



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**“CARACTERIZACIÓN DE LA INFECCIÓN CON DOS CEPAS DE  
*Trypanosoma cruzi* EN UN MODELO MURINO”**

**Roberto González Kaelin**

Memoria para optar al Título Profesional de  
Médico Veterinario  
Departamento de Medicina Preventiva Animal.

PROFESOR GUÍA: Dr. Ulises Vergara C.  
Departamento de Patología Animal  
FINANCIAMIENTO PROYECTO LIHBAC-001/13

SANTIAGO, CHILE  
2014



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**“CARACTERIZACIÓN DE LA INFECCIÓN CON DOS CEPAS DE  
*Trypanosoma cruzi* EN UN MODELO MURINO”**

**Roberto González Kaelin**

Memoria para optar al Título Profesional de  
Médico Veterinario  
Departamento de Medicina Preventiva Animal.

NOTA FINAL : .....

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUIA : Dr. Ulises Vergara C.	.....	.....
PROFESOR CONSEJERO : Dr. Pedro Cattán A.	.....	.....
PROFESOR CONSEJERO : Dr. Claudio Zuñiga M.	.....	.....

SANTIAGO, CHILE  
2014

## RESUMEN

En el presente trabajo, se analizó la evolución de la infección con *Trypanosoma cruzi*, en ratones Balb/c experimentalmente infectados con 2.000 trypomastigotes sanguíneos de la cepa Tulahuén o del clon Dm28c del parásito, evaluando no sólo prepatencia y niveles de parasitemia, sino también su correlación con el número de pseudoquistes, la magnitud del daño inflamatorio, en el tejido cardíaco y músculo esquelético y la mortalidad acumulada de los ratones infectados.

Los resultados mostraron una prepatencia, similar, de 5 días en ambos grupos de ratones. En relación al nivel máximo de parasitemia, este alcanzó un máximo de  $16,23 \pm 2,21 \times 10^5$  parásitos/mL a los 11 día post infección, en los ratones infectados con la cepa Tulahuén, y que no fue significativamente distinto del nivel máximo de,  $19,37 \pm 1,78 \times 10^5$  parásitos/mL, alcanzado por los ratones infectados con el clon Dm28c, a los 19 días post infección ( $p > 0,05$ ). Todos los ratones sucumbieron a la infección con *T. cruzi*, alcanzando un 100% de mortalidad acumulada a los 19 días post infección con la cepa Tulahuén y a los 21 días en aquellos infectados con el clon Dm28c.

El estudio histopatológico mostró un número similar de pseudoquistes, tanto en el tejido cardíaco, como en músculo esquelético de ambos grupos de ratones infectados con *T. cruzi*. No se observaron diferencias en la evolución del daño inflamatorio en músculo esquelético de todos los ratones infectados; sólo se observaron diferencias en la evolución del daño inflamatorio en el tejido cardíaco. En los ratones infectados con la cepa Tulahuén, el daño inflamatorio en el tejido cardíaco se inicia tempranamente en la primera semana post infección y alcanza su mayor severidad y magnitud a partir de la segunda semana post infección experimental. En los ratones infectados con el clon Dm28, en cambio, el aumento en el número de pseudoquistes y en la magnitud y severidad del daño cardíaco es de más lenta evolución alcanzando su mayor expresión a los 21 días post infección experimental.

**Palabras clave:** Enfermedad de Chagas, aislados de *Trypanosoma cruzi*, estudio histopatológico, infiltrado inflamatorio

## ABSTRACT

In this work the course of *Trypanosoma cruzi* infection in Balb/c mice, experimentally infected with 2000 blood trypomastigotes from the Tulahuen strain or clone Dm28c of the parasite was analysed, by evaluating not only prepatency, parasitemia levels and accumulated mortality, but also to establish their eventual association with the number of pseudocysts, the magnitude of the inflammatory infiltrates, the severity of tissue damage in the heart and skeletal muscle and finally, with the accumulated mortality in infected animals.

Both groups of experimentally infected mice showed a similar prepatent period of 5 days. The maximum parasitemia level of  $16.23 \pm 2.21 \times 10^5$  parásitos/mL reached by the Tulahuén infected mice at 11 days of infection, was not significantly different ( $p > 0.05$ ) from the maximum level of  $19.37 \pm 1.78 \times 10^5$  parásitos/mL reached by the clone Dm28c infected animals at 19 days post infection. All the Tulahuen or clone Dm28c infected mice showed 100% of accumulated mortality at the third week of *T. cruzi* infection

Histopathological studies showed similar numbers of pseudocysts not only in heart tissue but also in skeletal muscle and no differences in the inflammatory tissue infiltrates were found between Tulahuen and clone Dm28c infected mice. However, the Tulahuen infected animals showed earlier inflammatory damage (at the second week of infection), than the clone Dm28c infected mice

**Key words:** Chagas disease, *Trypanosoma cruzi* isolates, histopathological study, inflammatory infiltrate.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas, causada por *Trypanosoma cruzi*, constituye un importante problema de salud pública y, después de la Malaria, es la enfermedad parasitaria más importante en Latinoamérica, existiendo entre 16 a 18 millones de personas infectadas y cerca de 80 millones en riesgo de infección. Se estima que, dada su condición endemo-zoonótica, la enfermedad presenta un millón de nuevos casos por año y causa, anualmente, la muerte de 15.000 personas en esta región del continente americano (OMS, 2010; Rodríguez y Albajar, 2010).

El agente causal de la Enfermedad de Chagas, es el protozoo hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* que, debido a la elevada diversidad genética de sus distintos aislados o cepas, muestra virulencia y patogenicidad variable para los distintos hospederos. A pesar que la enfermedad se encontraba inicialmente restringida sólo al continente americano (desde el sur de los Estados Unidos, hasta el paralelo 41°, latitud sur, en Chile y Argentina), la globalización del comercio y el aumento de las migraciones, la han convertido, hoy en día, en un problema latente de salud, tanto para la comunidad europea como para el resto del mundo (Rodríguez y Albajar, 2010, Clayton 2010). En Chile, el área endémica se extiende desde la región de Arica y Parinacota por el norte a la región del Libertador General Bernardo O'Higgins por el sur, incluyendo la región Metropolitana (Fuentes, 2012).

Debido a la capacidad biológica del parásito para invadir virtualmente cualquier célula nucleada del hospedero mamífero, la infección con *Trypanosoma cruzi* resulta, luego de un período de incubación de siete a 10 días, en una infección aguda con parásitos libres en el torrente sanguíneo, proliferación y diferenciación del parásito, e infiltrado inflamatorio y daño progresivo en los tejidos infectados. Aún cuando los parásitos pueden inducir una significativa respuesta inmune durante esta fase aguda de cuatro a ocho semanas de duración, ella es finalmente incapaz de eliminar la infección que luego de un período indeterminado o latente de dos a cuatro meses, entrará en una fase crónica caracterizada por una disminución en el número de parásitos y por un daño tisular que afecta principalmente al corazón y/o al tracto gastrointestinal. Este daño tisular conduce finalmente a la presentación de distintas formas clínicas de la enfermedad (cardiaca, digestiva o mixta) durante esta fase crónica, que se prolongará durante toda la vida del paciente infectado.

