

LESIONES HISTOPATOLÓGICAS Y PERFILES HEMATOLÓGICOS EN RATAS INFECTADAS CON *TRYPANOSOMA CRUZI*. ESTUDIO EN ENSAYO PILOTO.

Romero Mattio, Lucia¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias

Directora: Sanchez Amorina

Codirectora: Racca Andrea

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: Roedores, infección, condición de salud.

INTRODUCCION

Los roedores son animales que comparten su hábitat con vectores de diversos agentes infecciosos, por lo que deben ser evaluados en su papel de hospedadores, manteniendo los ciclos de transmisión y representando la conexión entre los ambientes doméstico y silvestre. El estudio de los roedores como hospedadores de enfermedades zoonóticas resulta de relevancia en Medicina Veterinaria, Salud Pública y en la conservación de las especies.

Las consecuencias de la interacción hospedador-parásito resultan en un gradiente de escenarios, siendo los más extremos: ausencia completa de infección, individuos con altas intensidades de infección pero escasos perjuicios, o muerte del hospedador. Este gradiente estará influenciado tanto por atributos del patógeno como por la estrategia de defensa del hospedador.

T. cruzi tiene la capacidad de invadir gran variedad de células en los hospederos susceptibles, y de presentar intenso tropismo por diferentes tejidos (Erdmann et al., 2016). Por lo que el estudio histopatológico de los órganos afectados resulta valioso para evaluar la intensidad de infección (carga parasitaria) y el perjuicio generado. Asimismo, las consecuencias de infección por *T. cruzi* también pueden ser evidenciadas a partir de parámetros hematológicos, como lo son el recuento eritrocitario y el leucocitario.

OBJETIVOS

- Evaluar parámetros hematológicos (recuento total de glóbulos rojos y leucocitos) de roedores expuestos a diferentes dosis infectivas de *T. cruzi*.
- Describir lesiones histopatológicas en tejidos de órganos seleccionados de roedores expuestos a diferentes dosis infectivas de *T. cruzi*.
- Evaluar la presencia de nidos a amastigotes mediante examen histológico de órganos seleccionados de roedores expuestos a diferentes dosis infectivas de *T. cruzi*.

Título del proyecto: "Influencia de estresores crónicos sobre la relación hospedador-parásito: ¿resistir o tolerar?"

Instrumento: PICT 2016 - 1934

Año convocatoria: 2016

Organismo financiador: ANPCyT

Director/a: Dr Pablo M. Beldomenico

METODOLOGIA

Infeción experimental

Se llevó a cabo un ensayo piloto donde se utilizaron 8 ratas (*Rattus norvegicus*, WISTAR) machos de 16 semanas de edad en una sala experimental, bajo condiciones controladas. Los animales se organizaron en tres grupos: DB (dosis baja): 3 animales, infectados con 100.000 trypomastigotes; DA (dosis alta): 3 animales, infectados con 400.000 trypomastigotes; C: 2 animales, grupo control.

El inóculo estuvo compuesto por *T. cruzi*, cepa Tulahuen, utilizando la vía intraperitoneal. El ensayo se desarrolló en un período de 4 semanas, donde semanalmente se realizó la extracción de sangre -de la vena coccígea- para su posterior estudio hematológico. Al término de este periodo los animales fueron eutanasiados y se tomaron muestras de órganos y tejidos para su posterior evaluación histopatológica.

Determinación de Parámetros hematológicos.

Las muestras de sangre con anticoagulante se procesaron en el laboratorio de Análisis clínicos del Hospital de Salud, FCV. Semanalmente mediante la utilización del contador hematológico BC 2800 Vet, (Mindray®) se realizó el conteo total de eritrocitos y leucocitos.

Evaluaciones Histopatológicas

Las muestras de tejidos se fijaron en formol bufferado al 10%. Luego se redujeron y se colocaron en cassettes plásticos y se procedió a la deshidratación en alcoholes de graduación creciente (70°, 96° y 100°), se aclararon en xilol y se impregnaron en parafina a 56-58°C. Los tacos realizados se cortaron con micrótopo a 4-5 μ y luego se colorearon con Hematoxilina y Eosina. Se evaluaron histopatológicamente los siguientes órganos y tejidos: Hígado, bazo, músculo esquelético, corazón.

Se utilizaron los criterios de clasificación según los grados de lesión, (Perez et al. 2011). LEVE: infiltración leve con daño de 1 o 2 fibras musculares. MODERADA: agregados de infiltrados con compromiso de 2 a 5 fibras musculares. SEVERA: gran acumulación de células mononucleares con destrucción de más de 5 fibras musculares.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Resultados

Parámetros hematológicos

En la siguiente tabla (Tabla1) se visualizan los recuentos de eritrocitos y leucocitos medidos a lo largo de las 4 semanas de tratamiento.

Tabla 1. Conteo total de eritrocitos y leucocitos a lo largo de las 4 semanas de tratamiento.

Tratamiento	Eritrocitos ($10^{12}/L$)		Leucocitos ($10^9/L$)	
	Media	Rango	Media	Rango
DA	9,22	8,73-9,85	11,28	6,7-21,8
DB	9,378	8,03-10,14	11,22	7,4-16,8
C	9,86	9,24-11,1	7,3	6-8,5

Recuento total de glóbulos rojos: independientemente de la dosis infectiva utilizada no se observan diferencias significativas en el recuento total de GR respecto del grupo control.

