

## CARACTERIZACIÓN HISTOPATOLÓGICA EN *Mus musculus* BALB/C DE *Trypanosoma cruzi* AISLADO DE *Panstrongylus chinai* Y DE *Panstrongylus. herreri* DEL NORTE PERUANO

### Histopathology characterization in *Mus musculus* BALB/c of *Trypanosoma cruzi* isolated of *Panstrongylus chinai* and of *P. herreri* from Northern of Peru

Cristian Aurazo, Judith Roldán y César Jara

Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú.

#### RESUMEN

*Trypanosoma cruzi* está compuesta por un complejo de poblaciones que varían de una zona a otra en cuanto a sus características biológicas y patogénicas, sin embargo, no se han efectuado trabajos de esta naturaleza en el norte del Perú. La presente investigación estuvo dirigida a, utilizando el modelo animal *Mus musculus* BALB/c, determinar: la forma de tripomastigota sanguíneo (delgada, I o gruesa, Y) predominante, los niveles de parasitemia, el tiempo de infectividad y de mortalidad, el tropismo tisular y las alteraciones histopatológicas de poblaciones de *T. cruzi* obtenidas de *Panstrongylus chinai* (Tz-1 y Tz-2) y de *Panstrongylus herreri* (Tcut-1 y Tcut-2) infectadas naturalmente en Zaña-Lambayeque y en Cutervo-Cajamarca (Perú), respectivamente. La predominancia de los tripomastigotas y los niveles de parasitemia se evaluaron a partir del séptimo día post inoculación (pi) y el tropismo tisular y las alteraciones histopatológicas, luego de la muerte de los animales. En todos los casos se encontró predominio de las formas Y sobre las formas I. En las Tz-1 y Tz-2 la parasitemia se inició entre los 7 y 10 días pi alcanzando picos de 4290000 tripomastigotes/mL y la muerte de los ratones ocurrió entre los 16 y 23 días, con marcado tropismo cardíaco y muscular. En las Tcut-1 y Tcut-2 la parasitemia se inició entre los 13 y 28 días pi alcanzando picos variables de hasta 3440000 tripomastigotes/mL, la muerte entre los 23 y 150 días pi, y notorio tropismo cardíaco. Inflamación, edema, congestión con destrucción de tejido fueron las alteraciones histológicas observadas. Estas características permiten ubicar a las Tz-1 y Tz-2 dentro del biotopo II, mientras que las Tcut-1 y Tcut-2 no han podido ser ubicadas concretamente dentro de los biotopos registrados, pudiendo tratarse de uno nuevo.

**Palabras clave:** *Trypanosoma cruzi*, *Panstrongylus chinai*, *Panstrongylus herreri*, *Mus musculus*, alteraciones histopatológicas, biotopo

#### ABSTRACT

*Trypanosoma cruzi* is composed of a complex of populations that vary from one area to another in their biological and pathogenic features, in basement of this point we conducted an investigation that was aimed to determine: predominant sanguineous trypomastigot-form, (thin, I or gross, Y), parasitemia levels, infectivity time, mortality, tissue tropism and histopathology damage of *T. cruzi* populations isolated from *Panstrongylus chinai* (Tz-1 and Tz-2) and *P. herreri* (Tcut-1 and Tcut-2) captured in Zaña, Lambayeque and in Cutervo, Cajamarca-Peru, respectively, naturally infected in *Mus musculus* BALB/c experimentally inoculated. Trypomastigot predominance and parasitemia levels were evaluated at 7<sup>th</sup> day post inoculation (pi), while tissue tropism and histopathologic damage were evaluated post mortem. It was found more frequency of Y-trypomastigota form than I form. Tz-1 and Tz-2 populations began parasitemia at 7<sup>th</sup> to 10<sup>th</sup> days pi, with peak of 4290000 tripomastigotes/mL and death between 16<sup>th</sup> and 23<sup>th</sup> days pi, with cardiac and muscle tropisms. Tcut-1 and Tcut-2 populations began parasitemia at 13<sup>th</sup> to 28<sup>th</sup> days pi, with peaks of 3440000 triyomastigotes/mL, death between 23<sup>th</sup> and 150<sup>th</sup> days pi, and cardiac tropism. Inflammation, edema, congestion and tissue necrosis were discovered as pathogenic damage. In conclusion, Tz-1 and Tz-2 populations to concern biotopo I and Tcut-1 and Tcut-2 populations were can not placed in any biotome recorded-

**Key words:** *Trypanosoma cruzi*, *Panstrongylus chinai*, *Panstrongylus herreri*, *Mus musculus*, histopathologic damage, biotopo

Recibido: 06 de Enero de 2014

Aceptado: 01 de Julio de 2014

## INTRODUCCIÓN

Las poblaciones de *Trypanosoma cruzi*, protozooario agente etiológico de la enfermedad de Chagas también llamada tripanosomiasis americana, tiene una amplia variabilidad intraespecífica la cual incluye diferencias relacionadas a la morfología, patogenicidad, habilidad para evadir la respuesta inmune del huésped, sensibilidad a la medicación, composición antigénica y propiedades bioquímicas<sup>1,2,3</sup>. Es posible que tal diversidad esté asociada con su adaptación y supervivencia en diferentes especies de huéspedes<sup>4,5</sup>.

La enfermedad de Chagas es un problema de salud pública importante en América, donde se calcula que aproximadamente 10 millones de personas se hallan infectadas con *T. cruzi* y más de 90 millones de residentes en zonas endémicas están expuestas a contraer la infección, con una incidencia anual de 200 mil casos<sup>6</sup>. En el Perú, aproximadamente 620 mil personas se hallan infectadas y la región suroccidental es el área de donde el Ministerio de Salud registra más del 80% de casos y donde el principal vector es *Triatoma infestans*<sup>6,7</sup>. En la zona norte, en cambio, se han registrado pocos casos humanos de la enfermedad de Chagas, a pesar que se han registrado 18 especies de triatomíneos algunas de ellas, tales como *Panstrongylus chinai* de los valles interandinos costeros y *P. herreri* de zonas de la sierra y ceja de selva infectadas por *T. cruzi*<sup>1,8,9</sup>.

Estudios sobre el comportamiento biológico de cepas de *T. cruzi* y sus perfiles histopatológicos en modelos animales, particularmente ratones isogénicos, han permitido agruparlos en tres biotipos que han sido denominados: I, II y III y cuyas características son, para el primero, predominancia de formas delgadas, macrofagotropismo, multiplicación rápida, elevada parasitemia y elevada mortalidad de ratones (entre los 7 a 12 días postinfección); el segundo, con predominancia de formas gruesas, miocardiotropismo, multiplicación lenta con picos de parasitemia entre los 12 a 20

días, y baja mortalidad de los ratones (posteriores a los 23 días post infección); y el tercero, también con predominancia de formas gruesas, baja multiplicación, picos de parasitemia tardíos entre 20 a 30 días postinfección, miocardiotropismo esquelético y baja y tardía tasa de mortalidad (50 días postinfección)<sup>10,11,12,13,14</sup>.

