

IMPORTANCIA DEL SEXO DEL HUÉSPED EN EL DESARROLLO DE LA INFECCIÓN POR *TRYPANOSOMA CRUZI*

IMPORTANCE OF HOST SEX IN THE DEVELOPMENT OF *TRYPANOSOMA CRUZI* INFECTION

Lorena R Micucci, Paola C Bazán, Romina Fauro, Alejandra Baez, Maria S Lo Presti, Maria F Triquel, Patricia A Paglini-Oliva, Héctor W Rivarola

Resumen

Múltiples factores tanto dependientes del hospedero como del parásito se encuentran involucrados en la determinación de la resistencia o susceptibilidad a la infección con *T. cruzi*, pero el sexo es un factor cuya influencia no ha sido claramente establecida. En este trabajo se analizó el factor sexo en el desarrollo de la infección en los individuos infectados. Se utilizaron ratones albinos suizos infectados con 50 tripomastigotes/ratón de *T. cruzi*, cepa Tulahuen, divididos en: machos (n= 73) y hembras (n=64). Tanto en machos como en hembras, la mayor parasitemia se detectó a los 21 días post-infección (dpi) negativizándose a los 56 dpi, presentando los machos niveles de parasitemia significativamente mayores ($p < 0.05$). La mayor mortalidad se produjo entre los 21 y 28 dpi, y a los 270 dpi, estadio crónico, sobrevivió un macho (3%) cada 7,6 hembras (23%). En músculo esquelético de ratones machos y hembras a los 90, 180 y 270 dpi, se encontraron infiltrados linfomonocitarios y nidos de amastigotes, mientras que el miocardio de estos mismos animales mostraron infiltrados inflamatorios solamente. Concluimos que los machos demostraron mayor susceptibilidad a la infección y consecuentemente más mortalidad que las hembras, en este modelo murino infectados con *T. cruzi* cepa Tulahuen, pero que las características de la infección y la miocardiopatía que desarrollan son de características similares.

Palabras claves: Enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, influencia del sexo del huésped, miocardiopatía.

Summary

Multiple factors, both dependent on the host and the parasite are involved in determining resistance or susceptibility to infection with *T. cruzi*, but the influence of the sex of the host is a factor that has not been clearly established. In this paper we analyzed the influence of this factor upon the infected individuals. We used Swiss albino mice infected with 50 trypomastigotes / mouse of *T. cruzi*, strain Tulahuen: males (n = 73) and females (n = 64). The highest parasitemia was detected on day 21 post-infection (pi) in both males and females and became negative on day 56 pi, and males exhibited significantly higher levels of parasitemia ($p < 0.05$). The highest mortality occurred between day 21 and day 28 pi; by day 270 pi (chronic stage) one male (3%) survived every 7.6 females (23%). In skeletal muscle of male and female mice on days 90, 180 and 270 pi, lymphomonocitary infiltrates were found nests of amastigotes, whereas the myocardium of these animals showed inflammatory infiltrates only. We conclude that males showed greater susceptibility to infection and higher mortality than females in this mouse model infected with *T. cruzi*, Tulahuen strain, but the characteristics of the infection and cardiomyopathy development are similar in nature.

Keywords: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, influence of the sex of the host, cardiomyopathy

Cátedra de Física Biomédica. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. C.P: 5000.
bazankarolina@hotmail.com.

Enviado: 11/06/2010
Aceptado: 28/10/2010

Introducción

La Enfermedad de Chagas es una infección parasitaria, producida por el protozoario, *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*)⁽¹⁾. Es la afección tropical y la causa de miocarditis más común, en toda América Latina con 24.7 millones de infectados, de los cuales se estima que el 25% desarrollará una miocardiopatía chagásica crónica, caracterizada por insuficiencia cardíaca congestiva, arritmias cardíacas complejas, incapacidad laboral y muerte súbita^(2, 3). La forma más frecuente de transmisión del parásito es a través de insectos vectores, además por vía perinatal, trasplantes de órganos, transfusión sanguínea y por accidentes de laboratorio⁽⁴⁾. Esta enfermedad cursa por: una etapa aguda, una crónica asintomática y otra crónica cardíaca o crónica digestiva⁽⁵⁾. Una vez superada la fase aguda se desarrolla un proceso inflamatorio crónico con un incremento del daño celular que conduce a un deterioro de la función cardíaca. El desafío más interesante para entender la fisiopatología de la forma cardíaca de la enfermedad de Chagas todavía yace en la compleja interacción entre el parásito y el huésped⁽⁶⁾. Está claro que una variedad de factores, dependientes tanto del hospedador como del parásito, están involucrados en determinar la resistencia o susceptibilidad a la infección. En relación al hospedador, los genes del Sistema Mayor de Histocompatibilidad (SMH) parecen importantes para determinar el desarrollo de la infección^(7, 8), pero el sexo es un factor cuya influencia no ha sido claramente establecida^(9, 10). El sexo masculino en la miocardiopatía chagásica constituye un factor de mal pronóstico. Los pacientes varones son más propensos al daño celular⁽¹¹⁾ con una mortalidad global mayor entre los hombres con edades comprendidas entre 30 y 59 años, lo cual se ha relacionado con una mayor frecuencia de alteraciones electrocardiográficas⁽¹²⁾. El objetivo del siguiente trabajo es determinar como el factor sexo influye en individuos infectados con *T. cruzi*.

