



[Kasmera](#)

versão impressa ISSN 0075-5222

Kasmera v.33 n.1 Maracaibo jun. 2005

Reactivación de la infección chagásica en ratas Wistar gestantes

Reactivation of the Chagasic Infection in Wistar Rats in Gestation

Moreno B., Elio; Méndez I., Maidé; Alarcón M., Maritza; Araujo A., Sonia y Lugo de Yarbuh, Ana

Laboratorio de Parasitología Experimental (LAPEX). Dpto. de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes. Mérida 5101, Venezuela. Teléfono: 0274-2401244, Fax: 0274-241286. E-mail: emorenob@ula.ve

Resumen

En este trabajo investigamos en ratas Wistar crónicamente infectadas con *Trypanosoma cruzi*, la reactivación de la infección durante la gestación y después del parto, mediante un estudio parasitológico, inmunológico, histopatológico e inmunohistoquímico. Los resultados mostraron un control de las parasitemias patentes y/o subpatentes; títulos elevados de anticuerpos específicos anti-*T. cruzi*, detectándose en las ratas gestantes una disminución en los niveles de IgG y un incremento significativo de la IgM ($P < 0,05$) a partir de la primera semana de gestación; ausencia de formas flageladas de *T. cruzi* en el líquido amniótico. La histopatología reveló, persistencia parasitaria a nivel de las fibras musculares cardíacas y de la musculatura lisa del útero grávido; establecimiento de una discreta miocarditis y miositis con características de cronicidad; moderado infiltrado inflamatorio, sin parasitismo en placentas y cerebro. El estudio inmunohistoquímico demostró la presencia de un nido de amastigotes en el músculo esquelético y abundantes depósitos antigénicos en las secciones de corazón, útero, cerebro y placentas, lo que demuestra la presencia de tripomastigotes en esos tejidos. Finalmente, se discuten los factores que pudieran inducir la reactivación de la infección por *T. cruzi* en ratas Wistar gestantes.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*, infección chagásica, rata Wistar, gestante.

Abstract

Wistar rats with chronic *Trypanosoma cruzi* infection were subjected to a parasitological, immunological, histopathological and immunohistochemical examination for a reactivation of the infection during gestation and after giving birth. Results showed a control of patent and/or sub-patent parasitemias; high concentrations of specific anti-*T. cruzi* antibodies, a moderate reduction in IgG levels and a significant increase in IgM ($P < 0.05$) after the first week of gestation; and absence of flagellate forms of *T. cruzi* in the amniotic fluid. Histopathology showed parasitic persistence in cardiac muscle fibers and in the uterus, mild myocarditis and myositis with signs of chronicity; moderate inflammatory infiltrate, without parasitism in the placenta stroma or brain. Immunohistochemical examination showed the presence of a nest of amastigotes in the skeletal muscle with abundant antigen deposits in sections of the heart, uterus, brain and placenta, revealing the presence of tripomastigotes in the tissue. Finally, the factors that might lead to a reactivation of *T. cruzi* infection in gestating Wistar rats are discussed.

Serviços Personalizados

Artigo

-  Artigo em XML
-  Referências do artigo
-  Como citar este artigo
-  Tradução automática
-  Enviar este artigo por email

Indicadores

-  Citado por SciELO
-  Acessos

Links relacionados

Compartilhar

-  Mais
- Mais
-  Permalink

Key words: *Trypanosoma cruzi*, chagasic infection, Wistar rats, gestation.

Recibido: 22-02-05 / Aceptado: 05-05-05

Introducción

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas, es causada por el protozoo intracelular *Trypanosoma cruzi*, el cual es transmitido al hombre en áreas rurales endémicas por contaminación con las formas metacíclicas contenidas en las excretas postprandiales de triatomíneos hematófagos de la familia Reduviidae, subfamilia Triatominae (1). Otras vías de transmisión del parásito (transfusional, vertical, trasplantes de órganos, oral, accidentes en el laboratorio y sexual) han sido señaladas para otras áreas y ciudades donde los insectos vectores están presentes solo ocasionalmente como resultado de su introducción accidental (2-4). El parásito al penetrar en el organismo provoca reacción inflamatoria, acompañada de otros síntomas clínicos y subclínicos con características y gravedad variable. Así, se destaca una fase aguda inicial, con parasitemias patentes y síntomas no específicos, seguida por una fase latente o indeterminada que puede durar toda la vida o evolucionar a una fase crónica progresiva, produciendo la cardiopatía chagásica y/o lesiones digestivas irreversibles (5).

Las infecciones crónicas por *T. cruzi* a menudo se reactivan cuando los hospedadores son inmunosuprimidos. Esta observación ha sido confirmada por varios investigadores, quienes refieren reactivación de la infección chagásica principalmente en pacientes con infección crónica que recibieron trasplantes y fueron tratados con inmunosupresores como terapia de protección (6, 7). Igualmente, en pacientes con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, se observó reagudización de la infección por *T. cruzi* con graves repercusiones orgánicas a nivel cerebral y cardíaca (8). Por otro lado, en modelos experimentales la reactivación de la infección chagásica ha sido estudiada mediante reinoculaciones exógenas del parásito (9, 10) y/o cuando los animales experimentales son sometidos a inmunosupresores (7, 11).