En condiciones naturales, el parásito es capaz de infectar a numerosas especies de mamíferos tanto domésticos como silvestres y, desde el punto de vista experimental, el modelo murino se ha convertido en uno de los modelos más exitosos o más ampliamente utilizados, en el estudio de la infección con *T. cruzi*, debido al fácil manejo de los animales y porque imita muchos aspectos de la enfermedad humana, incluyendo el daño tisular y los mecanismos efectores de respuesta inmune involucrados en el control del parásito (Andrade y Magalhaes, 1996, Andrade et al., 2002). Por otra parte, distintas cepas puras de ratones difieren en la susceptibilidad o resistencia a la infección con *T. cruzi*, existiendo al parecer un complejo control genético de los niveles de parasitemia, de la naturaleza y magnitud del daño tisular y de la supervivencia de los animales infectados (Wrightsmán *et al.*, 1982). Sin embargo, aun cuando se ha estudiado el rol de diversos factores dependientes tanto del parásito (virulencia y tropismo celular de distintos aislados o cepas de *T. cruzi*, dosis o número de parásitos en la infección inicial, sitio o tejido de ingreso de los mismos) (Andrade *et al.*, 2010), como de factores propios del hospedero (sexo, edad, repertorio genético asociado a los distintos mecanismos de respuesta inmune) (Zúñiga *et al.*, 2012a) en la evolución de la enfermedad, aún no se ha logrado establecer, con certeza, los factores directamente involucrados en los fenómenos de resistencia o susceptibilidad a la infección (Hoft et al., 1993; Andrade et al., 1999, Zúñiga *et al.*, 1998, Zúñiga *et al.*, 2007, Zúñiga *et al.*, 2012a, b).

En el presente trabajo, se estudió la evolución de la infección en ratones Balb/c experimentalmente infectados con la cepa Tulahuén o el clon Dm28c de *Trypanosoma cruzi*, analizando no sólo las diferencias en prepatencia, niveles de parasitemia y mortalidad en los dos grupos de animales infectados, sino también comparando el número de pseudoquistes y la magnitud del daño tisular a través de la determinación histopatológica de focos inflamatorios, número de células inflamatorias, necrosis, daño vascular y fibrosis en el tejido cardiaco y músculo esquelético de las ratones infectados con el parásito.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

**Ratones.** En el estudio se utilizaron dos grupos de 10 ratones machos de la cepa Balb/c de diez semanas de edad, que provienen originalmente del Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine, U.S.A.

**Parásitos.** La infección experimental se realizó utilizando tripomastigotes sanguíneos del clon Dm28c de *T. cruzi* (Contreras *et al.*, 1988) y de la cepa Tulahuén aislada en Chile a partir de un paciente Chagásico de la Comuna del mismo nombre (Pizzi, 1957). Estos parásitos se mantienen *in vivo* en la Unidad de Mantención de Animales de Experimentación del Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, mediante el traspaso semanal de tripomastigotes en ratones Balb/c.

**Modelo de infección experimental.** Para la obtención de parásitos, se extrajo 0,6 mL de sangre mediante punción cardíaca de un ratón Balb/c infectado con el clon Dm28c de *T. cruzi*, y sacrificado cumpliendo con las normas bioéticas establecidas en el Manual de Normas de Bioseguridad de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT), Chile. La sangre así extraída se colocó en un tubo estéril conteniendo 0,1 mL de citrato de sodio, como anticoagulante y, luego de diluir 10 uL de sangre infectada en 490 uL de suero fisiológico estéril, se hizo un recuento de parásitos en cámara de Neubauer. Este procedimiento permitió determinar la cantidad de parásitos totales en los 0,6 mL de sangre extraídos del ratón experimentalmente infectado y realizar las diluciones seriadas en suero fisiológico estéril, requeridas para obtener 2000 parásitos en 0,2 mL de volumen, que se inoculó por vía intraperitoneal en cada uno de los ratones de los grupos experimentalmente infectados. Además, se utilizó como control negativo un grupo de cinco ratones machos de la cepa Balb/c de 10 semanas de edad, que se inocularon con 0,2 mL de sangre de ratones Balb/c no infectados y diluida de manera similar a los grupos infectados. Estos ratones se sangraron en forma paralela a los grupos experimentalmente infectados, para establecer que las alteraciones y eventual muerte de los animales experimentales se debe a la infección con *T. cruzi* y no a variables como una eventual anemia provocada por las sucesivas sangrías realizadas durante el desarrollo del estudio.

**Estudio de Parasitemia.** Para determinar la prepatencia y la eventual variación en el número de parásitos libres en circulación, los ratones experimentalmente infectados se sangraron cada dos días a partir del tercer día post infección (p.i.) y los niveles de parasitemia se analizaron hasta la negatividad de los mismos o hasta la muerte de los ratones infectados. La sangre, obtenida desde la vena caudal, se recolectó en tubos de micro hematocrito heparinizados y, luego de centrifugar a 700 g por cinco minutos, se dejó reposar por 30 minutos en estufa a 37° C, para medir el

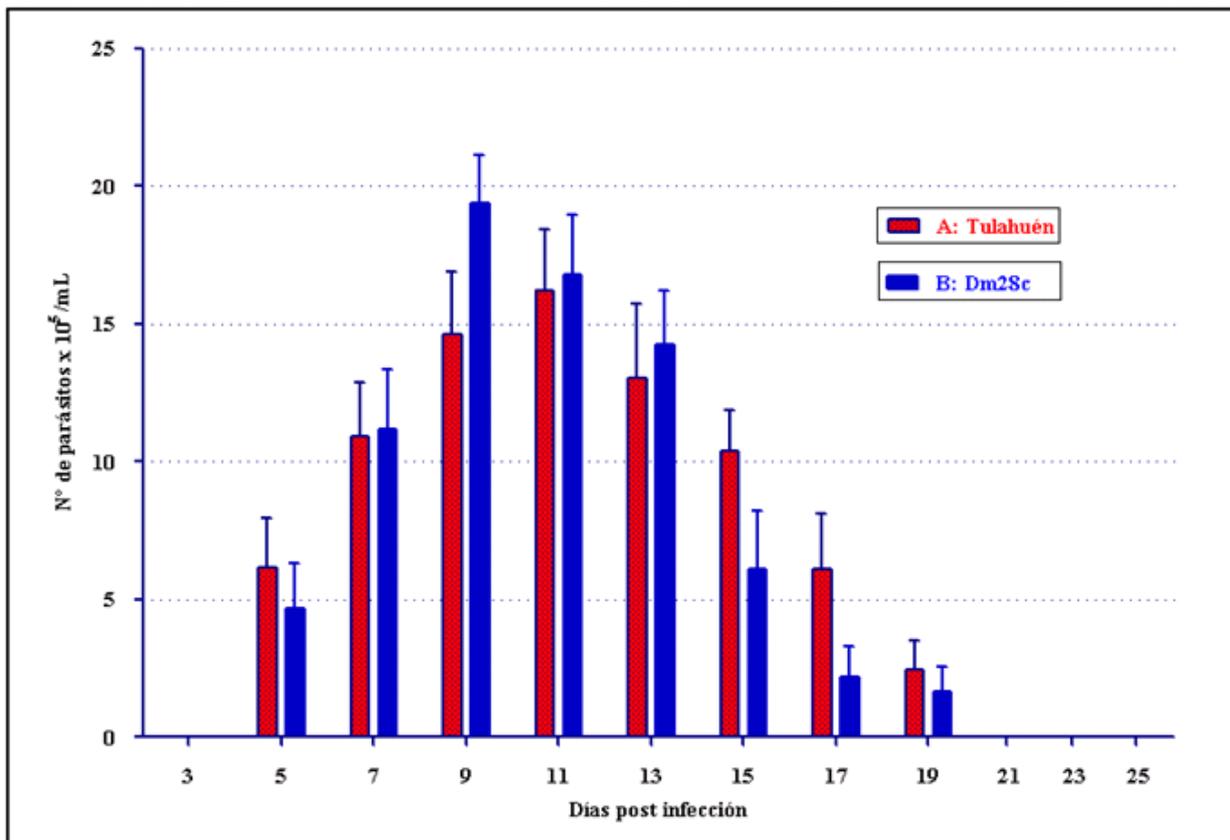
volumen de sangre en cada tubo. Finalmente cada una de las muestras se colocó en un portaobjeto para determinar el número de parásitos en 50 campos elegidos al azar y utilizando un aumento de 400x. Los resultados se expresaron como el promedio de parasitemia del grupo y la desviación estándar correspondiente, de acuerdo al método descrito por de Arias y Ferro (1988).

