

# INDUCCION DE PLACAS ATEROMATOSAS EN RATAS WISTAR CRÓNICAMENTE INFECTADAS CON *TRYPANOSOMA CRUZI*, ALIMENTADAS CON DIETA RICA EN GRASAS

Elio A. Moreno<sup>1</sup>, José L. Paredes<sup>1</sup>, Gloria Premoli<sup>2</sup>, Maritza Alarcón<sup>1</sup>, Ana Lugo de Yarbuh<sup>1</sup>, Juana Villarreal<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Parasitología Experimental (LAPEX), Facultad de Ciencias.

<sup>2</sup>Centro de Investigaciones Odontológica, Facultad de Odontología: Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

**CORRESPONDENCIA:** Prof. Elio A. Moreno. Laboratorio de Parasitología Experimental (LAPEX), Facultad de Ciencias. Teléfono: 0274-2401244, Email: emorenob@ula.ve

Fuente de financiamiento: CDCHT-ULA-C-1488-07-03-C.

Recibido: 01-07-09.

Aceptado: 21-06-10

## RESUMEN

En el presente trabajo se investiga la inducción de placas ateromatosas en ratas albinas machos, cepa Wistar (*Rattus norvegicus*) crónicamente infectadas con *Trypanosoma cruzi* y alimentadas ad libitum con una dieta rica en grasas de origen vegetal, durante tres meses. La infección crónica evidenciada por pruebas sero-parasitológicas, reveló presencia de anticuerpos IgG anti- *T. cruzi* y ausencia de parasitemias patentes. La dieta rica en grasas produjo en las ratas infectadas (A) y sanas (C) un aumento significativo en el peso ( $P < 0,05$ ), en comparación con las ratas controles (B) y sanas (D) sometidas a la dieta normal. El estudio histopatológico de secciones de la arteria aorta de las ratas del grupo A (infectadas/dieta grasa), mostró abundantes depósitos lipídicos, procesos inflamatorios (vasculitis) y placas ateromatosas en formación. En las secciones de corazón y músculo esquelético se evidenció miocarditis y miositis con características de cronicidad sin parasitismo tisular. Las pruebas inmunohistoquímicas aplicadas a los cortes de arteria, corazón y músculo esquelético de las ratas infectadas A (infectadas/dieta-grasa) y B (infectadas/dieta-normal), mostraron abundantes depósitos antigénicos, lo que indica persistencia de antígenos parasitarios. En conclusión, las ratas infectadas con *T. cruzi* alimentadas con la dieta rica en grasas, tienen una mayor propección a desarrollar placas at-

romatosas. Los resultados demostraron que una dieta hiperlipídica es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad ateromatosa en individuos con enfermedad de Chagas.

**Palabras Clave:** *Placas ateromatosas, Ratas Wistar, Trypanosoma cruzi, Dieta, Grasas.*

## ABSTRACT

This work is focused on the induction of atheromatous plaques in male albino rats (*Rattus norvegicus*), Wistar, chronically infected with *Trypanosoma cruzi* and fed ad libitum with diet rich in fats of vegetal origin, during three months. The chronic infection detected by serological and parasitological assays, revealed the presence of antibodies IgG anti- *T. cruzi* and the absence of patents parasitemias. The diet rich in fats produced in the group of infected rats (A) and the group of healthy rats (C) a significant increase in the weight ( $P < 0,05$ ), in comparison with the control group of infected rats (B) and the group of healthy rats (D), fed with a normal diet. The histopathological study of sections of the aorta artery of the rats of the group (A) (infected/diet fat), showed abundants lipid deposits, inflammatory processes (vasculitis) and atheromatous plaques in development. The sections of the heart and skeletal muscle showed pictures of a myocarditis and myositis with features of chronic tissue without

parasitism. The immunohistochemistry assays applied to the cuts of artery, heart and skeletal muscle of the infected rats A (diet/fat) and B (normal/diet), showed abundants antigen deposits. In conclusion, the rats chronically infected with *T. cruzi* and fed with a diet rich in fats, have a main propensity to develop atheromatous plaques. The results showed that a hyperlipidic diet is a risk factor for the development of atheromatous disease in individuals with Chagas' disease.

**Key Words:** Atheromatous plaques, Wistar rats, *Trypanosoma cruzi*, Fat, Diet.

## INTRODUCCIÓN

La aterosclerosis es un proceso multifactorial en el que están implicados factores genéticos y ambientales (1). Es la patología vascular de mayor prevalencia a nivel mundial y por lo tanto, ha sido motivo de gran cantidad de investigaciones que apuntan a definir los diversos mecanismos que contribuyen con el desarrollo del proceso aterogénico, con el fin de poder instrumentar medidas tendientes a prevenir su desarrollo en la población general o a disminuir su progresión en los pacientes ya afectados. Su desarrollo se inicia con la acumulación y oxidación de las lipoproteínas plasmáticas en el ambiente subendotelial (formación de la estría grasa); activación de las células del endotelio vascular; acumulación de lípidos en la pared vascular (formación de la célula espumosa) y proliferación y migración de las células musculares lisas hacia la capa íntima (2,3).