La reagudización de la infección por efecto del embarazo es un hecho aceptado como posible en las enfermedades infecciosas crónicas en humanos. Bittencourt (12), señaló una alta prevalencia de infecciones por *T. cruzi* en mujeres embarazadas en áreas endémicas de diferentes países de Sudamérica. Muchas de estas mujeres se infectaron durante su infancia en su ambiente natural y cuando alcanzaron la edad reproductiva albergaban la fase crónica de la enfermedad pudiendo transmitir el parásito por vía placentaria. Estas mujeres desarrollaron embarazos aparentemente normales, presentando pocas evidencias de cambios en la respuesta inmune humoral durante la gravidez, que reflejasen apreciable exacerbación de la enfermedad de Chagas. Storni y Bolsi (13) estudiando un grupo de mujeres crónicamente infectadas con *T. cruzi*, observaron durante el embarazo un incremento de la inmunoglobulina M (IgM), lo que interpretan como una evidencia de reactivación de la infección. Por otro lado, Schmuñis y col (14) han señalado inmunodepresión de tipo celular en el curso del embarazo, lo que estaría contribuyendo con la reagudización de la infección. Estas observaciones fueron investigadas por Carlier y col (15) quienes estudiaron la respuesta inmune humoral y celular en ratones hembras crónicamente infectadas con *T. cruzi*, durante la gestación. Los autores concluyeron que la gravidez está asociada a la disminución de ciertos parámetros inmunológicos humorales y celulares, los cuales son insuficientes para modificar el curso de la infección.

Partiendo de la premisa que la reagudización de la infección por efecto del embarazo es un hecho aceptado como posible en las enfermedades infecciosas crónicas en humanos, en este trabajo, nos proponemos investigar si la reactivación de la infección chagásica crónica en ratas Wistar ocurre durante la gestación, a través de: **a.** la detección de parasitemias patentes y subpatentes; **b.** estimación de la respuesta inmune humoral mediante la cuantificación de los niveles de anticuerpos anti-*T. cruzi* (IgG, IgM) y, **c.** evaluación de las alteraciones histopatológicas en el corazón, músculo esquelético, cerebro, útero y placenta, a través de técnicas histológicas e inmunohistoquímicas.

Materiales y Métodos

Cepa de *Trypanosoma cruzi*:

Utilizamos parásitos de la cepa de *T. cruzi* M/DID/Ve/92/DSM, aislada por Ana Lugo de Yarbuh en mayo de 1992, mediante xenodiagnóstico realizado a un *Didelphis marsupiales* hembra naturalmente infectada, procedente del bosque experimental □El Caimital□, Municipio Obispo, Estado Barinas, Venezuela y caracterizada desde el punto de vista biológico y bioquímico por Moreno y col (16).

Inoculación y apareamiento

Un total de 21 ratas albinas juveniles (*Rattus norvegicus*), cepa Wistar, hembras de 20 días de nacidas, fueron inoculadas por vía intradérmica con aproximadamente 2×10^4 formas metacíclicas de la cepa DSM de *T. cruzi*. Los parásitos fueron obtenidos a partir de las heces postprandiales del vector *Rhodnius prolixus* con 30 días de infección siguiendo el procedimiento previamente indicado por Moreno y col (17). Las excretas fueron

homogenizadas en solución fisiológica salina y las formas metacíclicas fueron cuantificadas, siguiendo el método modificado por Brener (18). Un segundo grupo de 6 ratas juveniles sanas fueron utilizadas como controles. Las ratas infectadas y los controles sanos fueron mantenidos en jaulas separadas en el Bioterio experimental, alimentadas con dieta comercial (ratarina^R) y agua *ad libitum*.

A los 120 días post-inoculación (pi), las ratas en fase crónica de la infección chagásica, fueron divididas en 4 grupos experimentales: un grupo A (n=7) de ratas vírgenes infectadas fueron mantenidas como control infectado; las restantes ratas infectadas de los grupos B (n=7) y C (n=7), y los controles sanos D (n=6) en *proestus* y/o *estrus* de su ciclo estral, fueron apareadas con machos en una relación 2/1 por jaula. Al día siguiente del apareamiento, las ratas fueron examinadas mediante un lavado vaginal con solución fisiológica y una vez comprobada la presencia de espermatozoides en el frotis vaginal, las ratas presumiblemente ya preñadas en un tiempo relativamente uniforme, fueron marcadas con solución de Bouin y colocadas en jaulas individuales con abundante ratarina y agua *ad libitum* en el bioterio experimental.

Evaluación de la infección

Las ratas infectadas y los controles sanos, fueron muestreadas a los 7, 13 y 21 días de gravidez con el objeto de investigar exacerbación de parasitemias patentes y/o subpatentes y, cambios en la respuesta inmune humoral. Las ratas ligeramente anestesiadas con éter dietílico, fueron sangradas con capilares heparinizados por ruptura del plexo retro-orbital del ojo derecho. El diagnóstico parasitológico se realizó mediante exámenes directos de muestras de sangre utilizando el microhematócrito como método de concentración (19), e indirectos como el hemocultivo de 0,2 mL de sangre en medio de cultivo NNN con solución fisiológica salina como fase líquida y el xenodiagnóstico utilizando en cada caso 10 ninfas de IV estadio de *R. prolixus*, las cuales fueron mantenidas a 26°C y 75% de humedad relativa en el insectario experimental (17). Los cultivos mantenidos en estufa a 26°C y las ninfas de *R. prolixus* fueron examinadas a los 30 días después de su inoculación e ingesta sanguínea, con el objeto de detectar formas flageladas de *T. cruzi*.

Los cambios en la respuesta inmune humoral fueron evaluados mediante las técnicas de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y el ensayo Inmunoenzimático (ELISA). Para estas pruebas se utilizaron entre 0,5 y 1,0 mL de sangre de cada rata y los sueros fueron separados por centrifugación. El antígeno empleado se preparó con las formas flageladas de cultivos homólogos de *T. cruzi*, colectados en fase exponencial de su crecimiento en el medio de cultivo NNN y la ejecución de cada una de las técnicas serológicas se realizó siguiendo los procedimientos descritos por Camargo (20) y Voller y col (21).

