

2016

Determinación de cardiomegalia, esplenomegalia y linfadenomegalia en ratones infectados con *Trypanosoma cruzi* y tratados con una solución electrolizada superoxidada

Ortega Carrasco Ezequiel

INDICE

INTRODUCCIÓN	2
AGENTE CAUSAL	2
EPIDEMIOLOGÍA E INCIDENCIA EN MÉXICO Y AMÉRICA LATINA.....	4
FASES DE LA ENFERMEDAD	8
EL VECTOR.....	9
MÉTODOS ACTUALES DE DIAGNÓSTICO	12
TRATAMIENTO.....	13
SOLUCIONES ELECTROLIZADAS SUPEROXIDADAS	14
DESARROLLO EXPERIMENTAL	19
RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	20
DISCUSIÓN	25
CONCLUSIONES.....	26
BIBLIOGRAFÍA	26

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas es una enfermedad parasitaria provocada por el protozooario *Trypanosoma cruzi*, la cual fue descubierta en el año 1909 por el médico brasileño Carlos Chagas quien nombró al parásito en honor a su mentor Oswaldo Cruz. Esta enfermedad está afectando alrededor de 8 a 10 millones de personas en Latinoamérica, de las cuales entre el 30 y 40% tienen o desarrollarán cardiomiopatías o mega síndromes digestivos. En gran medida los programas de manejo, control y escrutinio de donadores de sangre han disminuido su incidencia y su prevalencia. Los medicamentos existentes para el tratamiento de la enfermedad de Chagas tales como el Nifurtimox y el Benznidazol son seguros y eficaces y son recomendados para un amplio rango de pacientes; sin embargo, se necesitan medicamentos tripanocidas más efectivos ya que éstos por lo general son ineficientes en la fase crónica de la enfermedad y pueden presentar varios efectos adversos. Las soluciones electrolizadas superoxidadas pueden ser una opción de tratamiento ya que han demostrado tener muchos efectos benéficos tanto para la salud como en la disminución de microorganismos en materiales quirúrgicos, en los laboratorios como soluciones desinfectantes, etc. (Rassi Jr. *et al.*, 2010).

AGENTE CAUSAL

Trypanosoma cruzi es el agente causal de la enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana. Es un protozooario hemoflagelado que pertenece al orden Kinetoplastida y tiene tres fases o estadios morfológicos, los cuales son la forma amastigote no flagelada y las formas flageladas epimastigote y tripomastigote. Este parásito es transmitido a los seres humanos y al resto de los animales mamíferos a través de insectos vectores que se encuentran desde México hasta Argentina y Chile (Murcia *et al.*, 2013).

T. cruzi posee un ciclo de vida complejo que incluye la infección del hospedador vertebrado y la transmisión por insectos vectores (Murcia *et al.*, 2013).

El vector infectado pica al ser humano y defeca cerca del sitio de la picadura; en las heces del vector se encuentran los tripomastigotes metacíclicos, los cuales entran al torrente sanguíneo por frotamiento. Los tripomastigotes metacíclicos penetran en diferentes células, dentro de las cuales se transforman en amastigotes. Los amastigotes proliferan en las células y tejidos. Estos amastigotes son intracelulares y se transforman en tripomastigotes rompiendo la célula. El vector no infectado pica al ser humano infectado e ingiere tripomastigotes.

Los tripomastigotes se transforman en epimastigotes en el intestino medio del insecto y proliferan. Cuando los epimastigotes pasan al intestino posterior se convierten en tripomastigotes metacíclicos y el ciclo se repite (Figura 1) (Murcia *et al.*, 2013).