En la aterogénesis se han identificado elementos patogénicos que podrían explicar la asociación de infección-aterosclerosis; se ha sugerido que las infecciones crónicas producidas por bacterias (*Chlamydia pneumoniae*, *Porphyromonas gingivalis* y *Helicobacter pylori*), virus (Citomegalovirus, Epstein barr y Herpes virus) y protozoarios (*Toxoplasma gondii*) están asociadas con el desarrollo de esta patología, lo que justifica que se investiguen estas asociaciones activamente mediante estudios epidemiológicos, patológicos, clínicos y experimentales. Los principales argumentos que apoyan esta tesis proceden de estudios epidemiológicos que demuestran un aumento en la frecuencia de infecciones crónicas o de anticuerpos contra diversos patógenos en pacientes con aterosclerosis, básicamente pacientes con enfermedad coronaria o accidentes cerebrovasculares (ACV). Por otro lado, se ha observado que aproximadamente entre el 40 y 50% de los pacientes con enfermedad cardiovascular o que han sufrido un infarto agudo al zmiocardio y/o ACV, carecen de

los factores de riesgo tradicionales (cigarrillo, hipertensión arterial, diabetes mellitus, síndromes metabólicos, genéticos, inmunológicos y obesidad). Tales factores no explican claramente las diferencias en la prevalencia y severidad de la enfermedad arterial coronaria, lo que induce a explorar otros factores tales como son los procesos infecciosos, los cuales demuestran una asociación epidemiológica fuerte e independiente con incidencia en la aterosclerosis (4-8)

La infección crónica por *Trypanosoma* (*Schistosypanum*) *cruzi* (Kinetoplastida: Tripanosomatidae) y su relación en la inducción de la aterosclerosis ha sido sugerida por diferentes investigadores (9-12). El efecto de la infección chagásica sobre la aterogénesis podría estar relacionada con la inducción de una inflamación crónica persistente, la cual causa un espectro de efectos sistémicos que se manifiestan por la producción de citocinas, proteínas, anticuerpos y activación de leucocitos; de igual forma la autoinmunidad como consecuencia de la perpetuación de la respuesta inflamatoria la cual suministra mecanismos adicionales que podrían influir en el curso de la aterosclerosis (13-14).

Estudios experimentales, han mostrado que la combinación de la infección aguda por *T. cruzi* y una dieta rica en colesterol, produce un proceso aterogénico temprano en ratones CBA/J (14). Igualmente, ratas crónicamente infectadas con *T. cruzi* y alimentadas con una dieta rica en grasas mostraron alteraciones significativas en el perfil lipídico, con aumento en los niveles de colesterol total, y disminución de los niveles de colesterol HDL (15). Por otro lado, conejos infectados con *T. cruzi* Y a los cuales se les administró una dosis diaria de colesterol, mostraron alteraciones en el metabolismo proteico estadísticamente significativa y alteraciones histopatológicas importantes (16).

Una dieta hiperlipídica es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad ateromatosa en individuos con enfermedad de Chagas, en este estudio, se investiga en ratas Wistar con infección chagásica crónica, la inducción de placas ateromatosas cuando son sometidas a una dieta rica en grasas de origen vegetal, mediante pruebas, histopatológicas e inmunohistoquímicas.

## MÉTODOS

### Parásitos

Se utilizaron parásitos de la cepa de *T. cruzi* "Planalto", aislada a partir de un *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) capturado en los alrededores del Instituto de

Biología Experimental en la ciudad de Caracas y caracterizada genéticamente como perteneciente al linaje I (T.c.I). Los parásitos han sido mantenidos en ratones NMRI, medio de cultivo NNN y en triatomíneos (*Rhodnius prolixus*) nacidos en el Insectario de cría "Dr. Herman Lent" del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias, alimentados sobre gallina.

### Inoculación de las ratas

Se utilizaron 28 ratas albinas (*Rattus norvegicus*), machos, cepa Wistar, de 15 a 20 días de nacidos, adquiridas en el Bioterio de cría de la Universidad de Los Andes (BIOULA), Mérida, Venezuela. Los tripomastigotes metacíclicos de *T. cruzi* fueron obtenidos de las deyecciones postprandiales de ninfas del V estadio de *R. prolixus* con 30 días de infectadas (17). Las formas flageladas fueron contadas en 100 campos microscópicos con objetivo de 40x siguiendo el método modificado por Brener (18). El número de tripomastigotes metacíclicos fue ajustado para contener un inóculo aproximado de  $5 \times 10^4$  formas metacíclicas en un volumen de 0,1 mL de la suspensión que fue inoculada por vía intraperitoneal (IP) en cada una de las 14 ratas juveniles. Igualmente, las otras 14 ratas utilizadas como controles sanas, fueron inyectadas por vía IP con 0,1 mL de solución salina al 0,85%. Ambos lotes de ratas se mantuvieron en jaulas separadas en el Bioterio experimental alimentadas con dieta comercial de ratarinaR (Protinal) y agua ad libitum.