Colecta de líquido amniótico y procedimiento histológico

Al término de la gestación, las ratas infectadas de los grupos (A y B) y los controles sanos (D) fueron sacrificadas por sobreenestesia con éter dietílico. Durante la autopsia se extrajo cuidadosamente el útero grávido con sus órganos anexos. Con una pipeta Pasteur se hizo una pequeña incisión sobre la membrana uterina y se extrajo de cada saco uterino alícuotas de líquido amniótico (LA), unas para conformar un pool de LA/rata e inocular tubos con medios de cultivo NNN y otras para ser examinadas directamente al microscopio. Seguidamente se removieron los fetos con sus placentas, el corazón fue cortado frontalmente en dos partes iguales, y se obtuvieron fragmentos de músculo esquelético poplíteo del miembro superior derecho y el cerebro. Los tejidos fueron fijados con formalina al 10% por 24 horas, incluidos en Paraplast (Monoject Scientific, St. Louis, MO. USA) y cortados en secciones de 6 µm de espesor en un microtomo (American Optical). Unos cortes fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina y Giemsa-Pappenheim-Colofonio (22) y los otros fueron procesados para inmunohistoquímica mediante la técnica de Peroxidasa anti-peroxidasa (PAP) (23). Al grupo C de ratas chagásicas gestantes, se les permitió el parto normal y a los 15 días se les practicó un muestreo parasitológico e inmunológico. Igualmente, a las crías se les tomaron muestras de sangre de la cola para ser examinadas en fresco con el objeto de detectar parasitemias patentes.

Análisis estadístico

Los títulos de anticuerpos específicos anti-*T. cruzi* obtenidos con la t-IFI fueron agrupados mediante la moda aritmética y los valores de los niveles de anticuerpos obtenidos con la ELISA fueron analizados mediante la prueba de la Chi (χ^2) cuadrada.

Resultados

Parasitemia y mortalidad

Los exámenes parasitológicos efectuados a los grupos de ratas chagásicas antes del apareamiento (A, B y C), durante la gestación (B y C) y a los 15 días después del parto (C), no mostraron parasitemias patentes y subpatentes evidenciables por los métodos de diagnóstico empleados. Igualmente, las 25 crías nacidas de madres

con infección chagásica crónica no revelaron parasitemias patentes. No se observó mortalidad en ninguno de los grupos de ratas infectadas ni en las crías.

Respuesta humoral

Anticuerpos específicos anti-*T. cruzi* fueron detectados en todos los sueros de las ratas crónicamente infectadas. Con la t-IFI, detectamos niveles importantes de IgG totales en los diferentes grupos experimentales. Las ratas del grupo A (vírgenes infectadas) mostraron títulos de anticuerpos elevados que oscilaron entre 1:1024 y 1:2048. Las ratas de los grupos B y C durante la primera y segunda semana de gravidez, presentaron niveles de IgG similares a los detectados en las ratas del grupo A, con una discreta disminución de los títulos al término de la gestación en las ratas del grupo B (1:1024) y una marcada disminución (1:512) en los animales del grupo C. A los 15 días después del parto, las ratas del grupo C mostraron un marcado incremento en el título de IgGs (1:2048) comparables con los niveles detectados en las ratas vírgenes infectadas ([Tabla 1](#)).

Tabla 1.

Títulos de anticuerpos anti-*T. cruzi* detectados por la técnica de Inmunifluorescencia Indirecta en los sueros de ratas Wistar crónicamente infectadas con formas metacíclicas de *T. cruzi* DSM, durante la gestación y después del parto.

Días de gestación	Títulos de IgG		
	A	B	C
0	1:1024	1:1024	1:1024
7	1:1024	1:1024	1:2048
13	1:2048	1:2048	1:2048
21	1:2048	1:1024	1:512
15pp*	--	-	1:2048

* 15 días post-parto.

Con la técnica de ELISA evaluamos las variaciones en los niveles de IgG y de IgM en los sueros de las ratas crónicamente infectadas antes, durante la gestación y después del parto. Los niveles de IgG en las ratas del grupo A permanecieron más o menos constantes durante las determinaciones semanales. Las variaciones de los niveles de IgG fueron similares en los sueros de las ratas de los grupos B y C antes y durante la gestación, observándose un discreto aumento no significativo durante la primera semana de gravidez con un máximo a los 7 días de gestación, y una disminución progresiva hasta niveles inferiores a los registrados en las ratas controles durante el resto del período de gestación. A los 15 días después del parto, en los sueros de las ratas del grupo C se detectaron niveles de IgG discretamente inferiores a los observados al inicio de la gestación. En general, los niveles de IgG decayeron en todos los grupos después de la primera semana de gestación ([Figura 1](#)).