**Estudio histopatológico.** Para el estudio histopatológico de tejido cardíaco y músculo esquelético se sacrificó un ratón de cada grupo a los días 7, 14 y 19 para los ratones infectados con la cepa Tuluahuén y los días 7, 14 y 21 para aquellos infectados con el clon Dm28c, cumpliendo con las normas bioéticas establecidas en el Manual de Normas de Bioseguridad de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT), Chile. La extracción de tejidos se realizó en condiciones estériles, sacrificando los animales en un gabinete de bioseguridad Forma Scientific Class IIA/B3, mediante CO<sub>2</sub> administrado por vía inhalatoria. El corazón y músculos *gastrocnemius* así extraídos, se fijaron en Bouin-formalina 10% e incluido en parafina (López *et al.*, 1982), y se utilizaron para realizar cortes de 5 µm, que luego se tiñeron con hematoxilina-eosina. Finalmente, la severidad del daño tisular (infiltración, hiperemia, edema, hemorragia, necrosis, cambios degenerativos) y la presencia de pseudoquistes se realizó utilizando un aumento de 100X. La intensidad de las lesiones fue evaluada en conformidad a la severidad de la infiltración inflamatoria, utilizando el siguiente criterio: (-) a tejido preservado y sin signos aparentes de inflamación o daño tisular; (+) lesiones inflamatorias mínimas con discreto infiltrado leucocitario; (++) lesiones moderadas, con infiltrado leucocitario, hiperemia y edema; (+++) lesiones severas, infiltrado leucocitario, hiperemia, edema y necrosis. El tropismo tisular y número de parásitos intracelulares se evaluó en 10 campos microscópicos de cada corte de tejido, examinados con aumento de 400X y se representó de la siguiente manera: (-) Negativo, ausencia de células parasitadas (pseudoquistes); (+) Leve, presencia de 1-5 células infectadas; (++) Moderado, presencia de 6-10 pseudoquistes; (+++) Severo, presencia de 11 o más pseudoquistes.

**Análisis Estadístico.** Los resultados de los niveles máximos de parasitemia se analizaron mediante un análisis de varianza. El análisis de supervivencia se realizó de acuerdo al método de Kaplan y Meier (1958).