### Evaluación de la infección crónica

Entre los 90 y 120 días postinfección (pi), se les extrajo a cada una de las ratas una muestra de sangre con capilares heparinizados del plexo retro-orbital estando los animales ligeramente anestesiados. Una parte de la sangre fue recogida en capilares para hematocrito y centrifugada para concentrar las formas sanguícolas del parásito (19), la otra parte, colectada en viales de plástico se utilizó para separar los sueros por centrifugación a fin de utilizarlos en la detección de anticuerpos (Ac) específicos IgG anti-*T. cruzi*, empleando las técnicas de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) (20). Grupos experimentales y administración de la dieta rica en grasas

Una vez verificado el estado de cronicidad de la infección chagásica, las 14 ratas fueron distribuidas aleatoriamente en dos grupos. El grupo A, integrado por 7 ratas con un peso promedio de  $343,85 \pm 2,32$  g, fueron alimentadas con la dieta rica en grasas y agua ad libitum durante tres meses. El grupo B, conformado por 7 ratas con peso promedio de

$317,14 \pm 2,18$  g, fueron alimentadas con ratarina normal y agua ad libitum durante el mismo lapso de tiempo. Igualmente, las 14 ratas controles sanas fueron distribuidas aleatoriamente en dos grupos. Un grupo C, constituido por 7 ratas sanas con peso promedio de  $338,58 \pm 2,12$  g, fueron alimentadas con la dieta rica en grasas durante tres meses y el grupo D, conformado por 7 ratas sanas con peso promedio de  $334,28 \pm 2,22$  g, recibieron como dieta ratarina normal y agua ad libitum durante el mismo lapso de tiempo.

### Composición de las dietas

La dieta rica en grasas consistió en impregnar completamente 1 Kg de ratarina (cuyo contenido porcentual era de: proteínas cruda 26%, grasas cruda 2%, fibra cruda 6%, extractos libre de nitrógeno 40%, suplementada con vitaminas A, B1, B12, D3, E, ácido patoténico, biotina, colina, niacina, antioxidantes y minerales trazas Co, Cu, Mn, Fe, I y Zn) en 500 g de mateca vegetal derretida (compuesta de: 14 g de grasa total; 2,5 g de ácidos grasos saturados; 4,0 g de ácidos grasos monoinsaturados y 7,5 g de ácidos grasos poli-insaturados). Cada tres días se colocó 400 g de los granos secos de ratarina suplementados con manteca vegetal en las jaulas de los grupos A y C, durante tres meses; igualmente, se les colocó a las jaulas de los grupos B y D, 400 g de ratarina normal a fin de que los animales se alimentaran sin restricción.

### Obtención de tejidos

Una vez finalizado el período de alimentación en los grupos experimentales, todos los animales fueron sacrificados. Después de la necropsia se extrajeron fragmentos de la arteria aorta, la cual fue dividida en sus tres porciones anatómicas: aorta ascendente, cayado aórtico y aorta descendente; el corazón completo fue cortado frontalmente en dos partes y fragmentos de músculo esquelético poplíteo. Los trozos de tejidos previamente identificados, se colocaron en una cápsula de Petri con solución salina al 0,85%, lavados y fijados en formalina neutra al 10% durante 48 horas. Tres trozos de arteria de cada una de las ratas, se incluyeron de manera orientada en el medio OCT-CRYO form en viales de 2 mL para ser conservadas a  $-70^\circ\text{C}$  en nitrógeno líquido. Las muestras congeladas de arteria, se cortaron en un Criostato (Leyca NC 1900) en secciones de  $5 \mu\text{m}$  de espesor, se procesaron y colorearon con Aceite Rojo "O" siguiendo el procedimiento utilizado por Paredes y col. (15). El resto de los trozos de arteria, corazón y músculo esquelético fueron incluidos en Pa-

raplast (Monojet Scientific, St. Louis, MO, USA). Los cortes de 6  $\mu\text{m}$  de espesor se hicieron en un microtomo American Optical Spencer y fueron teñidos con las técnicas histológicas tradicionales de Hematoxilina-Eosina (HE) y Giemsa-Pappenheim-colofonio (21) y con las técnicas inmunohistoquímicas de Peroxidasa anti-peroxidasa (PAP) e IFI (22).

### **Análisis estadístico**

Los valores obtenidos del peso de cada animal antes y después del tratamiento, se sometieron a un análisis de variancia de dos vías, para la comparación entre los diferentes grupos experimentales (23).