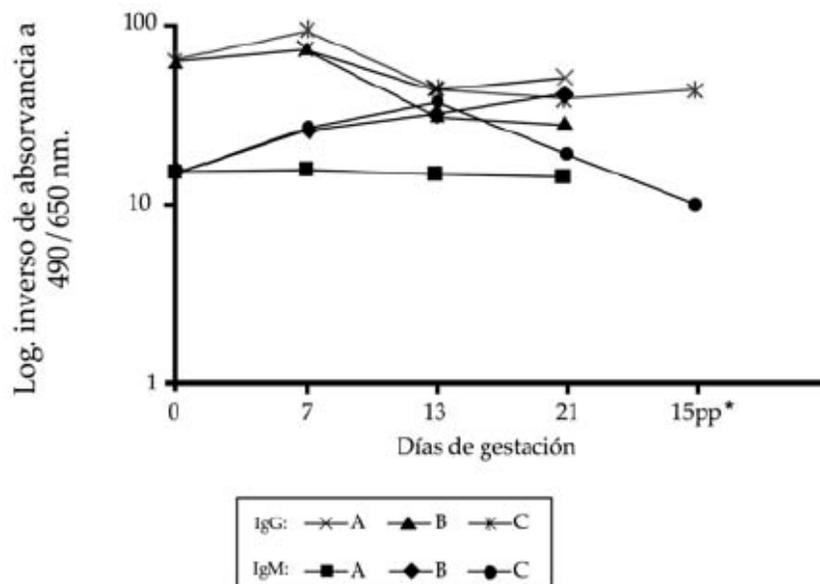


Figura 1. Cinética de los niveles de anticuerpos IgG e Igm anti-*T. cruzi* en sueros de ratas Wistar infectadas con formas metacíclicas de *T. cruzi* DSM, durante la gestación y a los 15 días después del parto. A: ratas infectadas vírgenes; B: ratas infectadas sacrificadas a término de la gestación; C: ratas infectadas con parto normal . pp. post-parto.

En cuanto a las variaciones de la IgM, las ratas del grupo A no presentaron niveles apreciables de esta inmunoglobulina; por el contrario, en las ratas de los grupos B y C se evidenció un incremento significativo ($P < 0,05$) en los niveles de IgM desde la primera semana de gravidez hasta el término de la gestación. Después del parto, las ratas del grupo C mostraron una disminución progresiva de la IgM a niveles inferiores a los detectados para el grupo control A (Figura 1). Los sueros procesados de las ratas controles no infectadas gestantes, no mostraron reactividad.

Evaluación parasitológica del líquido amniótico

Los exámenes parasitológicos directos e indirectos realizados a las muestras de líquido amniótico obtenido de los sacos uterinos de las ratas crónicamente infectadas y sacrificadas a término de la gestación, no mostraron formas flageladas de *T. cruzi*.

Evaluación histopatológica

El estudio minucioso de las alteraciones histopatológicas del corazón, músculo esquelético, útero, cerebro y placentas de las ratas crónicamente infectadas con *T. cruzi* y sacrificadas a término de la gestación, reveló de manera general el desarrollo de una miocarditis y miositis de variable intensidad, destrucción de algunas fibras musculares, hialinización, formación de fibrosis y persistencia de nidos de amastigotes (Figura 2). En los cortes de útero grávido, se evidenció un moderado infiltrado linfocitario en el miometrio asociado a un nido de amastigotes y una marcada eosinofilia. Los cortes de cerebro presentaron abundantes linfocitos en estrecho contacto con los cuerpos neuronales, sin parasitismo tisular. En las secciones de placentas se observaron focos de necrosis e infiltrado linfocitario, proliferación de células trofoblásticas en el estroma veloso placentario y a nivel de las placas coriónica y desidual constituyendo un cuadro de placentitis crónica. La ausencia de nidos de amastigotes en este órgano no descarta el diagnóstico de la infección chagásica congénita.

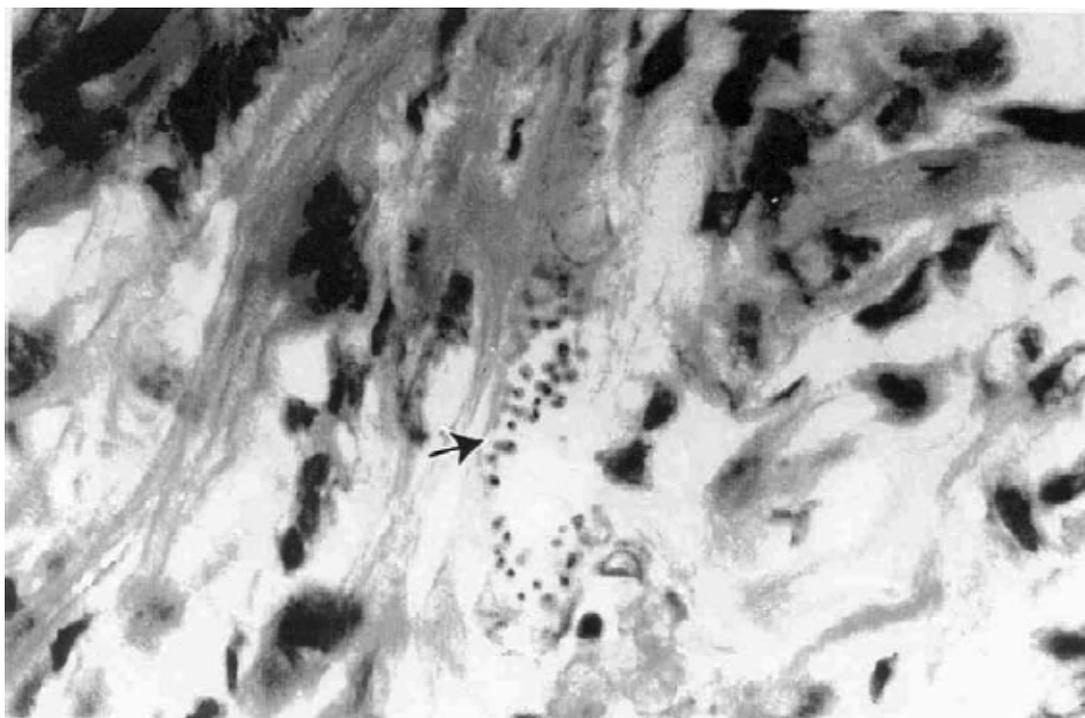


Figura 2. Sección de corazón de rata Wistar crónicamente infectada con metaciclitos de *T. cruzi*/DSM, mostrando miocarditis de variables intensidad, destrucción de algunas fibras musculares y persistencia de un nido de amastigotes (Giemsa Colofonio, 100X).

