solución fisiológica salina.

En cada grupo re infectado, la parasitemia y los niveles de anticuerpos anti-*T. cruzi* fueron evaluados a los 10, 20 y 30 días después de la

reinoculación. A los 45, 75 y 105 días después de la reinoculación, 4 ratas de cada grupo fueron sacrificadas para extraer el corazón y músculo esquelético. Secciones de 6 μ se obtuvieron para su estudio histopatológico e inmunohistoquímico.

Resultados. 1) Las crías de los grupos (1,4) y (2,5) mostraron niveles de parasitemias variables durante la fase aguda de la infección, con valores promedios de $55,2 \pm 36,8$; $94,2 \pm 41,8$ y $14,3 \pm 14,2$; $35,4 \pm 18,4$ tripomastigotes/mm³ a los 20 días después de la infección. En la primera y la segunda reinoculación no se observaron tripanosomas en sangre.

2) Se observó incremento en los niveles de anticuerpos a partir de la primera reinoculación.

3) Hubo alteraciones histológicas apreciables en el corazón y músculo esquelético con instauración progresiva de una miocarditis y miositis aguda de variable intensidad acompañada de escasos nidos de amastigotes y agravamiento del cuadro patológico producido por la inoculación inicial.

4) Se observaron abundantes depósitos antigénicos que se intensificaron con las reinoculaciones.

Conclusiones. Se observó resistencia de las crías a las reinfecciones (cepas homólogas) y cepas heterólogas, producida primero por la transferencia vertical de *T. cruzi* de anticuerpos humorales desde las madres infectadas a su progenie, y segundo, por un proceso de sensibilización del huésped, por las continuas descargas antigénicas producidas al ser destruidos los parásitos reinoculados.



Comportamiento dual del ácido acetilsalicílico en ratones infectados con *Trypanosoma cruzi*

Rodrigo López-Muñoz¹, Alfredo Molina¹, Mario Faúndez², Gloria Torres¹, Sebastián Escanilla¹, Ulrike Kemmerling³, Antonio Morello¹, Juan Diego Maya¹

¹ Programa de Farmacología Molecular y Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile

² Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

³ Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Introducción. La enfermedad de Chagas, producida por *Trypanosoma cruzi*, es una parasitosis endémica en Latinoamérica. El daño cardíaco inducido por *T. cruzi* se ha relacionado con el aumento de derivados del ácido araquidónico, como prostaglandinas y tromboxanos. La literatura científica reporta resultados muy variables al administrar inhibidores de ciclooxigenasa como

ácido acetilsalicílico en modelos de ratones infectados con *T. cruzi*.

El siguiente trabajo muestra un comportamiento dual del ácido acetilsalicílico en ratones infectados con *T. cruzi* en un modelo *in vivo*, dependiente de la dosis administrada.

Materiales y métodos. Se infectaron ratones Balb/c con tripomastigotes de *T. cruzi*, cepa Dm28c. El tratamiento se inició 24 horas después de la infección, con ácido acetilsalicílico a dosis de 25, 50, 75 y 100 mg/kg, administrados en el agua de beber. Se siguió la supervivencia y se determinó la parasitemia por conteo microscópico directo. Se hizo el análisis histológico de los corazones de ratones infectados y tratados, con tinción de hematoxilina/eosina.

Resultados. El ácido acetilsalicílico a 25 mg/kg mostró un efecto terapéutico en la infección por *T. cruzi*: aumentó significativamente la supervivencia de los ratones infectados, disminuyó significativamente los máximos de parasitemia que se registran al día 8 y 14 después de la infección, y disminuyó el daño cardíaco. Todos estos parámetros fueron revertidos al aumentar la dosis de ácido acetilsalicílico, en un comportamiento dependiente de la dosis; de esta manera, 75 y 100 mg/kg ya no presentaron diferencias respecto al control en cuanto a la supervivencia, la parasitemia y la histología cardíaca.

Conclusiones. El ácido acetilsalicílico a dosis de 25 mg/kg tiene actividad antichagásica *in vivo*. Este efecto se pierde al aumentar la dosis, dando cuenta de un comportamiento dual del ácido acetilsalicílico, dependiente de la dosis administrada. Estos resultados ayudan a comprender la variabilidad encontrada en los diferentes reportes de la literatura científica que estudian el ácido acetilsalicílico como agente antichagásico.