El manejo de los animales experimentales se llevó a cabo siguiendo el protocolo diseñado para el manejo de animales de experimentación del Comité de Bioética y Seguridad del FONACIT ([www.fonacit.gob.ve](http://www.fonacit.gob.ve)) en su Capítulo 2.

## **RESULTADOS**

### **Evaluación de la infección chagásica crónica**

Los exámenes parasitológicos directos utilizando el microhematocrito como método de concentración, no mostró parasitemias patentes de *T. cruzi*. Por otro lado, se detectaron anticuerpos del isotipo IgG específicos anti-*T. cruzi* en el 100% de los sueros de las ratas crónicamente infectadas, los títulos de Ac oscilaron entre 1:128 y 1:1024, respectivamente.

El análisis estadístico aplicado a los valores de peso de las ratas obtenido durante el período de consumo de la dieta rica en grasas y la dieta normal, mostró un incremento estadísticamente significativo ( $P < 0,05$ ) entre los grupos A y B; A y D; B y C; D y C (Tabla 1). Estos resultados indican que la dieta rica en grasas produjo un aumento importante en el peso de las ratas tratadas, respecto a los animales controles.

### **Presencia de depósitos lipídicos**

El estudio minucioso de las secciones de arteria aorta (ascendente y callado aortico) de las ratas del grupo A (infectadas/dieta grasa) tratadas con aceite rojo "O", mostraron abundantes depósitos lipídicos ubicados en la capa muscular de la pared arterial próximos a las capas íntima y adventicia. No obstante, estos depósitos lipídicos no fueron observados en los cortes de arterias obtenidas de ratas de los grupos B (infectadas/dieta normal), C (sanas/dieta grasa) y D (sanas/dieta normal) (Figs. 1AB).

### **Estudio histopatológico de las arterias**

En el 57,14% (4/7) de las secciones obtenidas de las tres porciones de las arterias de las ratas del grupo A (infectadas/dieta grasa), se observaron infiltrados inflamatorios asociados a la capa adventicia compuesto por linfocitos, mastocitos degranulados, monocitos y macrófagos. Igualmente, se evidenciaron placas ateromatosas ubicadas a nivel de la capa muscular de la porción ascendente de la aorta. Las placas estaban formadas por un núcleo lipídico en el cual se encontraba un grupo de células espumosas limitadas por un casquete fibroso bien definido, compuesto de fibras elásticas y fibras musculares, algunas en proliferación (Fig. 1D). Las secciones de arteria aorta de las ratas del grupo B (infectadas/dieta normal), mostraron una capa íntima y una capa muscular de aspecto conservado, con un discreto infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por linfocitos, monocitos y mastocitos degranulados, limitado a la capa adventicia, lo que define una vasculitis, siendo más acentuada en la porción ascendente de la arteria. Las secciones de arterias obtenidas de las ratas del grupo C (sanas/dieta grasa), presentaron una capa íntima ligeramente engrosada o hipertrófica, mientras que en las arterias de las ratas del grupo D (sanas/dieta normal), la capa íntima era lisa y delgada con células endoteliales continuas de estructura normal, la capa media presentó fibras elásticas y fibras musculares lisas regularmente dispuestas con núcleos monótonos con cromatina homogénea y una capa adventicia de apariencia normal (Fig. 1C).

### **Características histopatológicas del corazón y músculo esquelético**

En los cortes de corazón y músculo esquelético de las ratas infectadas (A y B), se evidenció una miocarditis y miositis con características de cronicidad de variable intensidad. Abundantes focos de infiltrado inflamatorio de naturaleza linfocitaria, acompañados de mastocitos degranulados, pérdida de la continuidad en algunas fibras musculares, así como procesos de fibrosis intersticial. Sin embargo, a pesar de la intensidad de la respuesta inflamatoria señalada en estos tejidos, no se detectaron nidos de amastigotes de *T. cruzi* en los cortes analizados.

### **Estudio inmunohistoquímico**

Las secciones de corazón y músculo esquelético tratados con las técnicas de PAP e IFI, mostraron la presencia de abundantes depósitos antigénicos dispersos y focalizados

entre y sobre las fibras musculares, sin parasitismo tisular. En las secciones de arterias de las ratas de los grupos A (infectadas/dieta grasa) y B (infectadas/dieta normal), se detectaron focos de reacción antigénica a nivel de la capa muscular (Figs. 1EF). En las secciones de corazón y músculo esquelético de las ratas de los grupos C (sanas/dieta grasa) y D (sanas/dieta normal), no se evidenciaron reacciones antigénicas.

## DISCUSIÓN

En la búsqueda de una explicación sobre los efectos de la infección chagásica crónica en la génesis de la aterosclerosis, hemos utilizado el modelo experimental rata Wistar, considerada por diferentes investigadores como un animal susceptible a las infecciones naturales y experimentales con diferentes cepas de *T. cruzi*, el cual incorpora un mínimo de atributos que fueron originalmente precisados para un modelo animal, tales como variación en las respuesta inmunológica y alteraciones electrocardiográficas y patológicas que semejan, en parte, a lo que ocurre en la enfermedad de Chagas humana (24,25).