Material y método

Animales: Ratones Albino Suizos adultos de un peso promedio de 30 ± 1 g. **Parásitos:** Tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi*, pertenecientes a la cepa Tulahuen. **Infección:** 50 tripomastigotes/animal, inoculados por vía intraperitoneal.

Diseño Experimental

Los animales se dividieron en los siguientes grupos:

- Machos: (n: 73) y Hembras: (n: 64).

En ambos grupos se determinó:

Parasitemia: Determinada en Cámara de Neubauer en muestras de sangre de la cola de los ratones cada 7 días.

Sobrevida: Monitoreada diariamente.

Además, antes de la infección y a los 90, 180, 270 y 360 (dpi) se les realizó:

Histopatología: Los corazones y el músculo es-

quelético fueron disecados. El órgano se fijo en buffer (pH 7.0) 10% de formol y fue embebido en parafina. El tejido se rebanó horizontalmente y las rodajas de 5 mm de espesor se tiñeron con la técnica del hematoxilina-eosina y tinción de Gomori. Se analizó un total de 50 rodajas de cada grupo. Se examinaron 30 áreas de cada rodaja con un objetivo de 40 X. Se cuantificaron las áreas con infiltrados inflamatorios y fibrosis con el programa AxioVision.

Inmunofluorescencia: Para la visualización de los parásitos en los tejidos. Se utilizaron secciones de tejido de músculo esquelético y cardíaco incubadas con el anticuerpo anti *T. cruzi* y luego con el anticuerpo fluorescente y observadas en microscopio de fluorescencia.

Análisis Estadísticos: Los datos se analizaron de acuerdo a la naturaleza de la variable en estudio (ANAVA, regresión no lineal, datos categóricos y test de comparaciones múltiples). Se consideró significativo un $p < 0,05$.

Resultados

Parasitemia: La evolución de los niveles de parásitos circulantes en sangre de los grupos infectados con *T. cruzi* cepa Tulahuen a lo largo de la infección experimental demostraron que ambos grupos presentan un pico de parasitemia a los 21 días aproximadamente, presentando los machos niveles de parasitemia significativamente mayores ($p < 0,05$) y luego comienza a disminuir hasta no detectarse parásitos a los 56 dpi.

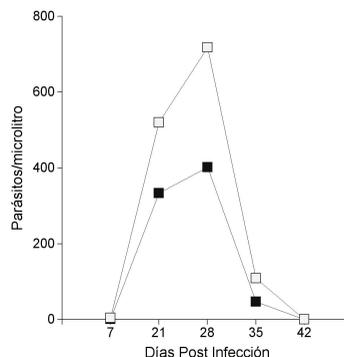


Figura 1: Evolución de la parasitemia de ratones infectados con *T. cruzi*, cepa Tulahuen, machos (□, n: 73) y hembras (■, n: 64). (Machos vs. hembras: $p < 0,05$). Los valores expresan media \pm error estándar.