Evaluación inmunohistoquímica

Los cortes de corazón, útero, cerebro y placentas tratados con la técnica de PAP, mostraron una marcada reacción con depósitos antigénicos dispersos en los tejidos, sin parasitismo tisular apreciable. En las fibras musculares esqueléticas del grupo B se observó un nido de amastigotes intacto sin proceso inflamatorio y abundantes depósitos antigénicos (Figura 3).



Figura 3. Sección de músculo esquelético de rata Wistar crónicamente infectada con metaciclitos *T. cruzi* DSM, donde se evidencia la presencia de un nido de amastigotes y abundantes depósitos (→) antigénicos (PAP, 1000X).

Discusión

La necesidad de contar con un modelo animal en donde el curso de la infección chagásica experimental y la patología evolucionen de manera similar a la humana, ha representado uno de los grandes obstáculos para el estudio de manera integral de la enfermedad de Chagas. En este sentido, la rata albina (*R. norvegicus*) cepa Wistar, considerada por diferentes investigadores como un animal susceptible a las infecciones naturales y experimentales con las distintas cepas de *T. cruzi*, incorpora un mínimo de atributos que fueron originalmente precisados para un modelo animal, tales como variaciones en la repuesta humoral y celular, alteraciones electrocardiográficas y cambios patológicos que semejan, en parte, a lo que ocurre en la enfermedad de Chagas humana (16, 24, 25). Con estos antecedentes y la incomodidad de utilizar el ratón (*M. musculus*) por su pequeño tamaño y por su alta susceptibilidad a las infecciones por *T. cruzi*, justifican la selección del modelo ratas para los fines de este trabajo.

Los resultados del presente estudio mostraron que después del inoculo inicial de formas metacíclicas de *T. cruzi*, las ratas juveniles desarrollaron un cuadro infeccioso agudo, caracterizado por parasitemias patentes, sin mortalidad alguna y apreciables alteraciones histopatológicas a nivel de los tejidos cardíaco, esquelético y nervioso, similar al descrito por Scorza y Scorza (24) y Araujo (26) en este modelo experimental. Las ratas infectadas en fase crónica, gestantes, mostraron un control sobre la presencia de parásitos circulantes en la sangre, y la gravidez no produjo exacerbación de la parasitemia evidenciable a través de los métodos de diagnóstico parasitológicos empleados (17, 19). Estos hallazgos están de acuerdo con los obtenidos por Carlier y col (15) en ratones así como con las observaciones de Bittencourt en humanos (3). No obstante, Storni y Bolsi (13), estudiaron mediante la aplicación de xenodiagnóstico y exámenes serológicos el comportamiento del parasitismo durante el embarazo en mujeres con serología positiva a *T. cruzi*, detectando que en el curso del embarazo, y especialmente en el último trimestre, se facilitó la multiplicación del parásito, evidenciándose un cuadro serológico similar al de la infección aguda. En este mismo orden de ideas, Menezes y col (27) evaluaron los perfiles de parasitemia en 119 mujeres crónicamente infectadas con *T. cruzi* aplicando xenodiagnósticos durante y después del embarazo. Los autores observaron que la frecuencia de xenodiagnósticos positivos y los niveles de parasitemia aumentaron durante el embarazo, especialmente en el 3° trimestre, disminuyendo después del parto. Una de estas madres con xenodiagnóstico positivo, transmitió la infección de manera transplacentaria a su hijo. Por otro lado, Brabin (28) señaló que el embarazo modifica la respuesta inmunológica a la infección chagásica, produciendo exacerbación de la parasitemia. Sin embargo, Bittencourt (12) apuntaba que mujeres en estado crónico de la enfermedad de Chagas desarrollan embarazos aparentemente normales, presentando pocas evidencias que indiquen cambios en la respuesta inmune o reflejen exacerbación de la infección.

Las infecciones producidas por *T. cruzi* en ratas, estimulan una fuerte y heterogénea respuesta inmune humoral demostrada por la presencia de anticuerpos específicos anti-*T. cruzi* circulantes, los cuales pertenecen fundamentalmente a la clase IgM de las inmunoglobulinas durante la fase aguda y predominio de las IgG e IgA durante las fases latente y crónica de la infección (29). En el presente estudio, las ratas de los grupos A, B y C que cursaban la fase crónica de la infección chagásica, antes del apareamiento, mostraron niveles elevados de anticuerpos humorales similares a los detectados en otros modelos experimentales con infección chagásica crónica (15, 29, 30). La cinética de los perfiles serológicos de IgG e IgM detectados en los sueros de las ratas crónicamente infectadas durante el período de la gestación (grupos B y C), sugieren la reactivación de la infección chagásica, ya que los niveles de IgG disminuyeron levemente a partir de la primera semana de gestación, mientras que la IgM se incrementó significativamente alcanzando niveles similares a los observados en las infecciones agudas (10, 29). En las ratas gestantes que se les permitió el parto normal (grupo C), los niveles de IgG e IgM regresaron a valores similares a los detectados inicialmente en el grupo control infectado (A). Estos resultados, son similares a los observados en humanos por Szarfman y col (31) y Storni y Bolsi (13) quienes detectaron anticuerpos anti-*T. cruzi* IgM en el suero de algunas mujeres embarazadas que cursaban la fase crónica de la enfermedad de Chagas. Los autores refieren que del grupo de seis mujeres embarazadas, con niveles importantes de IgM en su suero sanguíneo, dos madres transmitieron la infección congénita a sus hijos, lo que interpretaron como evidencia de una reactivación de la infección. En este mismo orden de ideas, Schmuñis y Szarfman (32), estudiando la presencia de IgM específica y la aplicación de xenodiagnósticos repetidos en mujeres embarazadas, demostraron que los niveles de IgM en las madres chagásicas fue superior al observado en madres no chagásicas; también encontraron una mayor proporción de xenodiagnósticos positivos en las mujeres chagásicas embarazadas que en aquellas no embarazadas, lo que sugiere que el embarazo reactiva la infección. Estas observaciones han sido confirmadas en parte por Reyes y col (33), quienes utilizando el ensayo inmunoenzimático (ELISA), detectaron IgM específica en el suero de diez madres las cuales transmitieron la infección congénita a sus hijos. Los autores también señalan que esta IgM no fue detectada en el suero sanguíneo de otras doce madres infectadas quienes no transmitieron la enfermedad.