Estudios realizados en Brasil sobre caracterización biológica de cepas de *T. cruzi* procedentes de distintos países de América Latina, permitieron encontrar que existe una distribución heterogénea de biotipos en la región, pudiendo encontrar biotipos distintos circulando dentro de una misma zona geográfica en un país<sup>14,15,16</sup>. En el Perú, se han determinado parcialmente las características morfológicas y biológicas solamente de poblaciones aisladas de *Triatoma infestans* de Ica y de Tiabaya (Arequipa)<sup>17</sup> y de *Panstrongylus chinai* del Valle Chamán, La Libertad<sup>18</sup>. Todas estas poblaciones tienen un comportamiento biológico diferente determinado por la cinética de la parasitemia, intensidad de la carga parasitaria y los porcentajes de mortalidad en el curso de la infección, aspecto que está ligado al linaje de ratón y población de parásitos usados para la infección; por ello, resulta pertinente evaluar el comportamiento de poblaciones de lugares distintos a los ya evaluados o aisladas de triatomíneos o animales reservorios.

El presente informe contiene los resultados de una investigación que estuvo dirigida a determinar en *Mus musculus* BALB/c: la morfología de tripomastigotes sanguíneos predominante: gruesas o delgadas, los niveles de parasitemia, el tiempo de infectividad y de muerte, el tropismo tisular y las alteraciones histopatológicas de poblaciones de *T. cruzi* aisladas de *Panstrongylus chinai* capturado en el valle de Zaña (Departamento de Lambayeque) y de *P. herreri* capturado en zonas rurales de Cutervo (Departamento de Cajamarca, Perú); y poder así realizar una clasificación de estas poblaciones a nivel de biotipos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Poblaciones de *Trypanosoma cruzi*.

Dos poblaciones de *T. cruzi*, denominadas arbitrariamente Tz-1 y Tz-2, fueron aisladas de distintos ejemplares de *Panstrongylus chinai* procedentes de zonas rurales, a la altura del poblado "Naranjal" del valle de Zaña, ubicado al sur del Departamento de Lambayeque (Perú), y otras dos poblaciones, denominadas arbitrariamente Tcut-1 y Tcut-2, aisladas de distintos *P. herreri* capturados en zonas rurales al norte del distrito de Cutervo, ubicado en la parte suroccidental de Cajamarca (Perú). El aislamiento de las poblaciones de *T. cruzi* se hizo siguiendo la metodología diseñada en investigaciones previas<sup>17</sup> utilizando ejemplares machos de *Mus musculus* BALB/c de 30 a 65 días, libres de patógenos, los cuales fueron criados en el bioterio del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad Nacional de Trujillo (Perú) donde fueron mantenidos en condiciones estables de temperatura con ciclos de 12 horas luz/oscuridad. En estos huéspedes experimentales, asimismo, se hicieron las determinaciones trazadas en los objetivos.

### Trypomastigotes sanguíneos de *T. cruzi* predominantes.

La morfología de las formas parasitarias sanguíneas fueron establecidas a partir del primer día de aparecido el parásito en sangre en los ratones BALB/c, mediante la observación de frotis sanguíneos coloreados con Giemsa a partir de sangre obtenida por corte de la parte distal de la cola, cada tres días, desde el séptimo día postinoculación hasta su ausencia detectada en sangre o muerte de los ratones. Se examinó e hizo el recuento de aproximadamente 500 campos por lámina, a 100A, por animal, por día de evaluación. Los criterios de Brener y Chiari fueron usados para caracterizar las formas de tripomastigotes sanguíneos como: delgadas, I o gruesas, Y<sup>19</sup>.

### Niveles de parasitemia:

A partir del séptimo día de inoculación de los

ratones se realizó un corte de la parte distal de la cola de cada uno de ellos para obtener una muestra de sangre, la cual fue diluida con solución salina fisiológica estéril sobre una lámina excavada y utilizando una cámara de Neubauer se hizo el recuento de tripomastigotes/mL. Este procedimiento se repitió cada tres días para cada grupo de ratones infectados con las poblaciones Tz-1, Tz-2, Tcut-1 y Tcut-2 de *T. cruzi*, así como en cuatro ratones utilizados como controles (dos por cada grupo de procedencia distinta) hasta la muerte de los mismos<sup>14,15,18</sup>.

### Tropismo tisular y alteraciones histopatológicas:

Posterior a la muerte de cada ratón, se separó el corazón, músculo esquelético y cerebro, los cuales fueron conservados y fijados en frascos de vidrio con formol al 10% y posteriormente sometidos a cortes histológicos mediante la técnica convencional de Hematoxilina-Eosina, con el propósito de detectar la presencia de nidos de amastigotas, así como de las alteraciones histopatológicas presentes<sup>14,17,18</sup>.

## RESULTADOS

En los frotises sanguíneos examinados se encontró en todas las poblaciones de *T. cruzi* estudiadas formas delgadas, I como gruesas, Y de tripomastigote sanguíneo, con un claro predominio de esta última desde el inicio de la infección (Figs. 1 y 2).

La parasitemia en las poblaciones Tz-1 y Tz-2 se inició entre el 7mo y 10mo días postinfección (pi) alcanzando niveles de 2500000 tripomastigotes/mL y 4290000 tripomastigotes/mL, respectivamente (Fig. 3). Mientras que en las poblaciones Tcut-2 y Tcut-1 se inició entre los 13 y 28 días pi, con niveles de 7200000 tripomastigotes/mL y 250000 tripomastigotes/mL, respectivamente, seguido de un comportamiento irregular, con picos de ascenso y descenso de manera periódica (Fig. 4).

Se encontraron distintos tiempos de infectividad y de muerte, así como distintos

tropismos tisulares para las poblaciones estudiadas (Tablas 1 y 2). Los cortes histológicos mostraron nidos de amastigotas

y/o inflamación, congestión, edema, infiltrado mononuclear (Fig. 5,6 y 7).