El estudio histopatológico realizado en corazón y músculo esquelético de las ratas crónicamente infectadas, mostraron una miocarditis y miositis con características de cronicidad sin parasitismo tisular, es decir, infiltrados inflamatorios asociados a la destrucción de fibras musculares y procesos fibróticos. Tales hallazgos fueron similares a los reportados por Moreno y col. (26) en ratas Wistar hembras crónicamente infectadas con *T. cruzi*, y a lo reportado en tejido miocárdico humano con enfermedad de Chagas crónica (27,28).

En las tres porciones de la arteria aorta de las ratas del grupo A (infectadas/dieta grasa), tratadas con aceite rojo "O", se evidenciaron abundantes depósitos lipídicos, asociados a la capa media o muscular en la pared de la arteria. Estos depósitos lipídicos son los que constituyen la llamada estría grasa, lesión incipiente precedente a la formación de las placas ateroscleróticas. No obstante, estos depósitos lipídicos no fueron observados en las arterias de las ratas del grupo C (sanas/dieta grasa), ni en las ratas del grupo B (infectadas/dieta normal). Igualmente, el análisis histopatológico mostró la presencia de placas ateromatosas ya formadas en un número importante de ratas del grupo A (infectadas/dieta grasa); presencia de infiltrado inflamatorio de predominancia linfocitaria asociada a la capa adventicia, sin parasitismo tisular apreciable. Igualmente, se observó en las secciones de arteria de las ratas de ambos grupos, depósitos antigénicos de *T. cruzi* a nivel de la capa muscular. Estos hallazgos, nos permite sugerir, que si bien el efecto

proaterogénico no es causado directamente por la presencia del parásito en el lecho vascular, si puede ser causado indirectamente por la persistencia del parásito en otros órganos o tejidos como el corazón y músculo esquelético, o bien por los restos antigénicos de pequeño tamaño que podrían permear hacia la capa muscular desde la sangre a través del tejido endotelial, lo que actuaría como un estímulo inflamatorio local importante, que podría promover en las ratas infectadas del grupo B el desarrollo de placas ateromatosas en un tiempo más prolongado, aun cuando estos animales no estuvieran sometidas a la dieta rica en grasa, es decir, no existiendo un factor de riesgo tradicional precedente (29,30).

La presencia de placas ateromatosas en formación a nivel de las finas ramificaciones coronarias, podrían ocasionar alteraciones microvasculares, las cuales jugarían un papel significativo en la patogénesis de la cardiopatía chagásica crónica en humanos, tal como lo proponen Rossi y Carobrez (31) y Figuereido y col. (32). No obstante, en las ratas del grupo C sometidas a la misma dieta rica en grasas, ni en las ratas del grupo B infectadas con *T. cruzi*, no se evidenciaron tales depósitos lipídicos. Estos resultados plantean que efectivamente, la combinación o interacción infección chagásica/dieta rica en grasa, son factores que predisponen y/o aumentan el riesgo de aterosclerosis y de enfermedades cardiovasculares en general (33).

Las inmunotinción con PAP e IFI, revelaron abundantes focos de reacción a nivel de la capa adventicia de las arterias de las ratas de los diferentes grupos experimentales. Sin embargo, es posible que se produzca reacción cruzada con los eritrocitos y demás componentes celulares de la sangre, debido a la presencia del lecho vascular de la Vasa Vasorum, cuya función es nutrir la capa adventicia y parte de la gruesa capa muscular de la arteria aorta, por lo que la presencia de restos antigénicos del parásito a este nivel de la pared arterial, pudieron ser enmascarados por las reacciones inespecíficas. La presencia de los restos antigénicos tanto a nivel de la adventicia como en la capa muscular, explicaría en parte, la presencia del infiltrado inflamatorio (vasculitis) en estos tejidos. El estado de vasculitis ha sido igualmente reportado por Sunnemark y col.(14), los cuales mediante inmunomarcaje detectaron infiltrados inflamatorios compuesto por linfocitos CD4+, CD8+ y macrófagos tanto a nivel de la capa adventicia como de la capa íntima de arterias de ratones infectados con *T. cruzi* y ratones infectados con *T. gondii* (8). Por otro lado, la presencia de depósitos antigénicos y de infiltrado inflamatorio, probablemente corresponda a parásitos provenientes de la ruptura de células hospedadoras infectadas dispersas

entre las células inflamatorias que median su destrucción.

Es importante resaltar que no todas las ratas infectadas que recibieron la dieta con alto contenido en grasas desarrollaron procesos incipientes de placas ateromatosas, esto se debe a que la rata es muy resistente al desarrollo de aterosclerosis y al igual que el ratón y el perro, se reproducen lesiones vasculares en la íntima y en la media sólo tras el consumo de una dieta rica en colesterol junto con la administración de tiouracilo y ácido cólico (33).