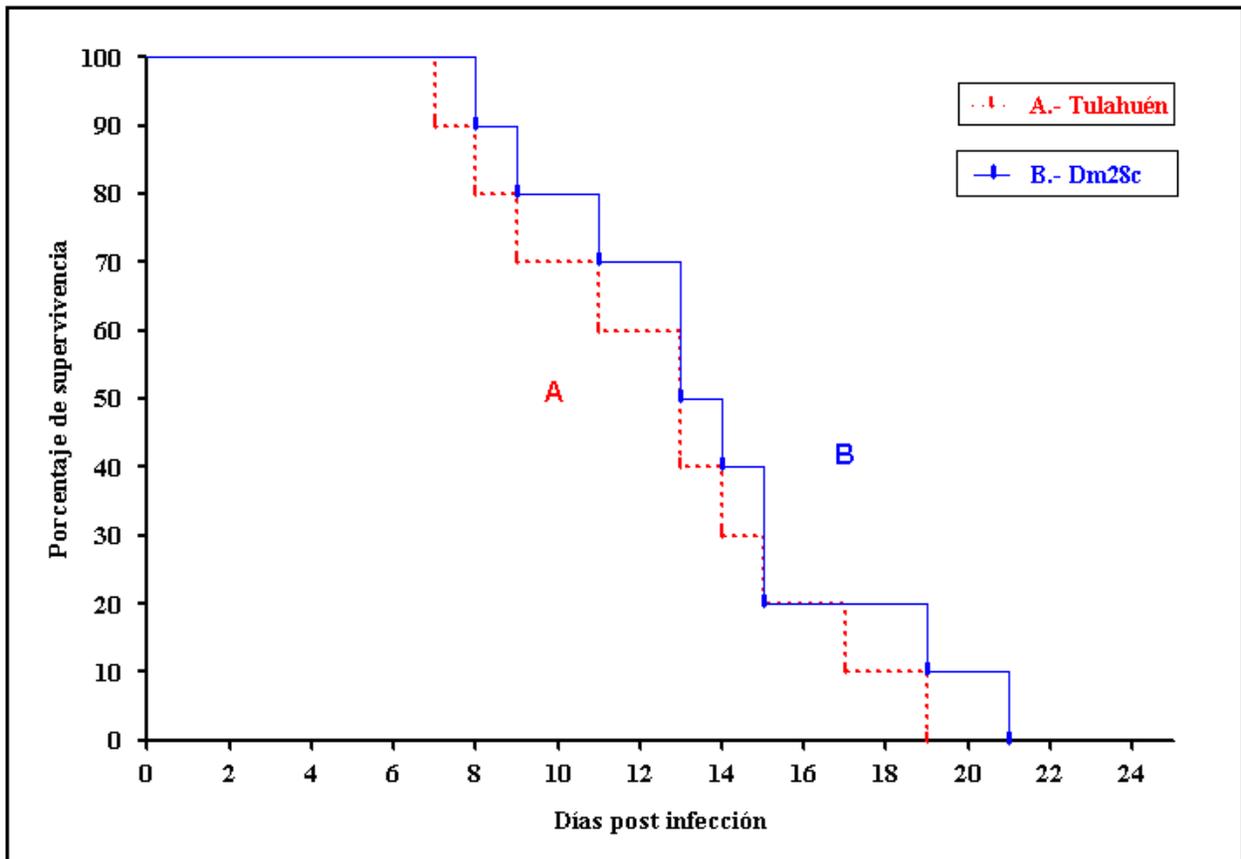
## RESULTADOS

**Niveles de parasitemia y mortalidad acumulada.** En la Figura 1 se muestran los niveles de parasitemia como una forma de expresión del desarrollo de la infección en los ratones de la cepa Balb/c, infectados experimentalmente con tripomastigotes sanguíneos de las cepas Tuluahuén y el clon Dm28c de *T. cruzi*. El período de prepatencia sanguínea fue de cinco días en ambos grupos de ratones infectados y, en relación al nivel máximo de parasitemia, este se detectó a los 9 días para el clon Dm28c ( $19,37 \pm 1,78 \times 10^5$  parásitos/mL) y a los 11 días post infección para la cepa Tuluahuén, alcanzando  $16,23 \pm 2,21 \times 10^5$  parásitos/mL.



**Figura 1.** Evolución de los niveles de parasitemia en ratones Balb/c infectados con 2000 tripomastigotes sanguíneos de la cepa Tuluahuén (A) y del clon Dm28c de *T. cruzi* (B).

La Figura 2 muestra que los ratones infectados con la cepa Tulahuén, presentaron un 100% de mortalidad acumulada a los 19 días p.i., mientras los ratones infectados con el clon Dm28c, alcanzaron 100% de mortalidad a los 21 días post infección inicial.



**Figura 2.** Porcentaje de supervivencia en ratones Balb/c infectados con 2000 tripomastigotes sanguíneos de la cepa Tulahuén (A) y del clon Dm28c de *T. cruzi* (B), de *T. cruzi*.

**Estudio histopatológico.** El daño tisular que acompaña la infección con *T. cruzi* se evaluó mediante la comparación de las lesiones histopatológicas presentes en corazón y músculo esquelético de los ratones infectados con la cepa Tulahuén y aquellos infectados el clon Dm28c del parásito (Tabla 1).

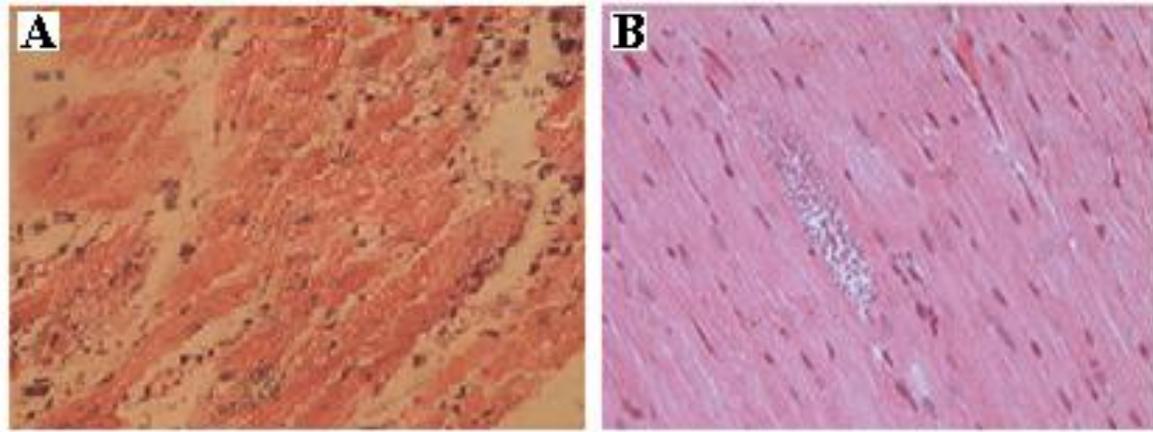
**Tabla 1**

**Estudio histopatológico de cortes de corazón y músculo de ratones Balb/c en el curso de la infección con el clon Dm28c o la cepa Tulahuén de *Trypanosoma cruzi***

Grupo ratones	Tejido	Lesión	7 días p.i.	14 días p.i.	19 días p.i.	21 días p.i.
<b>Clon Dm28c</b>	<b>Corazón</b>	<b>Inflamación</b>	-	-		++
		<b>Necrosis</b>	-	-		++
		<b>Pseudoquistes</b>	<b>Moderado</b>	<b>Severo</b>		<b>Severo</b>
	<b>Músculo</b>	<b>Inflamación</b>	+	++		+++
		<b>Necrosis</b>	+	++		++
		<b>Pseudoquistes</b>	<b>Leve</b>	<b>Moderado</b>		<b>Severo</b>
<b>Cepa Tulahuén</b>	<b>Corazón</b>	<b>Inflamación</b>	+	++	+++	
		<b>Necrosis</b>	-	+	+	
		<b>Pseudoquistes</b>	<b>Leve</b>	<b>Severo</b>	<b>Severo</b>	
	<b>Músculo</b>	<b>Inflamación</b>	+	++	++	
		<b>Necrosis</b>	-	+	+	
		<b>Pseudoquistes</b>	<b>Leve</b>	<b>Severo</b>	<b>Severo</b>	

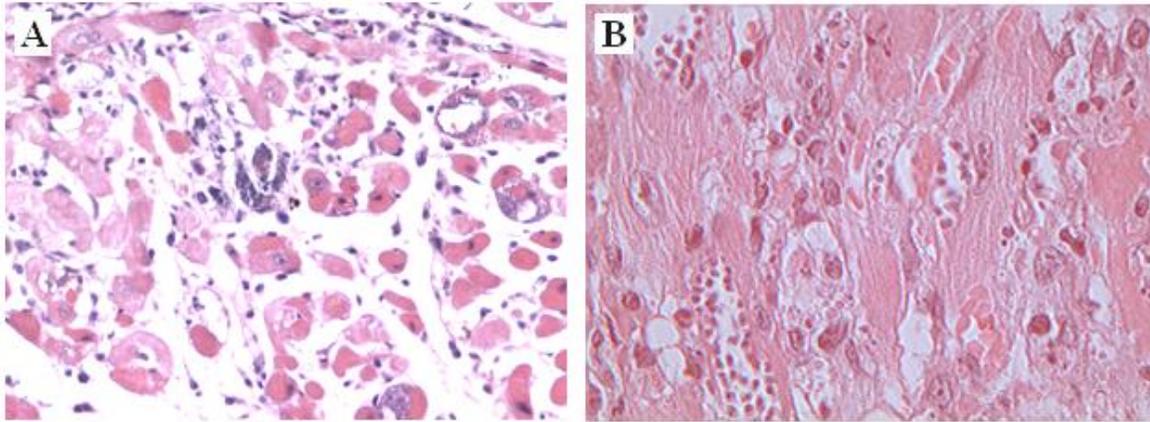
**Pseudoquistes** Leve: 1-5 en 10 campos    Moderado : 6-10 en 10 campos    Severo : más de 11 en 10 campos

Al día siete post infección se detectó la presencia de pseudoquistes tanto en el tejido cardíaco de los ratones infectados con la cepa Tulahuén como en aquellos infectados con el clon Dm28c (Figura 3), sin embargo, sólo en los ratones infectados con la cepa Tulahuén se observó un leve proceso inflamatorio, e infiltrado mononuclear (Figura 3A), mientras que en los ratones infectados con el clon Dm28 no se detectó evidencia de daño tisular (Figura 3B).