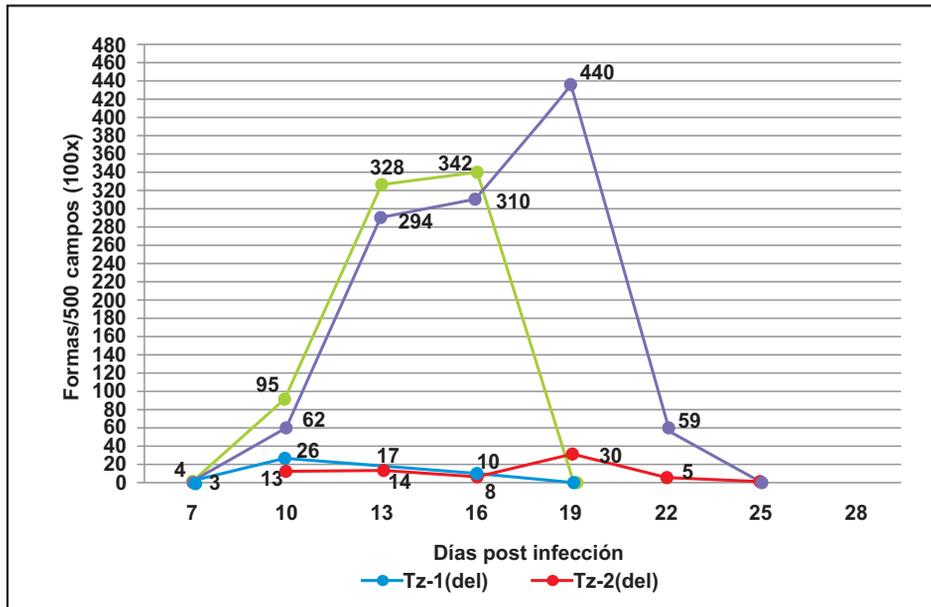


Fig. 1. Distribución de las formas sanguíneas delgadas y gruesas de *T. cruzi*, observadas en los ratones infectados con las cepas Tz-1 y Tz-2, obtenidas de distintos *Panstrongylus chinai* procedentes de Zaña-Lambayeque, Perú; en relación a los días postinfección.

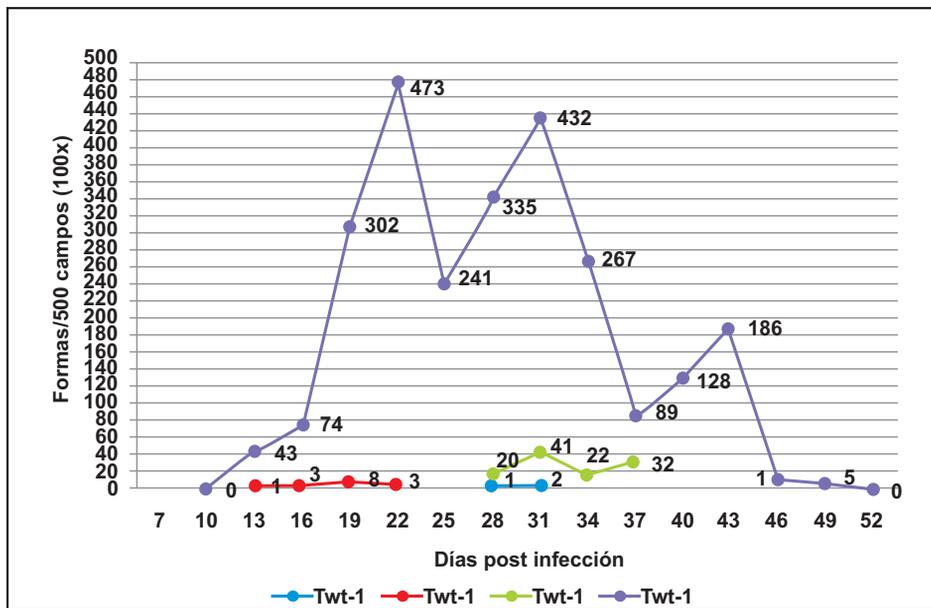
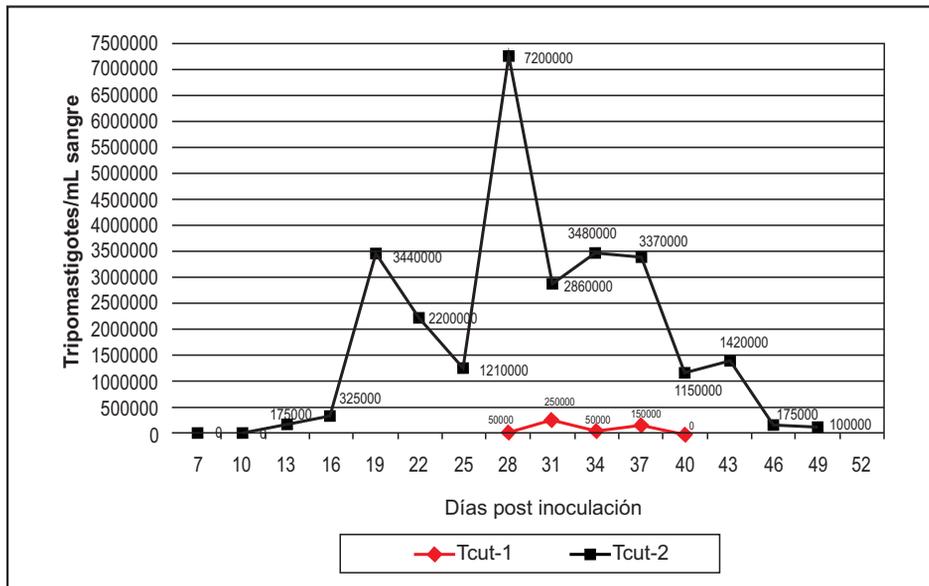
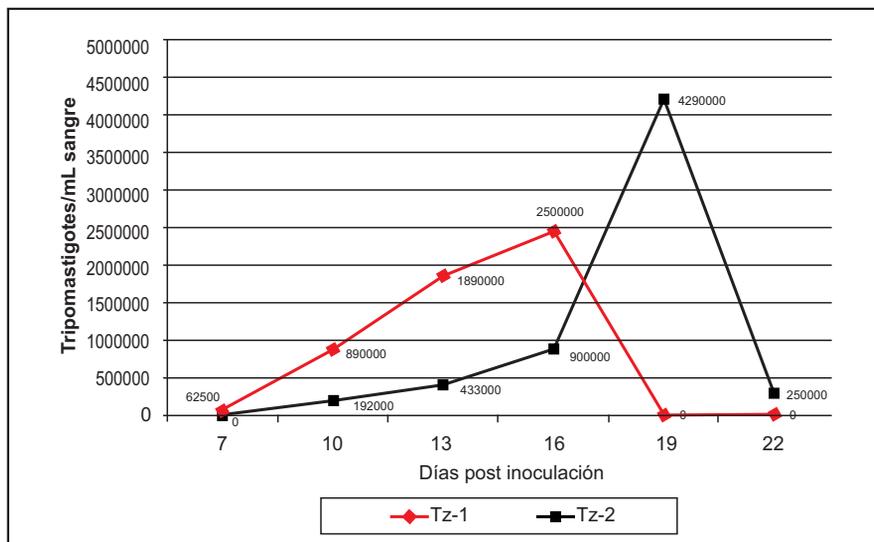


Fig. 2. Distribución de las formas sanguíneas delgadas y gruesas de *T. cruzi*, observadas en los ratones infectados con las cepas Tcut-1 y Tcut-2, obtenidas de distintos *Panstrongylus chinai* procedentes de Cutervo, Cajamarca- Perú; en relación a los días postinfección.