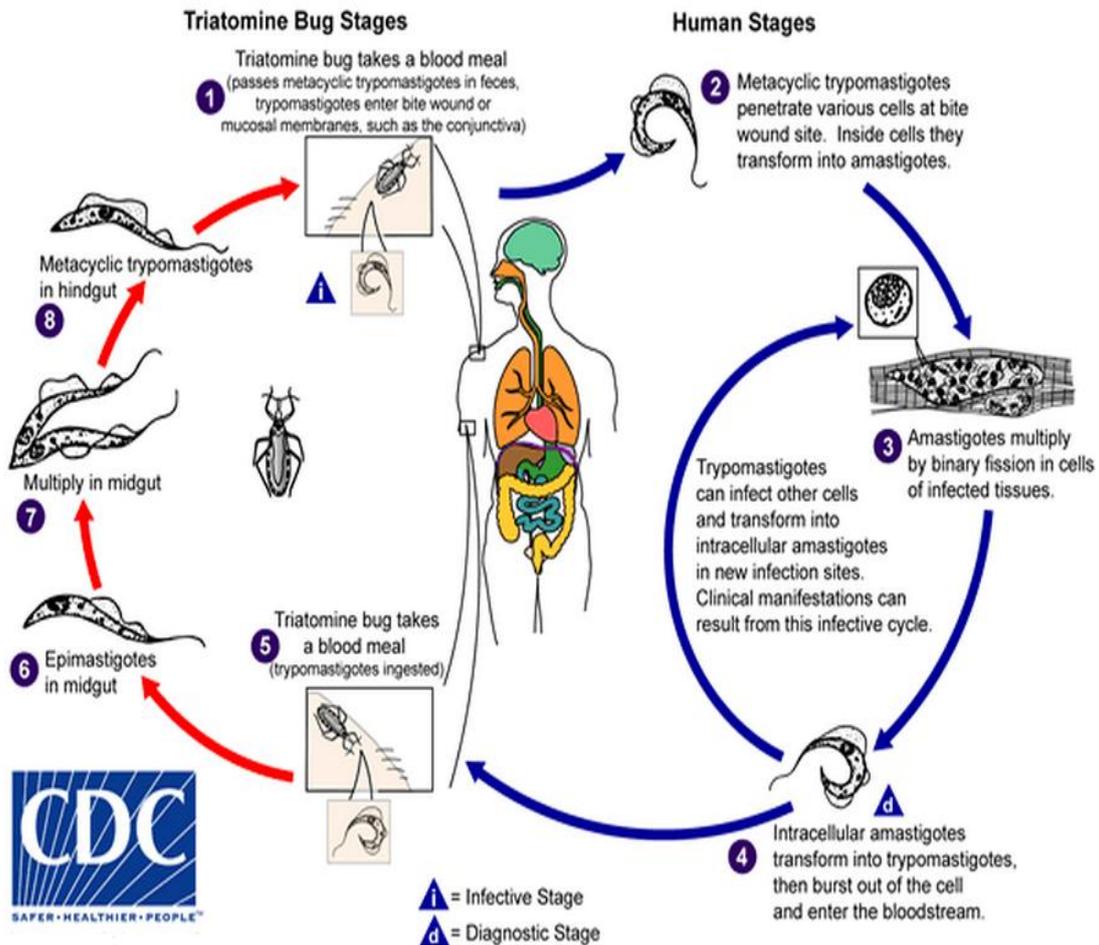


Figura 1. Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi*

Tomado de <http://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisAmerican/index.html>

EPIDEMIOLOGÍA E INCIDENCIA EN MÉXICO Y AMÉRICA LATINA

La enfermedad de Chagas es una zoonosis, la cual se transmite principalmente a través de las secreciones del vector infectado, y como ya se mencionó anteriormente dicho vector está presente en América, extendiéndose desde México hasta Argentina y Chile, incluyendo el sur de los Estados Unidos de América (Pereira *et al.*, 2013).

A pesar de que la picadura del vector es la principal forma de transmisión de *T. cruzi*, existen otras formas de transmisión tales como transfusiones sanguíneas, trasplante de órganos y de la madre al recién nacido, los cuales son un tema de preocupación en áreas o regiones no endémicas. La transmisión oral ha sido reconocida recientemente como una causa esporádica, así como los casos de transmisión accidental en el laboratorio (Pereira *et al.*, 2013).

En México hay un total de 18 áreas endémicas localizadas en el sureste. Dichas áreas incluyen los estados de Oaxaca, Jalisco, Yucatán, Chiapas, Veracruz, Puebla, Guerrero, Hidalgo y Morelos. Sin embargo, en la región también conocida como la Huasteca que incluye los estados de Hidalgo, San Luis Potosí, Veracruz y Tamaulipas se ha observado un incremento de la prevalencia en años recientes (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

En una encuesta realizada entre los años de 1987-1989, se observó una seroprevalencia de 1.6%, lo que indicaba que existían entre 1-2 millones de personas expuestas al parásito en el país y con una mortalidad de entre 5 y 6% de la población total en México. Sin embargo, en otros estudios se han demostrado niveles de seroprevalencia de hasta 5.9% en regiones específicas (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

Entre los años 2000-2001, en personas mayores de 18 años de edad que vivieron en diferentes municipios del estado de Veracruz, se indicó que la seroprevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* fue de 0.91%; sin embargo, los estados de Chiapas, Oaxaca, Puebla, Veracruz y Yucatán están entre los estados más afectados donde la seroprevalencia alcanza hasta el 10% (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

Según el censo nacional realizado en 2010 por el INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía), existen 112.3 millones de personas viviendo en México, y con base en esto se hizo un estimado de 5.5 millones de personas infectadas (Tabla 1) (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