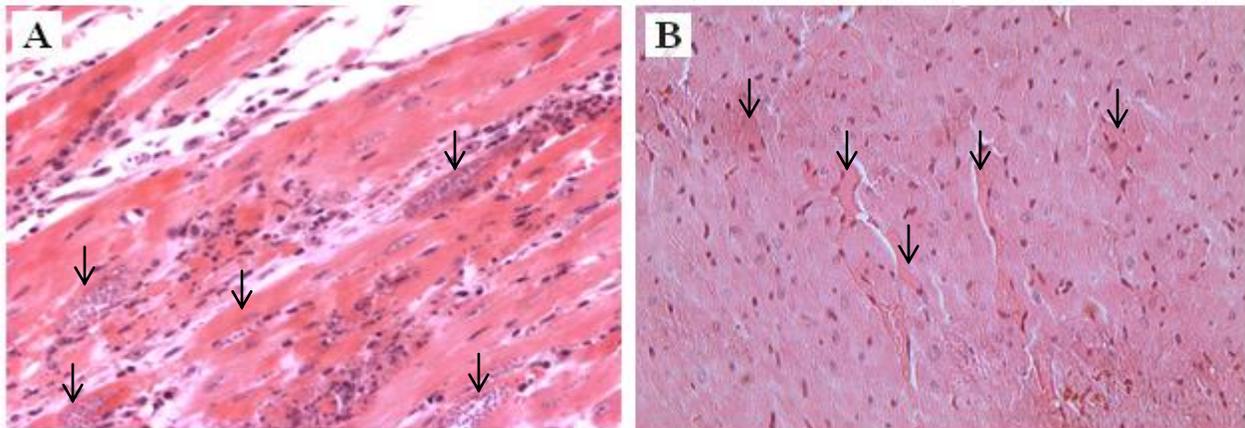
**FIGURA 3.** Tejido cardíaco de ratones infectados con la cepa Tulahuén (A) y el clon Dm28c (B), a los 7 días post infección experimental. Tinción HE. Aumento 400X.

Al día 14 post infección, el tejido cardíaco de los ratones infectados con la cepa Tulahuén (Figura 4) mostró un claro aumento del infiltrado inflamatorio mononuclear y zonas de degeneración tisular y necrosis (Figura 4A), mientras el tejido cardíaco de los ratones infectados con el clon Dm28c, a pesar de presentar un mayor número de pseudoquistes, mostró un escaso daño tisular (Figura 4B).



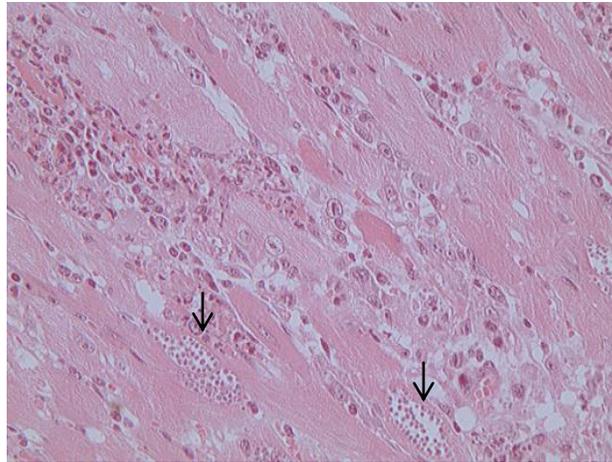
**Figura 4.** Tejido cardiaco de ratones infectados con la cepa Tulahuén (A) y el clon Dm28c (B), a los 14 días post infección. Tinción HE. Aumento 400X.

Al día 19 post infección muere el último de los ratones infectados con la cepa Tulahuén y el estudio histopatológico de su tejido cardiaco (Figura 5), mostró un severo foco inflamatorio asociado a la presencia de numerosos pseudoquistes (Figura 5A) y signos de coagulación vascular diseminada (Figura 5B).



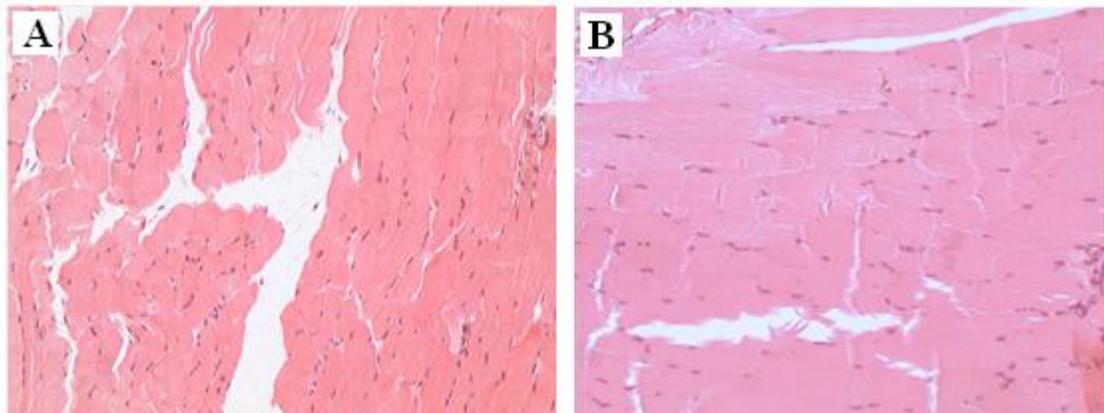
**Figura 5.** Tejido cardiaco de un ratón infectado con la cepa Tulahuén a los 19 días p.i.. Tinción HE. Aumento, 400x.

El tejido cardiaco del ratón sacrificado 21 días después de la infección inicial mostró gran infiltrado inflamatorio y necrosis asociada a la presencia de pseudoquistes de *T. cruzi* (Figura 6).