Finalmente, podemos concluir que el marcado infiltrado inflamatorio y la presencia de restos antigénicos en tejido cardíaco y muscular esquelético evidencian la persistencia de *T. cruzi*, cuyo proceso infeccioso extravascular induce un estado inflamatorio a nivel de la capa adventicia de la pared arterial. Por otro lado, los restos antigénicos del parásito, tienen la capacidad de traspasar el endotelio hacia la capa muscular de la aorta, estimulando un proceso inflamatorio; el estado inflamatorio producido por la infección crónica con *T. cruzi* tanto a nivel sistémico como local, in-

duce, en combinación con una dieta rica en grasa, la acumulación de lípidos en la pared arterial y el subsiguiente desarrollo de placas ateromatosas, aun cuando la dieta no haya ocasionado un perfil lipídico vascularmente desfavorable (15); los resultados obtenidos podrían ser extrapolados a la población humana, de manera que la infección crónica con *T. cruzi* ya no debería considerarse un hecho aislado, constituyendo un factor de riesgo aterogénico de gran peso, con incidencia en la morbilidad y mortalidad de la población humana que se encuentra infectada con este parásito.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico por el financiamiento a través del Proyecto CDCHT-C-1488-07-03-C. A la Comisión de Estudios del Pregrado (CODEPRE) de la Universidad de Los Andes por el apoyo a los estudiantes del Pregrado.

Tabla 1. Variación en el peso (g) de ratas Wistar crónicamente infectadas con *T. cruzi* y sanas; al inicio (0 días) y al final (90 días) de la administración ad libitum de la dieta rica en grasas y ratarina normal

<b>GRUPO A</b>	<b>GRUPO B</b>	<b>GRUPO C</b>	<b>GRUPO D</b>
Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)	PESO (g)
343,6 ± 2,3	317,1± 2,1	338,9 ± 2,1	334,3± 2,2
505,0 ± 2,3	357,9 ± 3,0	487,4 ± 3,0	423,8 ± 2,6

P<0,05

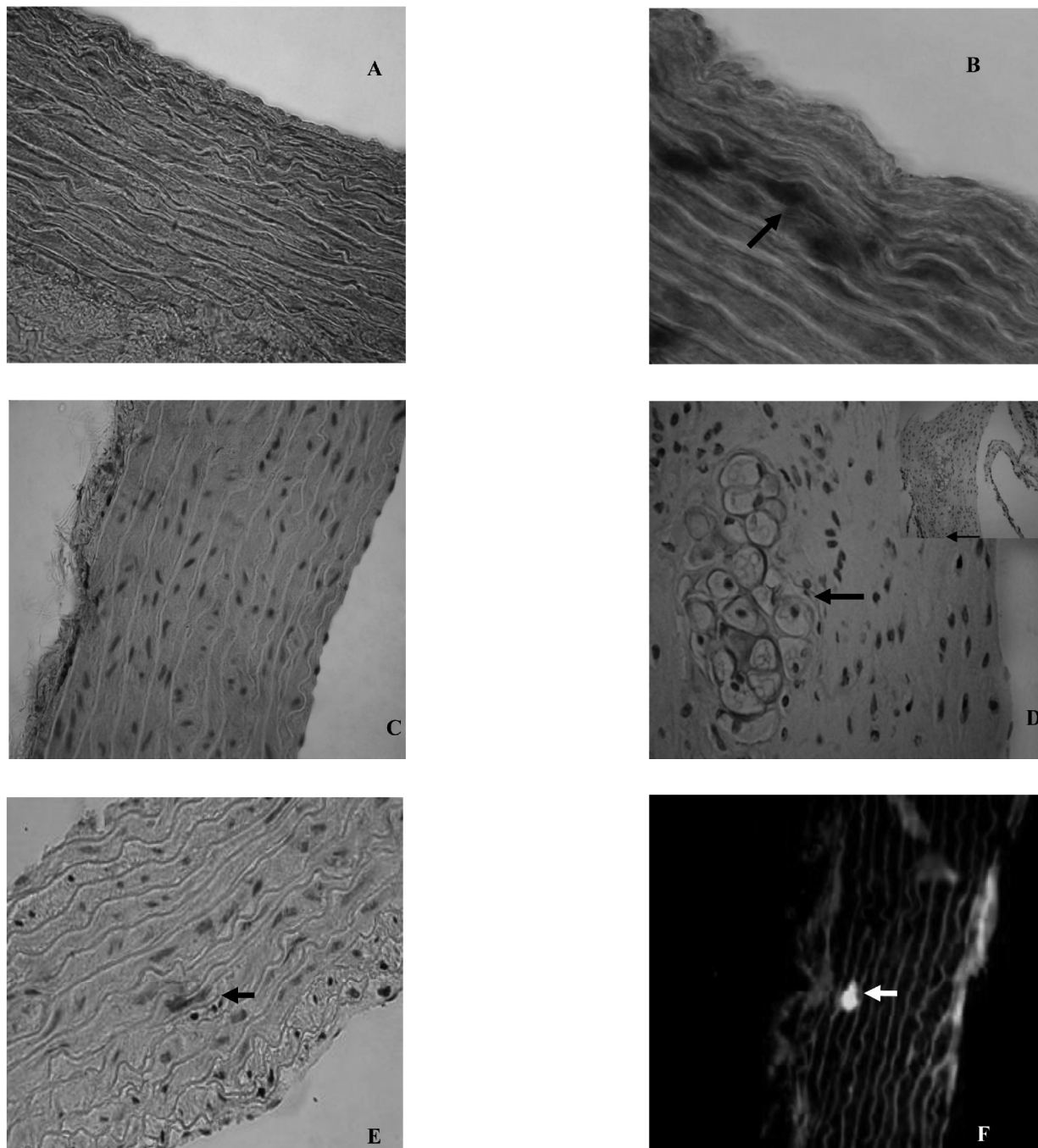
Grupo A: Infectadas/dieta rica en grasas