**Fig. 4.** Niveles de parasitemia en *Mus musculus* BALB/c, infectados experimentalmente con tripomastigotes de las cepas Tcut-1 y Tcut-2 de *Trypanosoma. cruzi*, obtenidas de distintos *Panstrongylus herreri* procedentes de Cutervo-Cajamarca, Perú.



**Fig. 3.** Niveles de parasitemia en *Mus musculus* BALB/c, infectados experimentalmente con tripomastigotes de las cepas Tz-1 y Tz-2 de *Trypanosoma cruzi* obtenidas de distintos *Panstrongylus chinai* procedentes de Zaña- Lambayeque, Perú.

**DISCUSIÓN**

Trabajos epidemiológicos actuales respecto de la enfermedad de Chagas hacen notar que poblaciones clonadas de *T. cruzi* no pueden ser tomados como representantes de cepas de diferentes áreas geográficas, sino sólo cepas “naturales” que son catalogadas como representantes genuinos de prototipos epidemiológicos de determinado lugar,<sup>22,23</sup>. Por esta razón, al igual que en otros trabajos

ejecutados en el Perú<sup>17,18,22,23</sup> y otros países<sup>21,23,24,25</sup> en la presente investigación se buscó a poblaciones del parásito aislándolos de vectores capturados en su hábitat natural, que es donde fueron infectados naturalmente.

Desde que Chagas observó al *T. cruzi* en sangre periférica notó polimorfismo en el grosor, forma y tamaño; posteriormente, tal polimorfismo se redujo a hacer referencia a dos formas de tripomastigota sanguíneo:

gruesa y delgada, la primera poco patógena y la segunda más agresiva. Sin embargo, en coincidencia con resultados de trabajos previos<sup>23,25</sup> es posible encontrar en una misma población las dos formas, con predominio de

las formas gruesas tanto en las cepas de Zaña como de Cutervo, debiendo tenerse en cuenta que para tener éxito en la infección debe aplicarse una sobredosis y que los ratones son susceptibles al parásito.

**Tabla 1.** Tiempo de infectividad, tiempo de muerte, tropismo tisular y alteraciones histopatológicas en *M. musculus* BALB/c infectados con las poblaciones Tz-1 y Tz-2 de *T. cruzi* aisladas de *P. chinai* procedentes de Zaña-Lambayeque, Perú.

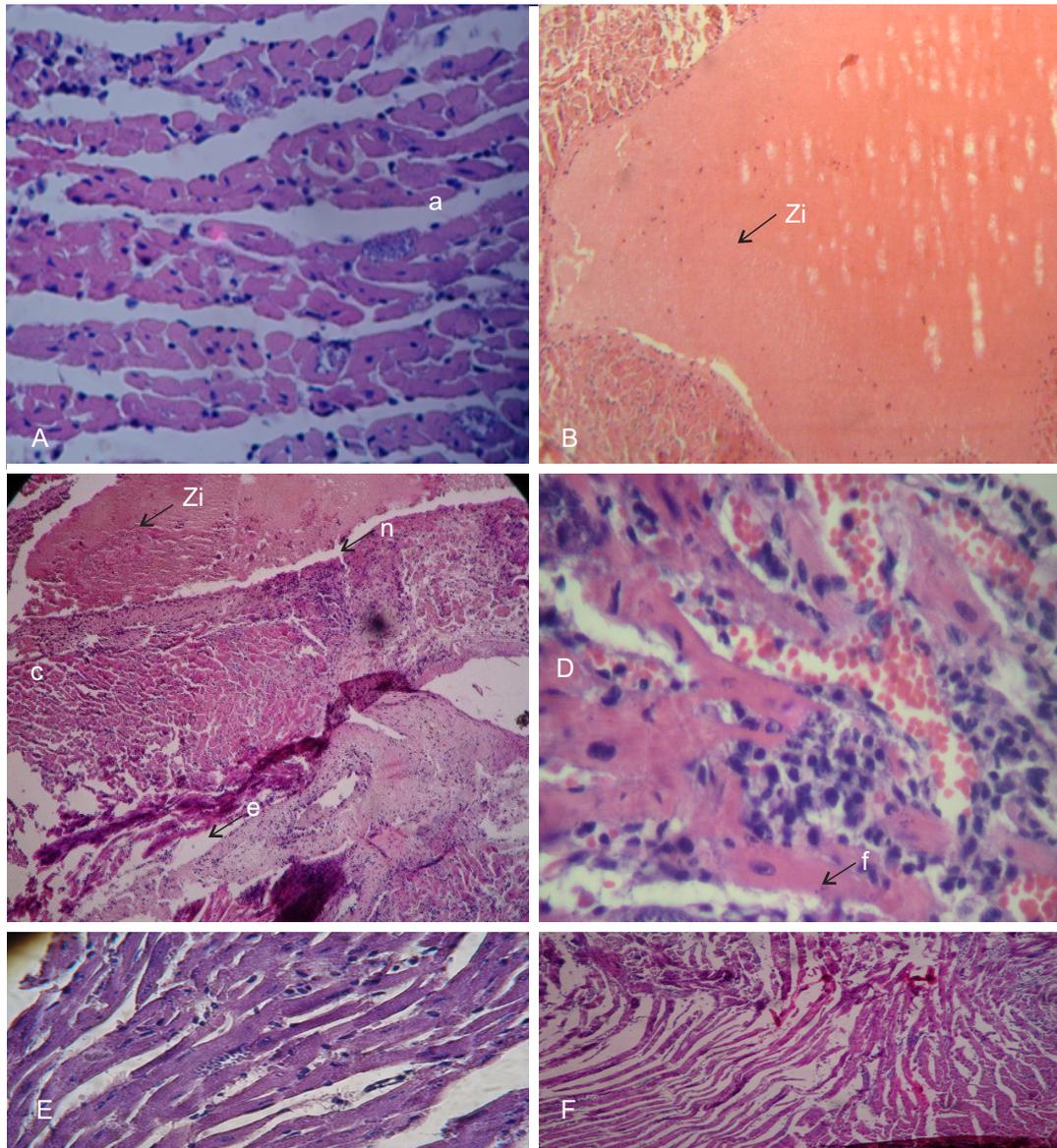
Ratones	Inicio de la infección (días)	Inicio de muerte (días)	Órganos con nidos de amastigotas (tropismo tisular)	Alteraciones histopatológicas
E <sub>1</sub>	10	17	Miocardio, músc. esquelético	e, i, c, f
E <sub>2</sub>	7	17	Miocardio, músc. esquelético	e, c, f
E <sub>3</sub>	10	16	Miocardio, músc. esquelético	e, c, f
E <sub>4</sub>	7	18	Miocardio	e, i, c, f
E <sub>5</sub>	7	17	Miocardio, músc. esquelético	e, c
E <sub>6</sub>	10	20	Miocardio, músc. esquelético	e, i, c, f, m
E <sub>7</sub>	10	22	Miocardio	e, i, c, f, m
E <sub>8</sub>	10	21	Miocardio, músc. esquelético	e, i, c, f, m
E <sub>9</sub>	10	23	Miocardio, músc. esquelético	e, i, c, f, m
E <sub>10</sub>	10	18	Miocardio, músc. esquelético	e, i, c, f
C <sub>1</sub>	—	16*	—	—
C <sub>2</sub>	—	22*	—	—