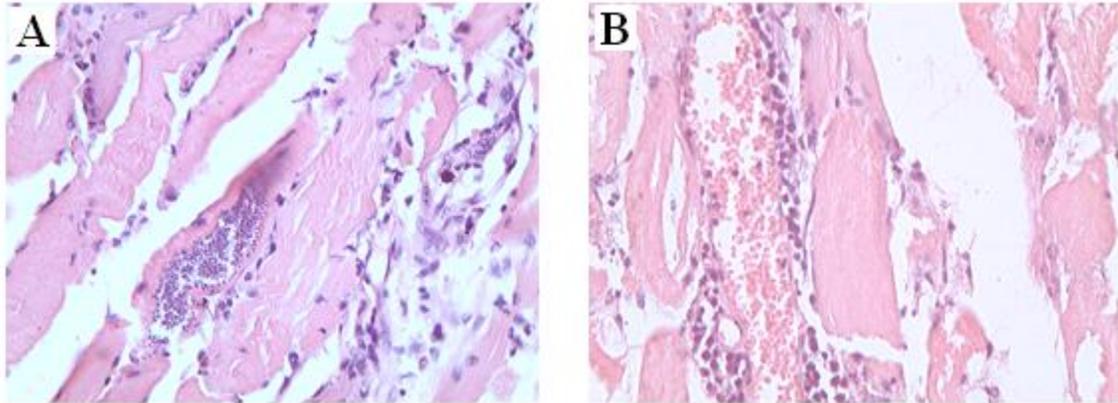
**Figura 6.** Tejido cardiaco de un ratón a los 21 día postinfección infectados con el clon Dm28c. Se observan pseudoquistes (flechas), inflamación y necrosis. Tinción HE. Aumento, 400x.

En músculo esquelético, no se observaron lesiones tisulares o presencia de pseudoquistes, a los 7 días postinfección con la cepa Tulahuén o el clon Dm28c del parásito (Figura 7).



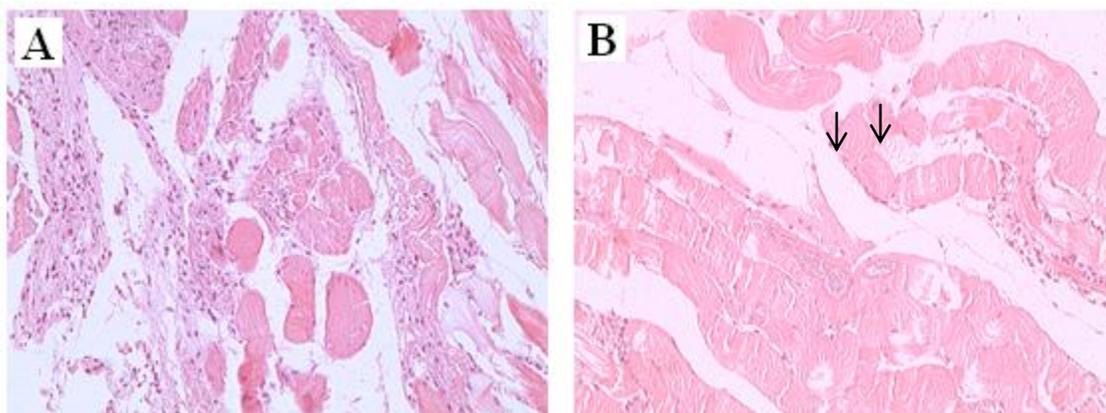
**Figura 7.** Músculo esquelético de ratones infectados con la cepa Tulahuén (A) o el clon Dm28c de *T. cruzi* a los 7 días p.i. No se observan pseudoquistes y no existen lesiones aparentes. Tinción H.E. Aumento 200X.

A los 14 días post infección, se detectó inflamación y necrosis asociada a la presencia de pseudoquistes, tanto en los ratones infectados con la cepa Tulahuén, como en aquellos infectados con el clon Dm28c de *T. cruzi* (Figura 8)

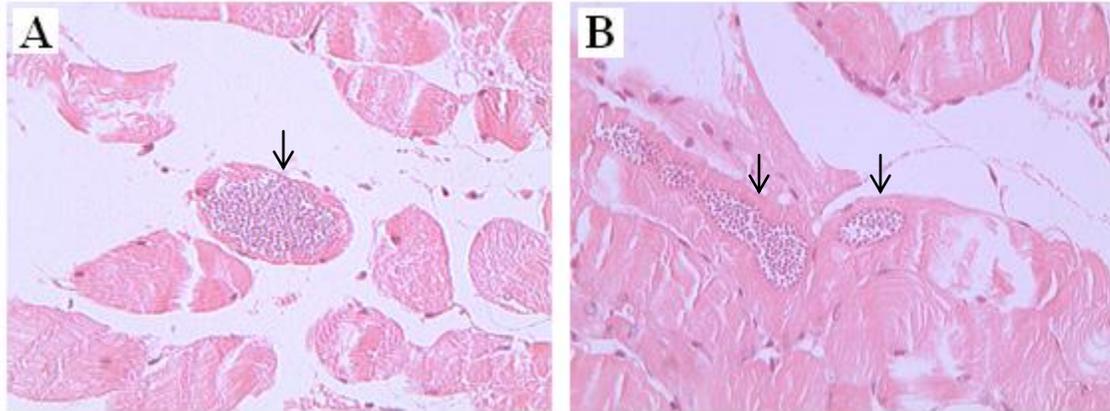


**Figura 8.** Músculo esquelético de ratones infectados con la cepa Tulahuén (A) y el clon Dm28c (B) de *T. cruzi*, a los 14 días p.i. En ambos tejidos se observan pseudoquistes e infiltrado inflamatorio. Tinción H.E. Aumento 400X.

Finalmente, tanto en la muestra de tejido muscular esquelético obtenida al día 19 p.i, del ratón infectado con la cepa Tulahuén (Figuras 9A y 10A), como de aquella obtenida al día 21 p.i. del ratón infectado con el clon Dm28c (Figuras 9B y 10B), se observó un gran número de pseudoquistes e infiltrado inflamatorio mononuclear.



**Figura 9.** Músculo esquelético de ratones infectados con la cepa Tulahuén, a los 19 días p.i ( A) . y del clon Dm28c de *T. cruzi*, a los 21 días p.i. (B). En el corte se observan numerosos pseudoquistes (flechas) e infiltrado inflamatorio. Tinción H.E. Aumento 200X.



**Figura 10.** Músculo esquelético de ratones infectados con la cepa Tulahuén (A) a los 19 días p.i. y del clon Dm28c de *T. cruzi* (B), a los 21 días p.i. En el corte se observa pseudoquistes grandes, abarcando casi la totalidad del diámetro de la fibra muscular al corte transversal en el caso de la cepa Tulahuén. Tinción H.E. Aumento 400X.

