



Resumen #192

**El estrés oxidativo causado por dos cepas diferentes de Trypanosoma cruzi en la placenta induce alteraciones trofoblásticas.**

1Triquell MF, 1Díaz-Luján CM, 1Moreira-Espinoza MJ, 1Mezzano L, 1Benizio EL, 1Piegari M, 1Fretes RE

1Biología Celular, Histología y Embriología. Facultad de Medicina Universidad Nacional de Córdoba

Área: Básica

Resumen:

La placenta fisiológicamente está expuesta a altos niveles de estrés oxidativo y varias patologías, como las infecciosas, exacerban esta condición. El Trypanosoma cruzi (T. cruzi) agente causal del Chagas, puede ser transmitido en un bajo porcentaje de la madre al feto a través de la placenta. El óxido nítrico (NO) y el estrés oxidativo impiden la invasión e infección fetal, pero su efecto en la infección placentaria es desconocido. Por lo tanto, nuestro objetivo es estudiar el efecto del estrés oxidativo causado por dos cepas diferentes de T. cruzi en la placenta y su participación en el infección.

Explantos placentarios se co-cultivaron por 24 hs con  $1 \times 10^6$  trypomastigotes de cepas Tulahuen y Lucky (aislada de un caso congénito) con un inhibidor de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) L-NAME, además de N-acetil cisteína (NAC) como un secuestrante de especies reactivas de oxígeno y también  $H_2O_2$ . Controles: sin parásitos en las mismas condiciones anteriores. Se realizó análisis histológico y cuantificación del desprendimiento de Sincitiotrofoblasto (STB) y expresión de eNOS y Nitrotirosina por inmunohistoquímica. En medios de cultivo: cuantificación de NO (Griess), hCG por ELISA. Actividad de Gamaglutamiltranspeptidasa (GGT) en tejidos. PCR en tiempo real para cuantificar T. cruzi .

La infección de vellosidades placentarias con ambas cepas de parásito provocó un incremento de NO, en la expresión de eNOS y de nitrotirosina ( $P < 0,05$ ). El desprendimiento de STB se incrementó significativamente con ambas cepas de parásito y con adición de  $H_2O_2$ . ( $P < 0,05$ ) y hCG disminuyó. La actividad de GGT aumentó en presencia de ambas cepas. En presencia de L-NAME se observó un aumento significativo de desprendimiento de STB e infección parasitaria respecto al control, el desprendimiento de STB disminuyó con la adición de NAC.

Estos datos sugieren que NO participa en el control de la infección por T. cruzi, ya que cuando se inhibió eNOS la infección aumentó, pudiendo explicar la baja incidencia de transmisión congénita. Por otra parte, el desprendimiento STB inducido por ambas cepas, que altera la estructura placentaria, parece ser causada por NO y estrés oxidativo, pudiendo establecer una puerta de entrada del parásito a la placenta.

Palabras Clave: Trypanosoma cruzi, estrés oxidativo, placenta, Óxido Nítrico, Óxido Nítrico Sintasa endotelial

Abstract #192

Placental oxidative stress caused by two different strains of *Trypanosoma cruzi* induces trophoblast alterations in vitro.

1Triquell MF, 1Díaz-Luján CM, 1Moreira-Espinoza MJ, 1Mezzano L, 1Benizio EL, 1Piegari M, 1Fretes RE

1Biología Celular, Histología y Embriología. Facultad de Medicina Universidad Nacional de Córdoba

Abstract:

Placenta is an organ physiologically exposed to high levels of oxidative stress, several pathologies like infectious disease exacerbate these condition. *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) the causative agent of Chagas disease could be transmitted in a low percentage from the Chagasic mother to the fetus through placenta; nitric oxide (NO) and oxidative stress are mechanism to prevent microorganism invasion and fetal infection, the effect of these mechanisms in congenital Chagas are actually unknown. Therefore the objective of the present work is to study the effect of oxidative stress caused by two different strains of *T. cruzi* in the placental tissue and their participation in the infection.

Placental villi explants co-cultured for 24 hs with  $1 \times 10^6$  trypomastigotes of Tulahuen and Lucky strains (isolated from a congenital case); controls without parasites, and with addition of endothelial nitric oxide stress (eNOS) inhibitor L-NAME, addition of N-acetyl Cysteine (NAC) as reactive oxidant species scavenger, and addition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Histological analysis of the detachment area of Sincitotrophoblast (STB) eNOS and Nitrotyrosine expression. In culture media: quantification of NO (Griess), hCG with ELISA quimioluminescence. Tissue homogenates:

Gamaglutamiltranspeptidase (GGT) activity to measure oxidative stress. qPCR quantifying *T. cruzi* using TCZ primers.

The infection of placental villi with both strains of *T. cruzi* caused an increment in Nitric Oxide production, eNOS expression and protein nitrosilation, there was an increase in the detachment of STB, and this phenomenon was similar in cultures with addition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The activity of GGT increased the presence of both strains of *T. cruzi* and the concentration of hCG decrease. When the eNOS was inhibited with L-NAME we observe an augment of detachment of STB related to control and the infection was higher too with the inhibitor of eNOS, the STB detachment was diminished with addition of NAC. These data suggest that NO participate in the control of *T. cruzi* infection, because when the production was inhibit with L-NAME the quantification of infection was higher, explaining the low incidence of congenital transmission. On the other hand the STB detachment in placental villi with both strains of *T. cruzi* seems to be caused by NO and oxidative stress, and could establish a parasite gateway to the placenta.

Keywords:

*Trypanosoma cruzi*, oxidative stress, placenta, Nitric Oxide, Nitric Oxide Synthase endothelial