E: ratones experimentales; C: ratón control; \*: tiempo de sacrificio; E<sub>1-5</sub>: ratones infectados con Tz-1, E<sub>6-10</sub>: ratones infectados con Tz-2; e: edema, i: inflamación, c: congestión, f: fibrosis; m: infiltrado mononuclear

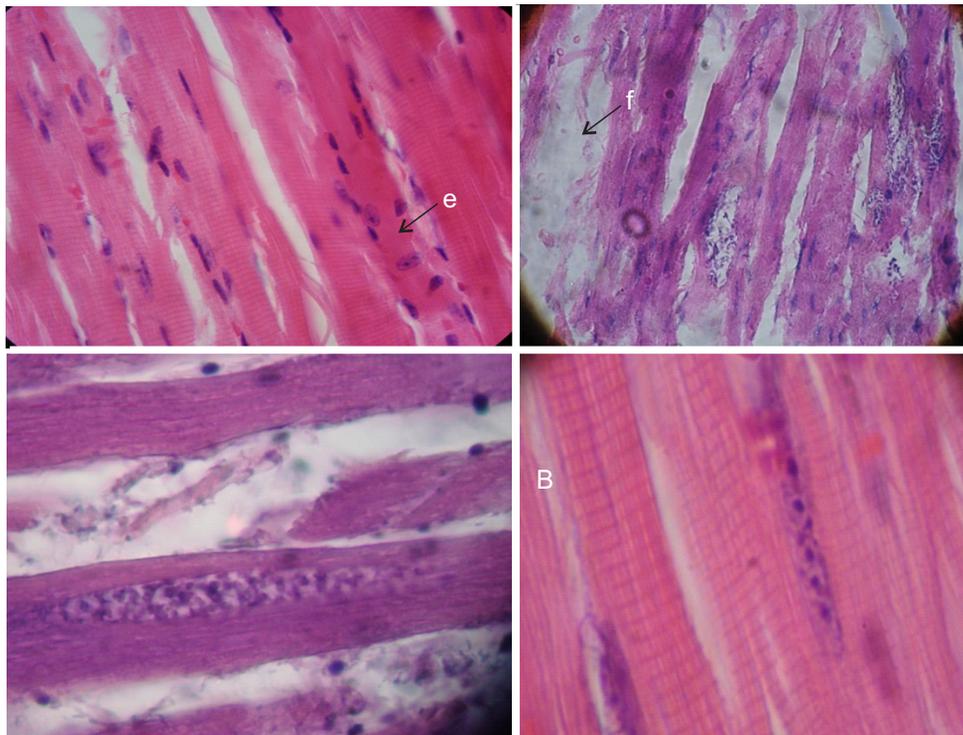
**Tabla 2.** Tiempo de infectividad, tiempo de muerte, tropismo tisular y alteraciones histopatológicas en *M. musculus* BALB/c infectados con las poblaciones Tcut-1 y Tcut-2 de *T. cruzi* aisladas de *P. herreri* procedentes de Cutervo-Cajamarca, Perú.

Ratones	Inicio de la infección (días)	Inicio de muerte (días)	Órganos con nidos de amastigotas (tropismo tisular)	Alteraciones histopatológicas
E <sub>1</sub>	-	150	-	e, i, c, f, n, zi
E <sub>2</sub>	28	45	Miocardio	e, i, c, f, m
E <sub>3</sub>	28	150	Encéfalo	e, i, c, f, m, n, zi
E <sub>4</sub>	-	23	Miocardio	e, i, c, f, m
E <sub>5</sub>	28	32	Miocardio, músc. esquelético	e, i, c, f, m
E <sub>6</sub>	13	27	Miocardio, músc. esquelético	e, i, c, f, m
E <sub>7</sub>	16	24	Miocardio	e, i, c, f, m
E <sub>8</sub>	16	47	Miocardio	e, i, c, f, m
E <sub>9</sub>	13	54	Miocardio	e, i, c, f, m
E <sub>10</sub>	13	90*	Miocardio	e, i, c, f, m, n
C <sub>1</sub>	—	90	—	—
C <sub>2</sub>	—	150*	—	—