## DISCUSIÓN

En la enfermedad de Chagas existe una compleja red de eventos involucrados en el desarrollo de una respuesta inmune protectora así como en el desarrollo de una respuesta autoinmune, que conduce a daño tisular a medida progresa la enfermedad. En el presente estudio, las parasitemias siguen una evolución similar y, por tanto sin diferencias significativas entre los ratones infectados con la cepa Tulahuén y aquellos infectados con el clon Dm28c de *T. cruzi*. Tampoco se encontraron diferencias en la mortalidad acumulada, de manera similar a lo ocurrido con la mortalidad acumulada que en ambos alcanzó el 100% a las 3 semanas post infección experimental. El tropismo celular tanto hacia el tejido cardiaco como hacia el músculo esquelético es también similar para ambos aislados del parásito, sin embargo el daño inflamatorio es mayor, al menos en las primeras dos semanas post infección, en el tejido cardiaco de los ratones infectados con la cepa Tulahuén, que en el tejido cardiaco de los ratones infectados con el clon Dm28c. El daño inflamatorio muestra mayor severidad y el infiltrado celular y la necrosis son muy marcados a los 14 días post infección en los ratones infectados con la cepa Tulahuén, mientras los ratones infectados con el clon Dm28c muestran sólo un gran número de pseudoquistes en ausencia de signos de inflamación, en el mismo periodo. Sin embargo, el infiltrado inflamatorio y el daño tisular aumentan notoriamente en la tercera semana post

infección con el clon Dm28c, alcanzando su máxima expresión a los 21 días post infección experimental. Por lo tanto, a pesar que ambos aislados del parásito inducen 100% de mortalidad acumulada al finalizar la tercera semana post infección, la progresión del daño el daño tisular se inicia tempranamente (segunda semana p.i.), en los ratones infectados con la cepa Tulahuén. En los ratones infectados con el clon Dm28c, aún cuando el daño tisular se expresa más tardíamente (tercera semana p.i) su intensidad y magnitud, resulta similar a aquella producida por la cepa Tulahuén. Estas diferencias pueden asociarse a las características biológicas de estos distintos aislados de *T. cruzi*, que inducen una respuesta autoinmune de más lento desarrollo en los ratones infectados con el clon Dm28c, pero cuyos efectos terminan sumando al daño tisular producido por la presencia del parásito en los tejidos. Estas diferencias podrían ser el resultado de una compleja interacción entre las características biológicas de estos distintos aislados de *T. cruzi* y el desarrollo de reacciones inflamatorias, mecanismos inmunes y autoinmunes de más lento desarrollo en los ratones infectados con el clon Dm28c, pero cuyos efectos terminan sumando al daño tisular producido por la presencia del parásito en los tejidos

Ahora bien, uno de los principales problemas que se presentan en el estudio de la Enfermedad de Chagas, se asocia a las dificultades para establecer una correlación entre las distintas formas clínicas de la enfermedad con las características genético/biológicas de las distintas cepas o aislados del parásito, prevalentes en cada área geográfica y/o con las diferencias genéticas existentes entre las poblaciones humanas susceptibles a la infección (García, 2011; Moreira et al., 2013).

El parásito *Trypanosoma cruzi*, es un organismo que presenta una gran variabilidad genética, de manera tal que una cepa o aislado del parásito corresponde a una población constituida por varios clones, lo que conduce a diferencias en el comportamiento entre distintos linajes, que pueden identificarse mediante marcadores genéticos, moleculares o inmunológicos (Duffy, 2010). El rol de esta diversidad genética del parásito en las distintas formas clínicas de la enfermedad que se presentan en las distintas regiones endémicas, es en gran parte desconocido. Sin embargo se considera que la heterogeneidad de las distintas cepas de *T. cruzi* es uno de los principales factores asociados a las distintas formas clínicas de la enfermedad, que pueden ser producidas por poblaciones naturales del parásito, que se clasifican en seis genotipos o unidades discretas de tipificación (UDTs) que son infectantes para el ser humano (Zingales *et al.* 2012).

Estas distintas UDTs (TcI, TcII, TcIII, TcIV, TcV y TcVI) se distribuyen de manera diferente en las distintas especies de triatomíneos, hospederos mamíferos y hábitats en las distintas áreas geográficas de las regiones endémicas (Ceballos, 2010).

La evidencia sugiere la existencia de diferencias en la distribución de los distintos genotipos o linajes de *T. cruzi* en los pacientes chagásicos crónicos con cardiopatía, según la región geográfica de América Latina. Así, los estudios de prevalencia de los distintos linajes en Chile, sugieren que TcV se presenta con mayor frecuencia en pacientes crónicos (Arribada *et al.*, 1990; Solari *et al.*, 2001). En otros países del cono Sur, las formas cardíacas de la enfermedad son causadas principalmente por TcII (Guhl *et al.*, 2013, Mantilla *et al.*, 2010). En países del norte de América del Sur, como Colombia y Venezuela, la cardiopatía chagásica se asocia a infección con TcI, que es además, el linaje más frecuente en las infecciones humanas (Ramírez *et al.*, 2010; González *et al.*, 2010; Añez *et al.*, 2009). En Argentina a través del análisis de biopsias se ha sugerido que a pesar que los linajes TcII, TcV y TcVI están asociados a miocarditis moderadas o ausentes, la infección por TcI es el genotipo más frecuente en la miocarditis severa.

En resumen, la Enfermedad de Chagas es una afección compleja que puede ser producida por distintos aislados o cepas de *T. cruzi* que requieren una adecuada tipificación genotípica, para determinar la dinámica de su transmisión al hospedero, el grado de patogenicidad y tropismo a distintos tejidos, los distintos mecanismos de daño tisular, las distintas formas clínicas que pueden producir en el hospedero y su eventual relación con la cardiopatía chagásica (Rodríguez, *et al.* 2002). La evidencia experimental sugiere que la población de parásitos presente en el torrente sanguíneo podría ser muy diferente de las variantes que se encuentran secuestradas en los tejidos, de manera que no refleja la diversidad completa de *T. cruzi* y su capacidad para producir daño tisular y distintas formas clínicas de la enfermedad en el hospedero (Ramírez *et al.*, 2010, Guhl *et al.*, 2013).

De esta manera entonces, futuros estudios que nos permitan una adecuada tipificación genotípica de las cepas o aislados de *T. cruzi* que se utilizan en la infección experimental de cepas puras de ratones que difieren en cuanto a la resistencia o susceptibilidad a la infección y cuyas características inmunogénicas son ampliamente conocidas, permitirán avanzar en el conocimiento de las distintas formas de daño tisular que pueden producir en el hospedero y que son finalmente resultado de una compleja interacción entre las características genéticas y

biológicas de la cepa o aislado infectante y de las características del repertorio inmunogénico del hospedero que determinan el desarrollo de reacciones inflamatorias, mecanismos inmunes y autoinmunes en los individuos susceptibles.

## REFERENCIAS

**ANDRADE, LO, MACHADO CR., CHIARI, E, PENA, SD. MACEDO,AM.** 1999. Differential tissue distribution of diverse clones of *Trypanosoma cruzi* in infected mice Mol. Biochem. Parasitol. 100:163-172.

**ANDRADE, LO., MACHADO, CR., CHIARI, E., PENA, SD., MACEDO, AM.** 2002. *Trypanosoma cruzi*: role of the host genetic background in the differential tissue distribution of parasite clonal populations Exp. Parasitol. 100: 269-275

**ANDRADE, S.G., MAGALHAES, J.B.** 1996. Biodemes and zymodemes of *Trypanosoma cruzi* strains: : correlations with clinical data and experimental pathology. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 30: 27-35.

**ANDRADE, L. O.; GALVAO, L. M. C.; MEIRELLES, M.; CHIARI, E.; PENA, S.; MACEDO, A.** 2010 Differential tissue tropism of *Trypanosoma cruzi* strains: an in vitro study. Mem Inst. Oswaldo Cruz 105: 834-837.