Financiación. Proyectos FONDECYT-1090078 y ACT-112



Caracterización biológica de aislamientos clínicos de pacientes con enfermedad aguda de Chagas en Santander

Sandra Leal¹, Martha Díaz², Clara González², Patricia Escobar¹

¹ Universidad Industrial de Santander, Laboratorio de Quimioterapia, Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales, Bucaramanga, Santander

² Grupo de Investigación en Inmunología y Epidemiología Molecular, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Santander

Introducción. La aparición de casos agudos de la enfermedad de Chagas en los últimos años, agrava el panorama de la enfermedad en el país. Conocer el comportamiento biológico de estas cepas es prioritario, por sus implicaciones en el tratamiento y control.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar biológicamente aislamientos clínicos obtenidos de pacientes con enfermedad aguda de Chagas en el municipio de Girón, Santander.

Metodología. Se aislaron cuatro cepas de *T. cruzi* de pacientes con enfermedad aguda de Chagas, con edades comprendidas entre 6 y 20 años, y una cepa se aisló de un paciente crónico en el mismo departamento. Se determinó la metaciclogénesis en medio Grace, la capacidad infecciosa de tripomastigotes en células Vero y la producción de tripomastigotes derivados de células. Igualmente, se determinó la sensibilidad al nifurtimox y benznidazol.

Resultados. Se observó una menor transformación epimastigotes:tripomastigotes en los aislamientos de enfermos agudos con respecto al aislamiento de crónicos, con valores de $1,0-2,2 \times 10^5$ tripomastigotes/ml *versus* $2,8 \times 10^6$ tripomastigotes/ml.

Los tripomastigotes de todas las cepas fueron infecciosos en células Vero, con aumento del número de amastigotes intracelulares con respecto al tiempo de infección.

El número de tripomastigotes derivados de células de la cepa crónica fue mayor que el de las agudas, con valores de $3,8 \times 10^6$ tripomastigotes/ml *versus* $1,1-1,9 \times 10^6$ tripomastigotes/ml. La sensibilidad a los medicamentos fue similar, siendo éstas más sensibles al nifurtimox (CI_{50} 2,2-4,9 μ M) que al benznidazol (CI_{50} 20,7-32,5 μ M).

Conclusiones. Se observaron similitudes en el comportamiento biológico entre las cuatro cepas obtenidas del mismo brote, por lo que se infiere que se encuentran involucradas poblaciones similares de parásitos. Se encontraron diferencias en algunas características con la cepa crónica; sin embargo, la sensibilidad a los medicamentos de referencia fue similar, lo cual apoya el uso de esquemas similares de tratamiento.

Eficiencia de un método para la confirmación de la proliferación de *Trypanosoma cruzi* en el líquido ascítico de ratones con infección aguda

Sonia Araújo, Maritza Alarcón, Ana Lugo de Yarbu, Elio Moreno

Laboratorio de Parasitología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela

Introducción. Se ha documentado el hallazgo de *Trypanosoma cruzi* en la cavidad peritoneal de pacientes con enfermedad de Chagas e inmunosuprimidos; sin embargo, no hay reportes para determinar el curso de la parasitemia en el líquido ascítico de animales experimentales.

Objetivo. El estudio consistió en estandarizar una técnica para el seguimiento secuencial de *T. cruzi* en el líquido ascítico de ratones con infección aguda.

Materiales y métodos. Se inocularon 24 ratones NMRI por vía subcutánea con 2×10^4 tripomastigotes metacíclicos de las cepas P6, P11, NKD y MAS de *T. cruzi* linajes Tcl. Entre los 5 y 49 días después de la infección, los ratones presentaron intensa distensión abdominal. Durante este tiempo, los ratones fueron inmovilizados e inyectados en el cuadrante inferior izquierdo con 300 μ l de solución fisiológica estéril. Cinco minutos después de la inyección se extrajeron muestras de 50 μ l de líquido ascítico de la cavidad peritoneal de cada ratón. Las muestras interdiarias de líquido ascítico fueron revisadas por examen directo y en muestras coloreadas con Giemsa al 20 %.

Resultados. Las muestras de líquido ascítico se observaron libres de contaminación y de sangre. La cuantificación de las formas de *T. cruzi* fue significativamente mayor en el líquido ascítico de los ratones infectados con las cepas NKD y MAS, y con un periodo de patencia de 15 a 20 días en los cuatro grupos. Las preparaciones con líquido ascítico coloreadas con Giemsa mostraron formas tripomastigotes libres.

Conclusiones. Con la técnica descrita se extrajeron 552 muestras de líquido ascítico para realizar estudios *in vivo* y en muestras teñidas. Resultó ser confiable y de bajo costo, y aumentó la probabilidad de observar la proliferación de parásitos en zonas atípicas como la cavidad peritoneal, sin causar alteraciones físicas a los animales. *T. cruzi* en el líquido ascítico pudiera atribuirse a la presencia de lípidos, ácidos grasos y ácido hialurónico, sustancias que mantienen un ambiente adecuado para la multiplicación del parásito.