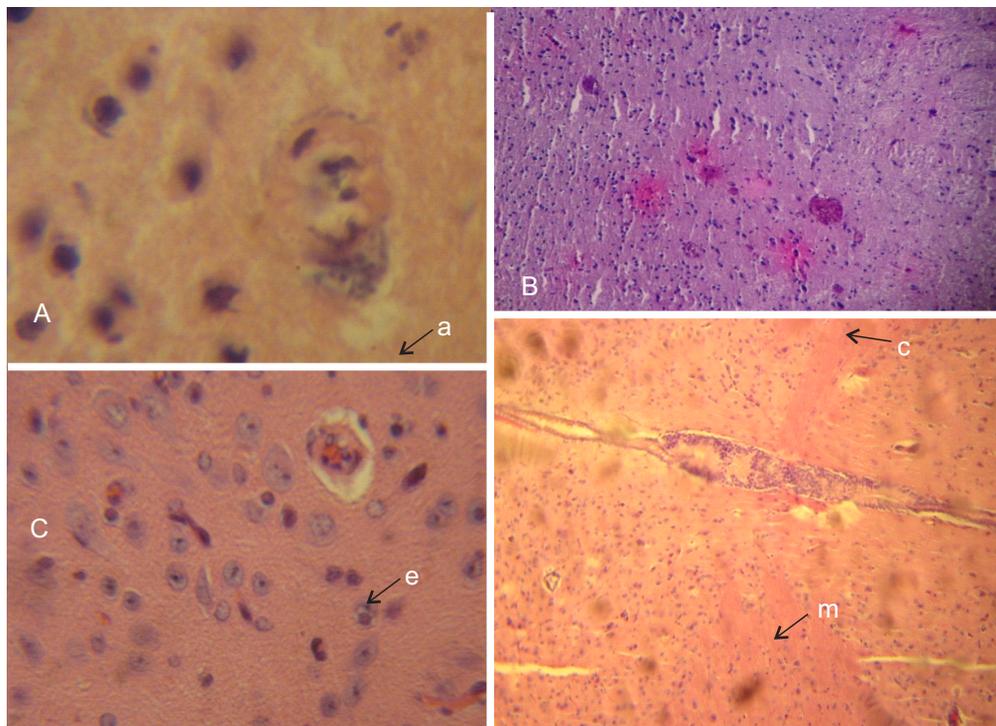
E: ratones experimentales; C: ratón control; \*: tiempo de sacrificio; E<sub>1-5</sub>: ratones infectados con Tz-1, E<sub>6-10</sub>: ratones infectados con Tz-2; e: edema, i: inflamación, c: congestión, f: fibrosis; m: infiltrado mononuclear, -no se determinó



**Fig. 5.** Cortes histológicos de corazón de *M. musculus* BALB/c infectados con las cepas de *T. cruzi*, Tcut-1 y Tcut-2, (A): a los 43 días postinfección, (B,C): a los 150 días postinfección; y con las cepas Tz-1 y Tz-2, (D, E): a los 20 días, (F): a los 23 días postinfección. (a = nidos de amastigotes (40x), c=congestión (40x), e=edema (40x), f=fibrosis (10x), n=necrosis (4x) y zi=zona de infarto(10x).



**Fig. 6.** Cortes histológicos de músculo esquelético de *M. musculus* BALB/c infectados con las cepas de *T. cruzi*, Tz-1 y Tz-2, (A): a los 23 días postinfección(40x); y con las cepas Tcut-1 y Tcut-2, (C): a los 45 días postinfección(40x): (D): ratón control(40x). (a= nidos de amastigotes, e= edema y f = fibrosis).



**Fig. 7.** Cortes histológicos de cerebro de *M. musculus* BALB/c infectados con las cepas de *T. cruzi*, Tcut-1 y Tcut-2, (A): a los 150 días postinfección (40x), (B): a los 90 días postinfección (10x); y con las cepas Tz-1 y Tz-2, (C): a los 23 días postinfección (40x)y (D): a los 20 días postinfección. (a = nidos de amastigotes, e = edema, c = congestión y m = infiltrado mononuclear).

El comportamiento del nivel de parasitemia, de las cepas Tz-1 y Tz-2 procedentes de Zaña, presenta similitud con el de otras poblaciones nativas de *T. cruzi* procedentes de distintas áreas geográficas del país, como las formas procedentes de Callancas y Monsefú en el mismo departamento, y del valle de Chamán en el departamento de La Libertad, con inicios de parasitemia entre los 5 y 13 días postinfección alcanzando valores máximos de parasitemia entre los 15 y 22 días postinfección<sup>18</sup>. Así como el de otras cepas de países como Venezuela y Brasil, que presentan un comportamiento del nivel de parasitemia inicial ascendente hasta un pico máximo y luego descienden hasta desaparecer, con aparición del parásito en sangre entre los días 6 a 9 postinfección para el caso de Venezuela y entre los 8 a 12 días para cepas obtenidas de algunas zonas endémicas de Brasil<sup>24,26</sup>.

En cuanto a las cepas Tcut-1, y Tcut-2, el comportamiento irregular con valores de parasitemia ascendentes y descendentes durante el tiempo de circulación del parásito en sangre, presenta similitudes con el de la cepa nativa de *T. cruzi* de Tiabaya en el departamento de Arequipa-Perú<sup>22</sup>. Este mismo comportamiento es observado en trabajos realizados con cepas de origen costarricense y brasileñas. Así en el primer caso, el periodo de parasitemia duró entre los días 10 y 60 postinfección, alcanzando valores de 100000 trip/mL. Mientras que en el segundo caso la parasitemia se presentó desde el día 8 hasta el día 60 postinfección alcanzando valores de 4000 trip/5uL<sup>24,27</sup>.

Este comportamiento de la parasitemia observado en las cepas de *T. cruzi*, se debería específicamente a los genes que codifican a la enzima transsialidasa y a las glicoproteínas de tipo mucinas. De esta manera la acción de la transsialidasa y captación de ácido siálico por las glicoproteínas confiere al parásito resistencia al ataque por proteínas del complemento y por anticuerpos con acción citolítica. Por otro lado, las mucinas presentes en la superficie del parásito participan directamente en el reconocimiento e invasión de las células del hospedador infectado, pasos claves para la multiplicación intercelular.

Estas razones explicarían los distintos resultados de niveles de parasitemia encontrados en cada grupo experimental<sup>14,15,16,27</sup>.

Si bien se ha encontrado que estas formas gruesas son más frecuentemente observadas en cepas de baja virulencia. Las poblaciones estudiadas en el presente trabajo presentaron una alta virulencia, expresada como el número de ratones que presentaron presencia del parásito y la alta mortalidad de los ratones infectados, como puede deducirse de las tablas 1 y 2. Por lo que se plantea que esta, es una característica indistinta de la virulencia que puede tener cada cepa de *T. cruzi*<sup>15,27</sup>.

En este trabajo las cuatro poblaciones de *T. cruzi* obtenidas de zonas geográficas distintas, mostraron un marcado tropismo por tejido cardíaco. Las cepas Tz-1 y Tz-2 obtenidas de Zaña-Lambayeque mostraron también afinidad por células del músculo esquelético en un 80% de los ratones infectados, las cepas Tcut-1, y Tcut-2 procedentes de Cutervo-Cajamarca presentaron una parasitemia discreta, en solo dos ejemplares infectados con la cepa Tcut-2. Mientras la afinidad de las poblaciones estudiadas, por células del cerebro fue casi nula con presencia de amastigotes únicamente en un solo ratón infectado con la cepa Tcut-1, el cual presentó 150 días de sobrevivida a la infección, como se puede apreciar en las Tabla 2 y en la fig.7.