La presencia de formas flageladas de *T. cruzi* en el líquido amniótico es una evidencia de la infección congénita (34). En nuestro trabajo, a pesar de no observar tripomastigotes en las muestras individuales y en el \square pool \square de líquido amniótico examinadas, no descartamos la presencia de formas flageladas en este medio. Esta aseveración fue recientemente comprobada por Araujo (26), quien observó formas flageladas de *T. cruzi* en tubos con medio de

cultivo inoculados con el \square pool \square de líquido amniótico obtenido de ratas con infección chagásica aguda, y por Moreno y col (35) quienes observaron tripomastigotes en el líquido amniótico obtenido de tres sacos uterinos de una ratoncita con infección chagásica aguda, sacrificada al término de la gestación.

Alteraciones histopatológicas fueron evidentes en los órganos maternos. Los cortes de corazón y músculo esquelético de las ratas del grupo B mostraron una miocarditis y miositis focal con características de cronicidad, destrucción de algunas fibras musculares con discreta fibrosis y persistencia de parásitos en el tejido muscular cardíaco; tales hallazgos coinciden con los resultados publicados por Moreno y col (36) en ratas hembras crónicamente infectadas con *T. cruzi* y en humanos con enfermedad de Chagas crónica (37, 38). En el útero grávido se observó un nido de amastigotes, lo que sugiere la posibilidad de infección en las crías durante su desarrollo intrauterino. Estos amastigotes, en un momento dado, podrían multiplicarse activamente, transformándose en tripomastigotes que se liberarían después de la ruptura celular y podrían atravesar la membrana del saco uterino y producir la infección fetal (3, 26). Igualmente, se evidenció un moderado infiltrado linfocitario en el miometrio y abundantes eosinófilos, lo que indica posibles efectos de la infección por *T. cruzi*. En los cortes de placentas, se observó de manera general la instauración de una moderada placentitis, sin parasitismo evidenciable. Recientemente, Moreno y col (36) demostraron la presencia de parásitos a nivel de las células trofoblásticas y vellositis, de variable intensidad, en placentas de ratas crónicamente infectadas con formas sanguíneas de *T. cruzi*. Señalan los autores que la presencia de parásitos en la parte vascular de la placenta, sugiere una posible infección fetal. Similares hallazgos han sido reportados en placentas humanas, en donde se ha detectado la presencia de una placentitis chagásica con las vellosidades del epitelio trofoblástico necrotizado e intenso parasitismo. Este parasitismo placentario no necesariamente tendría una estricta correlación con la infección fetal, dado que se han observado casos de enfermedad de Chagas congénita sin el hallazgo histológico de *T. cruzi* y nidación placentaria sin infección fetal (3, 39).

En cuanto al tropismo placentario, nuestros resultados podrían interpretarse según los criterios sostenidos por Andrade (40) y Delgado y Santos-Buch (41), quienes señalaron que cepas de *T. cruzi* de diferente origen, presentan distinto tropismo por la placenta, por lo que la transmisión congénita depende de la cepa del parásito y de la capacidad fagocítica de los macrófagos de las vellosidades placentarias. Investigaciones más recientemente, realizadas por Vago y col (42) y Macedo y col (43) mediante el uso de técnicas moleculares han demostrado que diferentes cepas y clones de *T. cruzi* presentan diferencias en tropismo hacia los tejidos del hospedador vertebrado, estos autores han formulado la hipótesis denominada \square el modelo clonal histotrópico \square para la patogénesis de la enfermedad de Chagas. De conformidad con lo anterior la cepa DSM de *T. cruzi* tendría un bajo o inexistente tropismo placentario, lo cual explicaría en parte la diferencia en la transmisión congénita del parásito.

El estudio inmunohistoquímico, permitió demostrar la presencia de un pseudoquiste intracelular en la musculatura esquelética en el grupo C, así como una marcada reacción con abundantes depósitos antigénicos en el perimisio. Por las características morfológicas que presenta este pseudoquiste de parásitos, se podría pensar que es de formación reciente, lo que apoyaría la tesis de la reactivación de la infección. Por otro lado, la presencia de depósitos antigénicos en las secciones de corazón, útero, cerebro y placentas, revelados por la reacción de PAP y el infiltrado inflamatorio presente, probablemente corresponda a parásitos provenientes de la ruptura de células hospedadoras infectadas, dispersos entre las células inflamatorias que median su destrucción. La presencia parasitaria, también ha sido demostrada con estas técnicas sensibles, como son la IFI y PAP en otras infecciones experimentales (10, 44) y en humanos con infección chagásica crónica (37, 38).

Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo sugieren que en el modelo experimental rata Wistar crónicamente infectada con *T. cruzi*, la gravidez modifica la respuesta inmunológica a la infección, produciéndose de esta manera reactivación de la infección, con signos característicos a los observados durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas.

Aunque no se observó exacerbación de parasitemias patentes y subpatentes de *T. cruzi* en las ratas gestantes, por los métodos de diagnóstico empleados, el estudio histológico mostró un nido de amastigotes en la musculatura esquelética comparable a los observados en infecciones agudas recientes.