Grupo B: Infectadas/dieta normal de ratarina

Grupo C: Sanas/dieta rica en grasas

Grupo D: Sanas/dieta normal de ratarina

**Figura 1:** Aspectos histopatológicos e inmunohistoquímicos de secciones de arteria aorta de ratas Wistar crónicamente infectadas con *Trypanosoma cruzi*, alimentadas ad libitum con dieta rica en grasas de origen vegetal y ratarina normal. A: Sección de aorta ascendente de rata (sana/dieta grasa) sin evidencias de depósitos lipídicos en el espesor de la pared. B: Sección de cayado aórtico de rata (infectada/dieta grasa) mostrando acumulación lipídica asociada a la capa muscular (Aceite Rojo "O" 400X; 1000X). C: Sección de aorta ascendente de rata (sana/dieta normal), la cual presenta un aspecto histológico conservado. D: Pared aórtica de rata (infectada/dieta grasa) mostrando una placa ateromatosa (HE 400X; 1000X). E y F: Cortes de arteria aorta de rata (infectada/dieta grasa) donde se observan depósitos antigénicos a nivel de la capa muscular (PAP, 400X; IFI, 400X).



## REFERENCIAS

1. Ross R. Atherosclerosis. *N Engl J Med.* 1999; 340: 115-126.
2. Ross R. Atherosclerosis: a defense mechanism gone awry. *Am J Pathol.* 1993; 143: 987 - 1002.
3. Espondaburu O, Hunt V, Ocampo L. El proceso aterogénico y su desarrollo en las enfermedades autoinmunes. *Act Bioquím Clin Lat.* 2004; 38: 181-192.
4. Patel P, Mendall M, Carrington D, Strachan D, Leatham E, Molineaux N. Association of *Helicobacter pylori* and *Chlamydia pneumoniae* infections with coronary heart disease and cardiovascular risk factors. *Biol Med J.* 1995; 311: 711-714.
5. Libby P, Egan D, Skarlatos S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis. *Circul.* 1997; 96: 4095-4103.
6. Vercelotti G. Overview of infections and cardiovascular diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2001; 108: 117-120.
7. Vojdani A. A look at infectious agents as a possible causative factor in cardiovascular disease: part III. *Immunology.* 2003; 5: 24-31.
8. Portugal L, Fernandes L, César G, Santiago H, Oliveira D, Silva N, Silva A, Vieira J. Infection with *Toxoplasma gondii* increases atherosclerotic lesion in ApoE-deficient mice. *Infect Immunology.* 2004; 72: 3571-3576.
9. Torres M. Arteriosclerose das finas ramificações arteriais do miocárdio (coronarite chagásica) e miocitólisis focal do miocárdio na cardiopatia chagásica crônica. *O Hospital.* 1958; 54: 19-34
10. Palacios E, Carrasco H, Scorza C, Espinoza R. Ultraestructura miocárdica en la enfermedad miocárdica de Chagas. Diagnóstico diferencial con la miocardiopatía dilatada o congestiva y con las miocardiopatías arrítmicas. *Rev Lat Cardiol.* 1982; 3: 115-137.
11. Reis L, Mesquita P, Mesquita L, Chapadeiro E, Uberaba M. Aterosclerose coronarian e infarto do miocárdio em chagasicos cronicos. *Arq Bras Cardiol.* 1995; 65: 143-145.
12. Tanowitz H, Burns E, Sinha K, Kahn N. Enhanced platelet adherence and aggregation in Chagas` disease: A potential pathogenic mechanism for cardiomyopathy. *Am J trop Med Hyg.* 1990; 35: 274-281.
13. Kierszenbaum F. Chagas` disease and the autoimmunity hypothesis. *Clin Microbiol Rev.* 1999; 54: 210-223.
14. Sunnemark D, Harris R, Frotegard J, Orn A. Induction of early atherosclerosis in CBA/J mice by combination of *Trypanosoma cruzi* infection and a high cholesterol diet. *Atheros.* 2000; 153: 273-282.
15. Paredes JL, Moreno EA, Premoli G, Alarcón M, Lugo de Yarbuh A, Villarreal J, Araujo S, Borges R. Efectos de la ingestión de una dieta con alto contenido en grasas en ratas Wistar crónicamente infectadas con *Trypanosoma cruzi*. *Kasmera.* 2009; 37: 74-89.