La afinidad de estas poblaciones de *T. cruzi* por células del tejido cardíaco, coincide con el comportamiento presentado por otras poblaciones de *T. cruzi* obtenidas en zonas geográficas próximas en el norte peruano; como las de Callancas y Monsefú en el mismo departamento, y Chamán en el departamento de La Libertad limítrofe con el anterior departamento y el de Cajamarca. Respecto a la ausencia de amastigotes en los ratones infectados con la cepa Tcut-1 y que presentaron una sobrevivida de 150 días postinfección se deba posiblemente que al encontrarse en una fase crónica, el parásito tenga afinidad por otros tejidos como en el caso del cerebro donde se observó amastigotes, u otros tejidos como de la vejiga, esófago, colon

probablemente y que no fueron analizados en el presente trabajo. Mientras en el caso del ejemplar "E-3", cuyos resultados son presentados en la Tabla 2, y la observación de manifestaciones clínicas externas antes de su muerte; coincide con lo encontrado anteriormente por otros investigadores, cuando al infectar a un ejemplar BALB/c con sangre obtenida de un paciente chagásico proveniente de una zona endémica del mismo departamento de Cajamarca, el ratón no presentó al parásito circulando en sangre durante el tiempo de evaluación, pero al hacer los cortes histológicos del corazón, se encontraron nidos de amastigotes<sup>18,21,24,27</sup>.

La morfología gruesa predominante de tripomastigote sanguíneo circulante encontrada, según Andrade y col., se relacionarían con el tipo de tropismo tisular observado, miotropismo. Tratando de vincular estas características con el comportamiento de la parasitemia, mortalidad acumulada y nivel de virulencia; las cepas Tz-1 y Tz-2 presentan características propias del biotipo II, cuyo prototipo es la cepa brasileña de Sao Felipe y las cepas Tcut-1 y Tcut-2 presentan algunas características del biotipo III, cuyo prototipo es la cepa colombiana, excepto que no hay parasitemia predominante en músculo esquelético y la mortalidad de ratones se da desde los 23 días postinfección<sup>12,13,14</sup>.

Un estudio de las alteraciones histopatológicas mostró a nivel de corazón, además de la presencia de nidos de amastigotes en gran cantidad, también áreas de edematización, inflamación en menor o mayor grado, miocarditis aguda, congestión y necrosis, en los ratones infectados con las cepas Tz-1 y Tz-2 de *T. cruzi*. Y las cepas Tcut-1 y Tcut-2 ocasionaron en los ratones infectados, también cuadros de miositis e infiltrado mononuclear perivascular; habiendo procesos de miocardiitis crónica multifocal con áreas de infarto intenso en los ratones con 150 días de sobrevivencia, como se observa en la fig. 5.

La existencia de macromoléculas GPI expresadas por el parásito, los convierte en inductores primarios de citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-12) que provocan el desarrollo de los procesos

inflamatorios observados<sup>23,24,25</sup>.

En las infecciones experimentales por *T. cruzi*, realizadas, la gran cantidad de daños histopatológicos encontrados permitiría suponer que no habría una producción significativa de IL-10 por el sistema inmune de los hospedadores<sup>48,49</sup>. Ocasionando que esta secreción de citoquinas provoque una insuficiencia cardíaca, generándose el edema que fue observado en diferentes intensidades tanto en el corazón, músculo esquelético y cerebro (Fig. 5, 6 y 7)<sup>13,26</sup>.

Es probable que la existencia de antígenos del parásito, similares a epitopos propios en tejido cardíaco y nervioso, contribuya a la intensidad de las lesiones que se producen en estos tejidos. En la patogenia chagásica crónica a nivel de corazón, que se presenta en dos de los ratones infectados con la cepa Tcut-1, hay reportes que indican el rol patogénico de los anticuerpos IgG contra receptores muscarínicos y adrenérgicos en cardiomiocitos<sup>13,24,25</sup>. Asimismo, La existencia de linfocitos T autorreactivos específicos a antígenos del corazón como tejido nervioso, contribuye también en gran forma al proceso degenerativo tisular encontrado en corazón y cerebro de los especímenes infectados<sup>16,19</sup>.

En relación a la destrucción del tejido nervioso observado en cerebro, este puede ser asociado con el exudado inflamatorio como resultado de la respuesta inflamatoria, haciendo que los linfocitos y células polimorfonucleares aparezcan siendo más involucradas con el daño neuronal produciendo severas lesiones, como las observadas en la fig. 8. Algunos autores sugieren que cuando una neurona es deteriorada, son mayores las lesiones en el caso de la aparición de parasitemia en tejido nervioso, cerebro como órgano de estudio en el presente trabajo, tal como ocurrió en un solo ejemplar de 150 días de infección con la cepa Tcut-1. Sin embargo el daño variable observable en los otros ratones infectados también con la misma cepa y con las cepas Tz-1, Tz2 y Tcut-2 nos indicarían que no habría la necesidad de presencia de parasitemia en el tejido nervioso, cerebro en nuestro caso, para que se produzcan lesiones histopatológicas intensas, coincidiendo con otros autores<sup>26,27</sup>.