La gravidez modificó los perfiles de producción de las inmunoglobulinas. La IgG se mantuvo elevada en las ratas crónicamente infectadas y decayeron en todos los grupos después de la primera semana de la gestación, mientras que la IgM, mostró un aumento significativo a partir de la primera semana de la gestación, regresando a los niveles iniciales después del parto.

El tratamiento de los tejidos con la técnica de PAP, reveló una marcada reacción con abundantes depósitos antigénicos apreciables y detección de un pseudoquiste en la musculatura esquelética. Este hallazgo corrobora la persistencia de parásitos aislados en las ratas con infección crónica, y la presencia de nidos de amastigotes de reciente formación.

Finalmente, podemos afirmar que, la gravidez produjo la reactivación de la infección chagásica en el modelo experimental rata Wistar crónicamente infectadas con *T. cruzi* DSM; y que las madres infectadas pueden transmitir transplacentariamente el parásito a un número reducido de su progenie, independientemente si cursa la infección aguda y/o crónica de la infección.

Agradecimientos

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de los Andes por el financiamiento a través de los Proyectos C-1184-03-03-A, 1181-03-B. FONACIT Proyecto S1-2002000500.

Referencias Bibliográficas

1. Hoare C. The trypanosomes of mammals. Ed. Blackwell. Sci Publi Oxford & Edinburgh; 1972. [[Links](#)]
2. Amato Neto V., Lopes MH., Setsu UE., de Sousa RMAR., Pinto Dias JC. Outras formas de transmissão do *Trypanosoma cruzi*. Rev Pat Trop. 2000; 29 (suppl.): 115-129. [[Links](#)]
3. Bittencourt AL. Transmissão vertical da doença de Chagas. Rev Pat Trop. 2000; 29 (suppl): 101-113. [[Links](#)]
4. Moraes-Souza H. Transmissão transfusional da doença de Chagas. Rev Pat Trop. 2000; 29 (suppl): 9-100. [[Links](#)]
5. World Health Organization. Control of Chagas disease. Technical Report Series. 1991; 811. [[Links](#)]
6. Bestetti RB., Castillo OT., Teno LAC., Freitas O. Absence of *Trypanosoma cruzi* myocardial infection reactivation in Chagas heart transplant. Cardiovasc Pathol. 1994; 3: 257-259. [[Links](#)]
7. Boullon F., Sinagra AJ., Riarte A., Lauricella M., Barra J., Besanson M., et al. Experimental cardiac transplantation and chronic Chagas disease in dogs. Transplant Proc. 1988; 20: 432-437. [[Links](#)]
8. Rocha A, Ferreira MS, Nishioka SA, Lopes ER. Interação com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). En: Brener, Z, Andrade ZA, Barral-Neto M, editores. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. Editora Guanabara-Koogan Brasil 2000. p. 406-415. [[Links](#)]
9. Machado E., Fernandez A., Murta S., Victro R., Camilo D., Pinheiro, S., et al. A study of experimental reinfection by *Trypanosoma cruzi* in dogs. Am J Trop Med Hyg. 2001; 65: 958-965. [[Links](#)]
10. Martens ML. Efectos de reinoculaciones por *Trypanosoma cruzi* en un modelo murino (*Mus musculus*) experimentalmente infectado [Tesis de Licenciatura en Biología]. Mérida: Universidad de los Andes; 2002. [[Links](#)]
11. Sinagra AJ., Riarte A., Lauricella M., Segura E. Reactivation of experimental chronic *Trypanosoma cruzi* infection after immunosuppressive treatment by cyclosporine A and betametason. Transplant. 1993; 55: 1431-1434. [[Links](#)]
12. Bittencourt AL. Possible risk factors for vertical transmission of Chagas disease. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1992; 34: 403-408. [[Links](#)]
13. Sorni P., Bolsi FL. Embarazo y parasitismo por *Trypanosoma cruzi*. Med (B.Aires). 1979; 39: 193-197. [[Links](#)]
14. Schmuñis GA., Vattuone VH., Szarfman A., Pesce UJ. Cell mediated immunity in mice inoculated with epimastigotes or trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909). Rev Path Trop. 1973; 10: 119-180. [[Links](#)]
15. Carlier Y., Rivera MT., Truyens C., Goldman M., Lambert P., Flament J., et al. Pregnancy and humoral immune response in mice chronically infected by *Trypanosoma cruzi*. Infect Immunity 1987; 55: 2496-2501. [[Links](#)]
16. Moreno EA., González N., Rivera IM., Gillén de PB., Lugo de YA., Añez N. Caracterización biológica e isoenzimática de aislados de *Trypanosoma cruzi*. Bol Malariol y San Amb. 2002; 42: 17-28. [[Links](#)]
17. Moreno EA., Rivera IM., Moreno SC., Alarcón ME., Lugo de YA. Transmisión vertical de *Trypanosoma cruzi* en ratas Wistar durante la fase aguda de la infección. Invest Clín. 2003a; 44: 241-254. [[Links](#)]
18. Brener Z. Observações sobre a imunidade a superinfecções em camundongos experimentalmente inoculados con *Trypanosoma cruzi* e submetidos a tratamento. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1962; 4: 119-123. [[Links](#)]
19. Freilij H., Müller L., Gonzalez Cappa S. Direct micromethod for diagnosis of acute and congenital Chagas disease. J Clin Microbiol. 1983; 18: 327-330. [[Links](#)]
20. Camargo ME. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of american tripanosomiasis, technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* no colostro humano. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1966; 8: 227-234. [[Links](#)]