Sobrevida: La sobrevida de los grupos estudiados a lo largo de la evolución de la infección demostró que la mayor mortalidad se produjo entre los 21 y 28 dpi. A los 270 dpi. (estadio crónico cardíaco), sobrevivió un macho (3%) cada 7,6 hembras (23%). Figura 2

Histopatología: En la histopatología de músculo es-

quelético y cardíaco analizados en ratones infectados se observó la presencia de infiltrados inflamatorios a lo largo de toda la infección. Figuras 3, 4, 5 y 6

Inmunofluorescencia: Las inmunofluorescencias de ratones infectados mostraron la presencia de *T. cruzi* a lo largo de toda la infección en músculo esquelético y sólo a los 90 dpi en miocardio. Figuras 7, 8 y 9

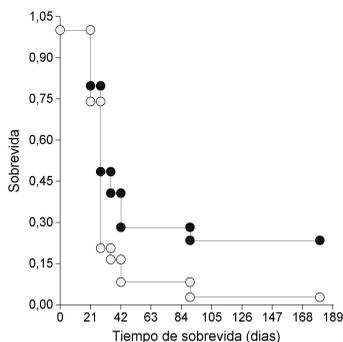


Figura 2: Supervivencia de ratones infectados con *T. cruzi*, cepa Tulahuen, machos (●, n: 73) y hembras (○, n: 64). (Machos vs. hembras: $p < 0,05$). Los valores expresan media \pm error estándar.

Discusión

Múltiples factores, tanto dependientes del hospedero como del parásito, están involucrados en la determinación de la resistencia o susceptibilidad a la infección con *T. cruzi*. El sexo es un factor cuya influencia no ha sido claramente establecida. La existencia de esta diferencia entre sexos es ampliamente aceptada (13) aunque no se conocen aún con exactitud los mecanismos fisiopatológicos responsables de la misma. La menor incidencia de enfermedad isquémica cardiovascular en mujeres premenopáusicas sugiere un rol protector de los estrógenos sobre el sistema cardiovascular (14). El envejecimiento del lecho vascular es en el hombre un proceso progresivo y regular, en cambio en la mujer está francamente precipitado por la menopausia. Evidencias recientes indican que en mujeres los estrógenos estimulan la producción por el endotelio vascular de óxido nítrico, que es un importante vasodilatador (15). En el presente trabajo se pudo observar que el nivel de parasitemia en los ratones machos fue significativamente superior al de las hembras. La mayor mortalidad se produjo entre los 21, 28 y a los 360 dpi (estadio crónico) sobrevivió un macho (3%) cada 7,6 hembras (23%). En machos y hembras se encuentran a lo largo de los 360 dpi infiltrados inflam-

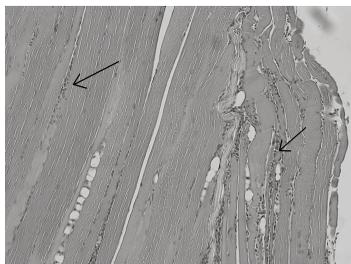


Figura 3: Músculo esquelético de ratón infectado con *T. cruzi* a los 90 dpi. (20X).

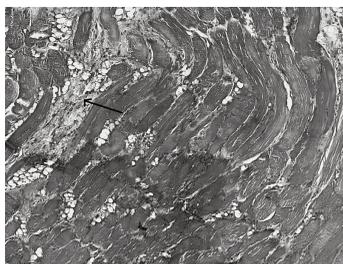


Figura 4: Músculo esquelético de ratón infectado con *T. cruzi* a los 360 dpi. (20X).

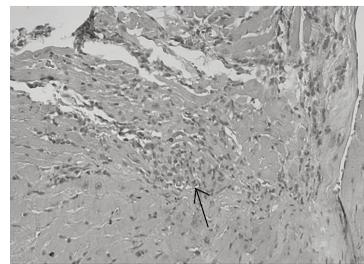


Figura 5: Miocardio de ratón infectado con *T. cruzi* a los 90 dpi. (40X).

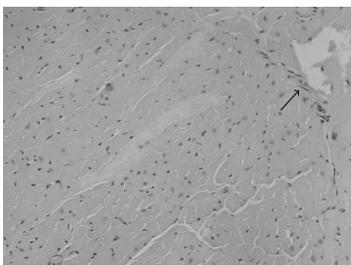


Figura 6: Miocardio de ratón infectado con *T. cruzi* a los 360 dpi. (40X).