Tabla 1. Prevalencia de la enfermedad por estado

Estados	Habitantes por estado (x10⁶)	Personas infectadas	Prevalencia (%)
Querétaro	1.82	347,125	18.99
Oaxaca	3.80	672,947	17.70
Chiapas	4.79	611,564	12.75
Nayarit	1.08	132,259	12.19
Jalisco	7.35	890,168	12.11
Morelos	1.77	203,315	11.44
Guerrero	3.38	383,947	11.33
Hidalgo	2.66	164,698	6.18
Veracruz	7.64	438,719	5.74
Zacatecas	1.49	83,776	5.62
Sinaloa	2.76	154,441	5.58
Tabasco	2.23	84,171	3.76
Distrito Federal	8.85	331,916	3.75
Puebla	5.77	205,184	3.55
Yucatán	1.95	61,992	3.17
Baja California	3.15	87,711	2.78
San Luis Potosí	2.58	66,965	2.59
Quintana Roo	1.32	31,946	2.41
Michoacán	4.35	96,158	2.21
Durango	1.63	35,598	2.18
Nuevo León	4.65	90,277	1.94
Aguascalientes	1.18	21,685	1.83
Tamaulipas	3.26	54,912	1.68
Sonora	2.66	43,132	1.62
Campeche	0.82	12,830	1.56
Tlaxcala	1.16	15,560	1.33
Colima	0.65	7,481	1.15
Baja California Sur	0.63	6,625	1.04
Guanajuato	5.48	44,988	0.82
Edo. México	15.17	95,608	0.63
Coahuila	2.74	16,765	0.61
Chihuahua	3.40	15,329	0.45
Total	112.17	5,509,792	

Tomada de Carabarin-Lima *et al.*, 2013.

En la Tabla 1 se observa que el estado de la república mexicana más afectado con respecto a su número total de habitantes es Querétaro, con una prevalencia de la enfermedad de 18.99%, seguido por Oaxaca y Chiapas que tienen una prevalencia de 17.70% y 12.75%, respectivamente (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

Según un reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS) del 6 de febrero de 2015, que se basó en la información epidemiológica de los 21 países Latinoamericanos, se encontró que hay cerca de 6 millones de personas infectadas con *T. cruzi*, cerca de 30 mil nuevos casos por transmisión vectorial y casi 9 mil casos al año por transmisión congénita, además de una alta población en riesgo, la que asciende a poco más de 70 millones de personas, donde México y Brasil son los países que tienen un riesgo más alto de infección. El país con mayor prevalencia de la enfermedad es Bolivia, el cual tiene una prevalencia de 6.104%, seguido por Paraguay y Ecuador con un 2.130% y 1.379%, respectivamente (Tabla 2), lo que sugiere que probablemente no se tienen o no están funcionando los programas de control de la enfermedad (WHO, 2015).

Tabla 2. Prevalencia de la Enfermedad de Chagas en Latinoamérica

País	Población	Personas infectadas	Casos de Transmisión Vectorial	Mujeres infectadas	Casos de transmisión congénita	Prevalencia	Incidencia vectorial	Incidencia congénita	Población en riesgo
Argentina	41,343,000	1,505,235	1,078	211,102	1,457	3.604	0.0020	0.210	2,242,000
Belice	315,000	1,040	10	272	25	0.330	0.0030	0.333	70,200
Bolivia	9,947,000	607,186	8,087	199,351	616	6,104	0.0810	0.235	586,000
Brasil	190,755,799	1,156,821	46	119,298	571	0.030	0.0840	0.020	25,474,000
Chile	17,095,000	119,660	0	11,771	115	0.699	0.0000	0.046	0
Colombia	45,805,000	437,960	5,274	116,221	1,046	0.956	0.0110	0.114	4,813,000
Costa Rica	4,516,000	7,667	10	1,728	61	0.169	0.0002	0.080	233,000
Ecuador	14,483,499	199,872	2,042	62,898	696	1.379	0.0140	0.317	4,199,000
Salvador	6,952,000	90,222	972	18,211	234	1.297	0.0130	0.187	1,019,000
Guatemala	13,550,000	166,667	1,275	32,759	164	1.230	0.0090	0.035	1,400,000
Guyana Francesa	1,501,962	12,600	280	3,818	18	0.838	0.0180	0.075	377,000
Honduras	7,989,000	73,333	933	16,149	257	0.917	0.0110	0.126	1,171,000
México	112,468,855	876,458	6,135	185,600	1,788	0.779	0.0050	0.089	23,474,000
Nicaragua	5,604,000	29,300	383	5,822	138	0.522	0.0060	0.124	642,000
Panamá	3,557,687	18,337	175	6,332	40	0.515	0.0040	0.056	466,000
Paraguay	8,668,000	184,669	297	63,385	525	2.130	0.0030	0.340	1,703,000
Perú	28,948,000	127,282	2,055	28,132	232	0.439	0.0070	0.038	1,290,000
Uruguay	3,301,000	7,852	0	1,858	20	0.237	0.0000	0.040	0
Venezuela	27,223,000	193,339	873	40,223	665	0.710	0.0030	0.110	133,000
Total	54,387,715	5,742,167	29,925	1,124,930	8,668	1.055	0.0050	0.089	70,199,000

Tomada de World Health Organization, 2015.