21. Voller A., Draper C., Bidwell D., Birtle A. Microplate enzyme-linked-immunosorbent assay for Chagas disease. *The Lancet* 1975; 1: 426-428. [[Links](#)]
22. Bray R., Garnham PCC. The Giemsa colophonium methods for staining protozoa in tissue section. *Indian J Malariol.* 1962; 16: 152-155. [[Links](#)]
23. Sell P., Burton M. Identification of *Leishmania* amastigotes and their antigens in formalin fixed tissue by immunoperoxidase staining. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 1981; 75: 461-468. [[Links](#)]
24. Scorza C., Scorza JV. Acute myocarditis in rats inoculated with *Trypanosoma cruzi* study of animals sacrificed between the fourth and twenty ninth days after infection. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1972a; 14: 171-177. [[Links](#)]
25. World Health Organization. Report of the scientific working group on the development and evaluation of animal models for Chagas disease. 1984. p. 1-10. [[Links](#)]
26. Araujo MA. La infección chagásica aguda en ratas Wistar gestantes [Tesis de Licenciatura en Biología]. Mérida: Universidad de los Andes; 2003. [[Links](#)]
27. Menezes CAS., Bittencourt AL., Sherlock Y., Ferreira J. Avaliação da parasitemia em mulheres portadoras de infecção pelo *Trypanosoma cruzi* durante e após a gestação. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1992; 25: 109-113. [[Links](#)]
28. Brabin BJ. Epidemiology of infection in pregnancy. *Rev Infect Dis.* 1985; 7: 579-603. [[Links](#)]
29. Villarreal JC. Evaluación de las proteínas del glicosoma de *Trypanosoma cruzi* como antígeno, frente al isótopo de IgG en sueros de personas chagásicas e IgM en sueros de ratas Wistar [Tesis de Maestría]. Mérida: Universidad de los Andes; 2003. [[Links](#)]
30. Lana M., Chiari E., Tafuri WL. Experimental Chagas disease in dogs. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1991; 87: 59-71. [[Links](#)]
31. Szarfman A., Urman J., Otalora A., Largaia A., Yanovsky JF. Specific agglutinins and immunoglobulin levels in congenital Chagas infection. *Med (B. Aires).* 1975; 35: 245-250. [[Links](#)]
32. Schmuñis GA., Szarfman A. La enfermedad de Chagas congénita. *Med (B. Aires)* 1977; 37: 47-53. [[Links](#)]
33. Reyes MB., Lorca M., Muños P., Frash AC. Fetal IgG specificities against *Trypanosoma cruzi* antigens in infected newborns. *Proc Nat Acad Sci (wash).* 1990; 87: 2846-2850. [[Links](#)]
34. Nilo ME., Alvarado J., Ramírez M., Espejo E. Clinical finding of trypomastigote in citochemical study of amniotic fluid. *Parasitol al Día* 2000; 24: 49-51. [[Links](#)]
35. Moreno EA., Quintero AC., Araujo S. Efectos de la infección chagásica aguda en ratones NMRI durante la gestación. *Acta Cientif Vzolana* 2003b; 54 (Supl.1): 227. [[Links](#)]
36. Moreno EA, Quintero AC, Alarcón ME, Moreno SC, Araujo S, Lugo de YA. Transmisión congénita de *Trypanosoma cruzi* en ratas Wistar durante la fase crónica de la infección. *Invest Clín.* En prensa 2005. [[Links](#)]
37. Añez N., Carrasco H., Crisante G., Rojas A., Fuenmayor C., González N., et al. Myocardial parasite persistence in chronic chagasic patients. *Am J Trop Med Hyg.* 1999; 60: 726-732. [[Links](#)]
38. Elias E., Vigliano CA., Laguens RP., Levin MJ., Berek C. Analysis of the presence of *Trypanosoma cruzi* in the heart tissue of three patients with chronic Chagas disease. *Am J Trop Med Hyg.* 2003; 68: 242-247. [[Links](#)]
39. Carrarao-Abrahão AA., Lopes RA., Salas MA., Ribeiro RD., Prado Jr. JC., Albuquerque S., et al. Placental alterations of swiss mice infected with RAL strain of *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95 (Suppl. II): 122. [[Links](#)]
40. Andrade SG. The influence of the strain of *Trypanosoma cruzi* in placental infections in mice. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 1982; 76: 123-128. [[Links](#)]
41. Delgado MA., Santos-Buch C. Transplacental transmission and fetal parasitosis of *Trypanosoma cruzi* in outbreed white swiss mice. *Am J Trop Med Hyg.* 1978; 27: 1108-1115. [[Links](#)]
42. Vago A., Macedo AM., Oliveira RP., Andrade LO., Chiari E., Galvao LMC., et al. Kinetoplast DNA signatures of *Trypanosoma cruzi* strains obtained directly from infected tissues. *Am J Pat.* 1996; 149: 2153-2159. [[Links](#)]
43. Macedo AM., Oliveira RP., Pena DJ. Chagas disease: role of parasite genetic variation in pathogenesis. *Exp Rev Mol Med.* 5 March 2002; 1-17. <http://www-ermm.ebeu.cam.ac.uk/02114118h.htm> [[Links](#)]
44. Guarner J., Bartlett J., Colley GD., Grijalva JM., Powell RM. Mouse model for chagas disease: immunohistochemical distribution of different stages of *Trypanosoma cruzi* in tissues through infection. *Am J Trop Med Hyg.* 2001; 65:152-158. [[Links](#)]

Universidad del Zulia, Facultad de Medicina, Escuela de Medicina, Departamento de Enfermedades Infecciosas y Tropicales. Apartado 526, Maracaibo 4001-A, Venezuela. Telf. 0261-7597219/Fax 0261-7597300.



revistakamera@hotmail.com