16. Alarcón M, Añez N, Calderón L, Matousek A. Evaluación de la ingesta de colesterol en conejos infectados con *Trypanosoma cruzi*. *Kasmera.* 2004; 32: 117-126.
17. Moreno E, Rivera I, Moreno S, Alarcón M, Lugo de Yarbuh A. Transmisión vertical de *Trypanosoma cruzi* en ratas Wistar durante la fase aguda de la infección. *Invest Clín.* 2003; 44: 241-254.
18. Brener Z. Observações sobre a imunidade a superinfecções em camundongos experimentalmente inoculados com *Trypanosoma cruzi* e submetidos a tratamento. *Rev Inst Med Trop.* 1962; 4: 119 -123.
19. Freilij H, Müller L, Gonzáles C. Direct micromethod for diagnosis of acute and congenital Chagas` disease. *J Clin Microbiol.* 1983; 18: 327-330.
20. Camargo M. Fluorescent antibody test for serodiagnosis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in slide test. *Rev Inst Med Trop São Paulo,* 1966; 8: 227-234.
21. Bray R, Garnham P. The Giemsa Colophonium methods for staining protozoa in tissue section. *Indian J Malariol.* 1962; 4: 152-155.
22. Sell P, Burton M. Identification of *Leishmania* spp. amastigota and their antigen in formalin fixed tissue by immunoperoxidase staining. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg.* 1981; 75: 461-468.
23. R. Development Core Team. A language and environment for statistical computing. Viena, Austria: R Funadation for Statistical Computing, 2007.
24. Scorza C. La rata "Wistar" como modelo experimental para el estudio de la miocarditis chagásica: aspectos histopatológicos, histológicos, inmunológicos y electrocardiográficos en diferentes etapas de la infección. [Trabajo de Ascenso] Mérida: Univ. de Los Andes; 1982.
25. Moreno E, Añez N, Gottberg C, Scorza C, Lugo de Yarbuh A, Dávila D. Modificaciones electrocardiográficas en ratas infectadas con formas sanguíneas y metacíclicas de *Trypanosoma cruzi*. *Bol Dir Malariol y San Amb.* 1996; 36: 70 - 77.
26. Moreno E, Quintero A, Alarcón M, Lugo Yarbuh A, Moreno S, Araujo S. Investigaciones sobre la transmisión vertical de *Trypanosoma cruzi* en ratas Wistar crónicamente infectadas. *Bol Malariol y Sal Amb.* 2006; 46: 149-160.
27. Añez N, Carrasco H, Parada H, Crisante G, Rojas A, Fuenmayor C, Gonzalez N, Percoco G, Borges R, Guevara P, Ramirez J. Myocardial parasite persistence in chronic chagasic patients. *Am J Trop Med Hyg.* 1999; 60: 726-732.
28. Elias F, Vigliano C, Laguens R, Levin M, Berek C. Analysis of the presence of *Trypanosoma cruzi* in the heart tissue of three patients with chronic Chagas` heart disease. *Am J Trop Med Hyg.* 2003; 68: 242-247.
29. Premoli G, Villareal J. Proteína C reactiva como marcador de la inflamación en el proceso de aterosclerosis. *MEDICAS UIS,* 2006; 19: 265-275.
30. Premoli G, Moreno E, Villareal J, Gonzáles A, Araujo S. Estudio preliminar en la detección de ADN en tejido microvascular y esquelético de ratas Wistar infectadas con *Trypanosoma cruzi*. *Bol Malariol y Sal Amb.* 2007; 47 (Supl. 1): 134.
31. Rossi M, Carobrez S. Experimental *Trypanosoma cruzi* cardiomyopathy in BALB/c mice: histochemical evidence of hypoxic changes in the myocardium. *J Exp Pathol.* 1985; 66: 155-160.
32. Figueiredo F, Marin J, Rossi M. The evolution of experimental *Trypanosoma cruzi* cardiomyopathy in rabbits: further parasitological, morphological and functional studies. *Int J Cardiol.* 1986; 10: 277-290.
33. Hadjiisky P, Bourdillon M, Grosogeat Y. Modèles experimentaux d'atherosclerose. Apports, limites et perspectives. *Arch Mal Coer.* 1991; 84: 1593-1603.