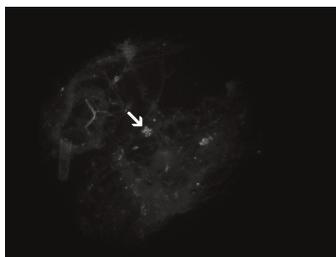


Figura 7: Inmunofluorescencia anti *T. cruzi* en músculo esquelético de ratones infectados a los 90 dpi

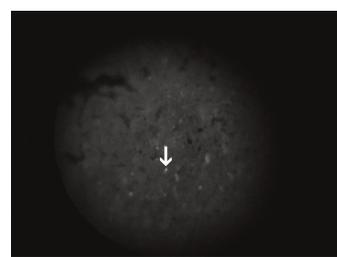


Figura 8: Inmunofluorescencia anti *T. cruzi* en músculo cardíaco de ratones infectados a los 90 dpi.

atorios, fibrosis y parásitos en los tejidos analizados. Los machos demostraron mayor susceptibilidad a la infección y consecuentemente más mortalidad que las hembras, en este modelo murino infectados con *T. cruzi* cepa Tulahuen, pero las características de la infección y la miocardiopatía que desarrollan son de características similares.



Figura 9: Inmunofluorescencia anti *T. cruzi* en músculo esquelético de ratones infectados a los 360 dpi.

Se ha sugerido que las hormonas sexuales tendrían un efecto importante en la infección con *T. cruzi* y que la función inmunoinhibidora de la testosterona sería responsable de la diferente susceptibilidad de machos y hembras. Pero esto no sería solamente consecuencia de diferencias en los niveles de una hormona u otra, sino que debe existir una compleja regulación neuroendócrina-inmunológica en el control de los niveles de parasitemia y la susceptibilidad o resistencia a la infección.

Referencias

- (1) Rassi A, Tranchesi B. Doença de Chagas. En: Veronesi A, Editor. Doença Infecciosas Parasitarias. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 1991. p. 674-705.
- (2) Moncayo A. Chagas disease: current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone countries. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2003, 98(5): 577-591.
- (3) Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simões MV. Pathogenesis of Chronic Chagas heart disease. *Circulation* 2007, 115: 1109-1123.
- (4) Atías, A.; Neghme, A. *Enfermedad de Chagas. Parasitología Clínica*. 1991. Cap 30. Editorial Mediterránea 3ª Ed. 251-263.
- (5) Apt BW, Heitmann GI, Jercic LMI et al. Guías clínicas de la enfermedad de Chagas: Parte II. *Enfermedad de Chagas en el adulto, la infancia y adolescencia*. *Rev Chil Infectol* 2008, 25(3): 194-199.
- (6) Kierszenbaum F. Where do we stand on the autoimmunity hypothesis of Chagas disease? *Trends Parasitol* 2005, 21: 513-516.
- (7) Wrightsman R, Krassner S, Watson J. Genetic control of response to *Trypanosoma cruzi* in mice: Multiple genes influencing parasitemia and survival. *Infect Immun* 1982, 36: 637-644.
- (8) Juri MA, Ferreira A, Ramos A et al. Non-lytic antibodies in H-2 controlled resistance to acute infection with *Trypanosoma cruzi*. *Braz J Med Biol Res* 1990, 23: 685-695.
- (9) Goble F C. Lack of effect of sex hormones on the course of experimental Chagas disease in mice. *J Parasitol* 1952, 78: 15-16.
- (10) Hauschka T. Sex of host as factor in Chagas disease. *J Parasitol* 1947, 33: 399-405.
- (11) López L, Arai K, Giménez E, Jiménez M, Pascuzo C, Rodríguez-Bonfante C, Bonfante-Cabarcas R. C-reactive protein and interleukin-6 serum levels increase as Chagas disease progresses towards cardiac failure. *Rev Esp Cardiol* 2006; 59(1): 50-56.
- (12) Basquiera AL, Sembaj A, Aguerri AM, Omelianuk M, Guzmán S, Moreno Barral J, Caeiro TF, Madoery RJ, Salomone OA. Risk progression to chronic Chagas cardiomyopathy: influence of male sex and of parasitaemia detected by polymerase chain reaction. *Heart* 2003, 89: 1186-90.
- (13) London GM, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Stimpel M. Influence of sex on arteria hemodynamics and blood pressure role of body height. *Hypertension* 1995, 26: 514-519.
- (14) Roselli M, Imthurn B, Keller PJ, Jackson EK, Dubey RK. Circulating nitric oxide (nitrite/nitrate) levels in postmenopausal women substituted with 17 beta-estradiol and norethisterona acetato: a two year follow-up study. *Hypertension* 1995, 25: 848-853.
- (15) Practico D, FitzGerald GA. Testosterone and thromboxane: Of muscles, mice and men. *Circulation* 1995, 91: 2694-2698.