Las cepas nativas de *T. cruzi* (Tz-1 y Tz-2) procedentes de Zaña-Lambayeque, muestran predominancia de formas sanguíneas gruesas, niveles de parasitemia que alcanzan picos al 16 y 19 día posinoculación respectivamente, tiempo de infectividad entre los 7 y 10 días, mortalidad entre los 17 y 23 días postinfección, tropismo tisular marcado de corazón y músculo esquelético; daños histopatológicos como edema, congestión, fibrosis e infiltrado mononuclear. En tanto las cepas nativas de *T. cruzi* (Tcut-1 y Tcut-2) procedentes de Cutervo-Cajamarca muestran predominancia de formas sanguíneas gruesas, niveles de parasitemia que alcanzan picos mayores al día 31 y 28 posinoculación respectivamente, tiempo de infectividad entre los 13 y 28 días, mortalidad entre los 23 y 150 días postinfección, tropismo tisular alto en corazón, escaso en músculo esquelético y cerebro; daños histopatológicos como edema, congestión, fibrosis, necrosis, zona de infarto e infiltrado mononuclear. Así mismo los resultados obtenidos, teniendo como base investigaciones precedentes, permiten clasificar a las cepas Tz-1 y Tz-2 dentro del biotipo II; mientras las cepas Tcut-1 y Tcut-2 no pueden clasificarse concretamente en ninguno de los biotipos reportados.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Dr. César Llerena, Jefe de la Unidad de Patología del Hospital Regional Docente de Trujillo- Perú, por la ayuda brindada en la interpretación de los cortes histológicos.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Vega S, Mendoza A, Cabrera R, Cáceres A, Campos E, Ancca J, et al. Primer caso de enfermedad de Chagas aguda en la selva central del Perú. Investigación de colaterales, vectores y reservorios. Rev Per Med Exp y Salud Pública 2006; 23(4): 288-292.
- Zachary LM, Bowman NM, Kawai V, Waller LA, Cornejo JG, Cordova BE, et al. Periurban *Trypanosoma cruzi*-infected *Triatoma infestans*, Arequipa, Perú. Emerg Infect Dis Revi 2006; 12(9): 1345-1352.
- Sánchez SY, Velásquez TR, Vásquez HL, Córdova BE, Delgado DF, Ballón EJ, et al. Seroprevalencia de la infección por *Trypanosoma cruzi* y factores asociados en población adulta en una zona de alta endemicidad de Arequipa, Perú. Acta Med Perú 2007; 24(1): 22-26.
- Solís H, de Carvalho E, Ferreira C, Casanova C, Huamán A y Mendoza V. Contribución al estudio de la epidemiología de la enfermedad de Chagas en tres localidades de la zona sur del Perú. An Fac Med 2003; 64(4): 223-227.
- Noireau F, Diosque P, Jansen AM. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. Vet Res 2009; 40: 26
- Rodrigues Coura J, Borges-Pereira J. Chagas disease: 100 years after its discovery. A systematic review. Acta Tropica 1010; 115: 5-13.
- Vargas F, Córdova O, Marín C, José RM, Sánchez GR, Sánchez MM. Epidemiology of American Trypanosomiasis in northern Peru. Ann Trop Med & Parasitol 2007; 101(7): 1-6.
- Cuba CC, Adolfo VG, Gurgel GR. Triatomines (Hemiptera, Reduviidae) prevalent in the north west of Peru: species with epidemiological vectorial capacity. Parasitol Latinoam 2007; 62:154-164.
- Jara C. Características de infección por *Trypanosoma cruzi* en la costa norte del Perú. SCIENDO 2007; 10(1):88-109.
- De Lana M, Menezes Machado EM. Biology of *Trypanosoma cruzi* and biological diversity. En: Tellería & Tibayrenc (eds.), American trypanosomiasis, Chagas disease: One hundred years of research. Amsterdam: ELSEVIER 2010; pp.339-363
- Martínez DR, Escario J, Nagal R, Gómez BA. Biological Characterization of *Trypanosoma cruzi* strains. Mem Inst Oswaldo Cruz 2001; 96(1): 53-59.
- Bértoli M, Hitomi AM, De Ornelas TM, Marques DS, Lúcia GM. Infectivity for mice of *Trypanosoma cruzi* I and II strains isolated from different hosts. Parasitol Rev.

- 2006; 99: 7-13.
13. Pinto D J C. Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bio-ecológicas, como agente de enfermedad transmitido por alimentos. Rev Soc Bras Med Trop 2006; 39(4): 370-375.
  14. Andrade S, Magalhaes J. Biodemes and Zymodemes of *Trypanosoma cruzi* strains: correlations with clinical data and experimental pathology. Rev Soc Bras Med Trop 1997; 30(1): 27-35.
  15. Devera R, Illarramendi X, Montoya R, Pirnez C, Fernandes O e Rodrigues J. Biodemas de cepas de *Trypanosoma cruzi* aisladas de humanos de tres áreas endémicas de Minas Gerais. Rev Soc Bras Med Trop 2002; 35(4): 323-330.
  16. Alves L, Pires R, da Rosa J, da Silva L, Pires C, de Mauricio R. Caracterizacao biológica, histopatológica e análise de ácido nucléico de una cepa *Trypanosoma cruzi* da regio de Marilia, SP, Rev Bras Med Trop. 2003; 36(1): 35-39.
  17. Suarez N, Cabrera R, Cartagena L, Ayaqui R. Características biológicas de una cepa de *Trypanosoma cruzi* en un modelo murino y análisis de supervivencia. Rev Peru Med Exp Salud Publica 2009; 26(2): 187-192
  18. Díaz E, Escalante H y Jara C. Niveles de parasitemia y alteraciones histopatológicas en *Mus musculus* BALB/c infectado con *Trypanosoma cruzi* obtenido de *Panstrongylus chinai* del valle de Chamán, La Libertad- Perú. Parasitol Latinoam. 2004; 59: 153-158.
  19. Lescure F-X, Le Loup G, Freilij H, Develoux M, Paris L, Brutus L, et al. Chagas disease: changes in knowledge and management. Lancet Infect Dis 2010; 10: 5556-570
  20. Coura JR, Dias JPC. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease-100 years after its discovery. Mem Inst Oswaldo Cruz 2009; 104: 31-40
  21. De Sousa M. Morphobiological Characterization of *Trypanosoma cruzi* chagas, 1909 and its Distintion from other Trypanosomas. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1999; 94(1): 205-210
  22. Arojo L, Tantaleán M, Miranda E. Aspectos del comportamiento biológico de la cepa TCI de *Trypanosoma cruzi*. Rev Peru Parasitol 2000; 15(1): 9-14
  23. Arana J. Aspectos histológicos por *Trypanosoma cruzi* en modelos murinos. Rev Med. 2002; 5(1): 45-54.
  24. Manzanilla J, Díaz M, Plaza J, Quiñonez H, et al. Caracterización parasitológica, patogénica e inmunogénica de cepas salvajes de *Trypanosoma cruzi*, aislados en los estados de Lara y Yanacuy-Venezuela. Bol Médico Postgrado. Universidad Lisandro Alvarado. Venezuela. 2004; 20(2): 61-66.
  25. Suárez N, Cabrera R, Cartagena L, Ayaqui R. Características biológicas de una cepa de *Trypanosoma cruzi* en un modelo murino y análisis de supervivencia. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2009; 26(2):187-192.
  26. Carneiro M, Romanha AJ, Chiari E. Biological characterization of *Trypanosoma cruzi* from different zymodemes and schizodemas. Mem Inst Oswaldo Cruz 1991; 86(4): 387-393
  27. Santos SS, Cupalillo E, Junqueira A, Coura JR, et al. The genetic diversity of Brazilian *Trypanosoma cruzi* isolates and the phylogenetic parasitism of zymodeme 3, based on the internal transcribed spacer of the ribosomal gene. Ann Trop Med & Parasitol 2002; 96(8): 755-764.

**CORRESPONDENCIA:**

César A. Jara

**Dirección:** Azucenas 222-302

Urb. Palmeras del Golf, Víctor Larco

Herrera, Trujillo. Perú

**Teléfono celular:** 947830094**E-mail:** cesarj75@hotmail.com