Recuento total de Leucocitos: independientemente de la dosis infectiva se observa un aumento moderado en el recuento.

Análisis histopatológicos

Tabla 2. Clasificación de los grados de lesión. L (leve); M (moderada); S (severa); S/L (sin lesión); NA (nido amastigote). Los números indican la cantidad de animales que presentaron cada tipo de lesión. n=8.

Grado de lesión	CORAZÓN					MUSCULO ESQUELETICO				
	L	M	S	S/L	NA	L	M	S	S/L	NA
DB	0	2	1	0	0	0	2	1	0	0
DA	0	3	0	0	1	0	1	2	0	1
C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

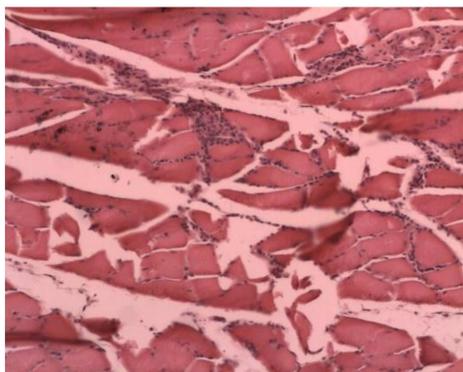


Figura 1. Musculo estriado esquelético H-E 10x. Miositis multifocal moderada, con focos de infiltración leucocitaria predominantemente mononuclear.

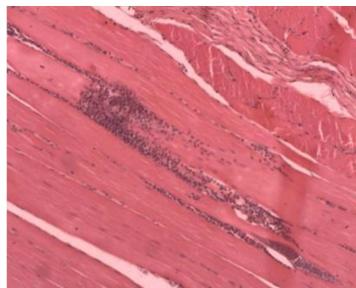


Figura 2. Músculo cardíaco H-E 10x. Miocarditis linfocitaria multifocal severa, con presencia de un nido de amastigotes en el interior de una fibra muscular.

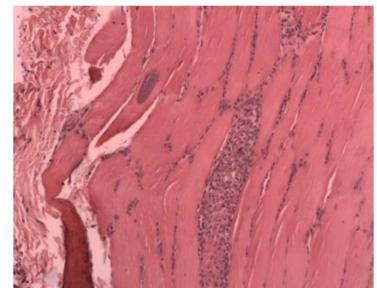


Figura 3. Músculo estriado esquelético H-E 10x. Miositis multifocal linfoplasmocitaria e histiocitaria severa, con presencia de un nido de amastigotes en el interior de una fibra muscular.

Conclusiones

Respecto a la leucocitosis observada en los animales infectados, esta puede deberse al proceso inflamatorio generado por la presencia del parásito en la sangre y el daño ocasionado a los tejidos. Por lo que este parámetro podría utilizarse como un indicador de infección.

Contrariamente a lo esperado, no se hallaron alteraciones en hígado y bazo que pudieran asociarse a los efectos provocados por la infección. Por otro lado, las lesiones halladas tanto en músculo esquelético como cardíaco se corresponderían a la infección por *T. cruzi*, siendo éste un buen indicador de la presencia de la infección en este modelo hospedador parásito.

Al no haber diferencias en las consecuencias en el hospedador en cuanto a las distintas dosis, para estudios posteriores se utilizará una dosis intermedia.

BIBLIOGRAFIA BASICA

Erdmann, H., Behrends, J., Hölscher, C., 2016. During acute experimental infection with the reticulotropic *Trypanosoma cruzi* strain Tulahuen IL-22 is induced IL-23-dependently but is dispensable for protection. *Scientific reports*, 6, 32927.

Gulin, J. E. N., Eagleson, M. A., Postan, M., Cutrullis, R. A., Freilij, H., Bournissen, F. G., ..., Altcheh, J., 2012. Efficacy of voriconazole in a murine model of acute *Trypanosoma cruzi* infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(4), 888-894.

Laguens, R. P., Cabeza Meckert, P., Basombrio, M. A., Chambo, G. J., Cossio, P. M., Arana, R. M., & Gelpi, R. (1980). Infección crónica del ratón con *Trypanosoma cruzi*. Modelo experimental de enfermedad de Chagas. *Medicina (Buenos Aires)*, 40(Supl 1), 33-9.

Pérez, A. R., Bertoya, A. A., Revelli, S., & García, F. (2011). A high corticosterone/DHEA-s ratio in young rats infected with *Trypanosoma cruzi* is associated with increased susceptibility. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106(4), 416-423.

Revelli, S. S. (1980). Enfermedad de Chagas crónica en la rata. Características serológicas, electrocardiográficas e histopatológicas. *Medicina (B. Aires)*, 40, 69-76.

Torrice, M. C., Solano, M., Guzmán, J. M., Parrado, R., Suarez, E., Alonzo-Vega, C., & Torrice, F. (2005). Estimation of the parasitemia in *Trypanosoma cruzi* human infection: high parasitemias are associated with severe and fatal congenital Chagas disease. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 38, 58-61.