**AÑEZ, N.; CRISANTE, G., ROJAS, N.; ROJAS, A.; MORENO, G.; DA SILVA, M.; TEIXEIRA, M.** 2009. Genetic typing of *Trypanosoma cruzi* isolates from different hosts and geographic areas of western Venezuela. Bol. Mal. Salud Amb. 49: 251-258

**ARRIBADA, A.C.; APT, W.; AGUILERA, X.; SOLARI, A.; ARIBADA, A.M.; SAMDOVAL, J.** 2009. Cardiopatía chagásica en la primera región de Chile. Estudio clínico, epidemiológico y parasitológico. Rev. Med. Chile 118: 846-854

**CEBALLOS, L.** 2010 Ciclo Silvestre de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en el noroeste de Argentina. Tesis doctoral, Buenos Aires, Argentina. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Cs Exactas y Naturales. Pp. 8-10

**CLAYTON J.** 2010. Chagas disease 101. Nature 465: S4-S5

**DE ARIAS, A. R.; FERRO, E. A.** 1988. Quantification of *Trypanosoma cruzi* parasitemia by direct micromethod. Trans. Royal Soc. Trop. Med, Hyg. 82: 248

**DUFFY, T.** 2010. Desarrollo y aplicación de estrategias de PCR para la genotipificación y cuantificación de *Trypanosoma cruzi*. Tesis doctoral. Buenos Aires, Argentina. Universidad de Buenos Aires, Facultas de Cs Exactas y Naturales. Pp. 2-14

**FUENTES, R.** 2012. Informe Situación Epidemiológica de la Enfermedad de Chagas: Situación 2007- 2012. Depto de Epidemiología. Ministerio de Salud de Chile.

**GARCIA, A. 2011.** Variabilidad genética de *Trypanosoma cruzi* y estudio epidemiológico molecular de clones involucrados en infección trasplacentaria en Chile. Intra Med. 2: 1-6.

**GARCIA, A.; ORTIZ, S.; IRIBARREN, C.; BAHAMONDE, M.; SOLARI, A.** 2013 Congenital infection with different *Trypanosoma cruzi* lineages. Parasitol. Int. 63: 138-139.

**GONZÁLEZ, A., ORTIZ, S.; SOLARI, A.** 2010. Colombian *Trypanosoma cruzi* major genotypes circulating in patients. Minicircle homologies by cross-hybridization analysis. Int. J. Parasitol. 40: 1685-1692

**GUHL, F.; CURA, C.; SCHIJMAN, A., KELLY, J.; ORNELAS, W.; TARLETON, R. 2013.** *Trypanosoma cruzi* del genotipo a la clínica. IX Taller sobre la Enfermedad de Chagas. Barcelona. Rev. Esp. Salud Pública pp. 1-74

**HOFT, D.; LINCH, R.; KIRCHOFF, L. 1993.** Kinetics analysis of antigen-specific immune response in resistant and susceptible mice during infection with *Trypanosoma cruzi*. J Immunol 151: 7038-7047.

**KAPLAN, E.; MEIER, P. 1958.** Non parametric estimation from incomplete observations. J. Am. Stat. Assoc. 53: 457-481.

**LÓPEZ, M.; LEYTON, C.; GRAF, M. 1982.** Técnicas de Histología y Citología. Segunda Edición. Depto de Biología Celular y Genética, Fac. de Medicina, U. de Chile. Pp 242.

**MANTILLA, J.; ZAFRA, G.; MACEDO, A., GONZÁLEZ, C. 2010.** Mixed infection of *Trypanosoma cruzi* I and II in a Colombian cardiomyopathic patient. Hum. Pathol. 41: 610-613.

**MOREIRA, O.; RAMIREZ, J.; VELÁSQUEZ, E.; DIAS, M.; LIMA, C.; GUHL, F.; SOSA, S.; MARIN, J.; MORILLOH, C.; BRITO, C. 2013.** Towards the establishment of a consensus real-time qPCR to monitor *Trypanosoma cruzi* parasitemia in patients with chronic Chagas disease cardiomyopathy: A substudy from the BENEFIT trial. Acta tropica 125: 23-31.

**OMS-ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 2010.** Enfermedad de Chagas: control y eliminación. In: 63° Asamblea Mundial de la Salud. 22, Abril, 2010.

**PIZZI, T.P. 1957.** Inmunología de la Enfermedad de Chagas, Universidad de Chile. Santiago, libro p.18.

**RAMIREZ, J.; GUHL, F.; RENDÓN, L.; ROSAS, F.; MARIN, J.; MORILLO, C. 2010.** Chagas Cardiomyopathy manifestations and *Trypanosoma cruzi* genotypes circulating in chronic chagasic patients. Los Negl. Trop. Dis. 4: 1-9

**RODRIGUEZ, J.; ALBAJAR, P.** 2010. Chagas disease: a new worldwide challenge. *Nature*. 465: S8-S9.

**SOLARI, A.; CAMPILLAY, R.; ORTIZ, S., WALLACE, A.** 2001. Identification of *Trypanosoma cruzi* genotypes circulating in Chilean Chagasic patients. *Exp. Parasitol.* 97: 226-233.

**WRIGHTSMAN, R.; KRASSNER, S.; WATSON, J.** 1982. Genetic control of response to *Trypanosoma cruzi* in mice: multiple genes influencing parasitemia and survival. *Infect. Immun.* 36: 637-644.

**ZINGALES, B.; MILES, M.; CAMPBELL, D.; TIBYRENK, M.; MACEDO, A.; TEIXEIRA, M.; SCHIJMAN, A.; LLEWELLYN, M.; SILVA, E.; MACHADO, C.; ANDRADE, S.; STURM, N.** 2012. The revised *Trypanosoma cruzi* nomenclature. Rationale, epidemiologic relevance and research applications. *Infect. Genet. Evol.* 12: 240-253

**ZÚÑIGA, C.; PARRA, A.; VELA, H.; COURCELLES, T.; VARGAS, R.; VERGARA, U.** 1998. Estudio histopatológico en ratones infectados experimentalmente con *Trypanosoma cruzi*. *Parasitol. Al día.* 22: 23-28.

**ZUÑIGA, C., CEPEDA, R., PALAU, M.T., VERA, A., MEJIA, J., VERGARA, U.** 2007. Efecto protector de una cepa no virulenta contra la infección con una cepa virulenta de *Trypanosoma cruzi* en un modelo murino. *Arch. Med. Vet.* 39: 77-82.

**ZÚÑIGA, C.; BINDER, N.; PALÁU, M.T.; LARENAS, J.; VERGARA, U.** 2012a. Edad del hospedero en la evolución de la infección experimental con *Trypanosoma cruzi* en un modelo murino. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol.* 71: 23-33.

**ZÚÑIGA, C.; PONZANO, P.; ROMO, G.; PALÁU, M.T.; LARENAS, J.; GARCÍA, A.; VERGARA, U.** 2012b. Diagnóstico molecular de la infección con *Trypanosoma cruzi* en ratones. *Rev. Ibero-Latinoam. Parasitol.* 71: 117-124.