FASES DE LA ENFERMEDAD

La enfermedad de Chagas tiene dos fases, la fase aguda y la fase crónica. La fase aguda se caracteriza porque no es lo suficientemente grave como para presentar síntomas definidos o fácilmente observables, y esto tal vez se deba a que la cantidad de parásitos es bastante pequeña en esta fase (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

Muchos de los casos agudos son asintomáticos, o por lo menos lo son entre 6-12 semanas. Cuando aparecen los síntomas, estos pueden consistir en: chagoma (inflamación en el área de la picadura), signo de Romaña (inflamación indolora en los párpados de un solo ojo) y otros síntomas generales como fiebre, mialgias, artralgias, cefaleas, vómito, diarrea, somnolencia, hepatoesplenomegalia, y convulsiones, los cuales pueden desaparecer por sí mismos entre 2-4 meses. Sin embargo, algunos casos han llevado a la muerte debido a complicaciones como meningoencefalitis y miocarditis (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

Debido a que los síntomas se pueden confundir con los de otras enfermedades, la enfermedad de Chagas es muy difícil de diagnosticar en esta fase y por esto no son reportados todos los casos .

La fase crónica se subdivide a su vez en dos formas, la forma indeterminada o latente y la forma sintomática. Si la persona sobrevive a la fase aguda entra en la fase indeterminada la cual se caracteriza por no presentar síntomas, y ésta puede durar entre 10-30 años o la persona pudiera morir sin presentar síntomas. Por ende, el diagnóstico de estos pacientes es muy difícil por no presentar síntomas; sin embargo, si se les realizan pruebas serológicas para buscar anticuerpos contra *T. cruzi* darán un resultado positivo. La forma latente es detectada por la realización de estudios epidemiológicos, principalmente en áreas endémicas (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

En un estudio realizado en el municipio de Tezonapa, Veracruz, donde se obtuvieron 654 muestras de suero, se determinó una seroprevalencia de 16.8% para *T. cruzi*. Además las mujeres en edad reproductiva tuvieron un 34.3% de seroprevalencia para la infección, lo que demuestra que la transmisión por vía congénita puede aumentar (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

La fase crónica sintomática de la enfermedad se puede presentar en dos formas, en la forma crónica cardíaca y la forma crónica digestiva, las cuales se pueden desarrollar hasta 25 años después de la infección aguda (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

La fase crónica cardíaca se presenta con manifestaciones clínicas como cardiomiopatías, tales como extrasístoles ventriculares complejas, taquicardia ventricular, bradicardia sinusal, alto grado de obstrucciones cardíacas, tromboembolismo e insuficiencia cardíaca digestiva, y muchos de los pacientes mueren debido a la insuficiencia cardíaca (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

Los pacientes que no presentan desórdenes cardíacos pueden presentar fallas digestivas como mega colon, mega esófago, mega estómago, mega duodeno, mega yeyuno, mega vesícula biliar y desórdenes gastrointestinales motores como acalasia del cardias (relajación del esófago evitando que los alimentos pasen). Los desórdenes gastrointestinales se relacionan estrechamente con la disfagia y la pérdida de peso. También se puede presentar aspiración crónica lo que puede a su vez desencadenar un cuadro de neumonitis (Carabarin-Lima *et al.*, 2013).

EL VECTOR

La chinche besucona es un insecto hematófago que pertenece al orden Hemiptera, a la familia Reduviidae y a la subfamilia Triatominae, de la cual existen aproximadamente 140 especies y son de gran importancia por ser el vector de *Trypanosoma cruzi* (Klotz *et al.*, 2014).

En Norteamérica se conocen alrededor de 40 especies de las cuales 28 se encuentran solamente en México y 8 especies que comparten México y E.U.A. (Klotz *et al.*, 2014).

Triatoma infestans es el vector más importante que transmite *T. cruzi* en América del Sur, el cual se infecta cuando se alimenta de sangre contaminada. Sin embargo, el parásito no afecta el comportamiento de la chinche, sólo en algunos casos como por ejemplo *Mepraia spinolai* que es uno de los vectores en Chile, defeca más y pica más cuando está infectado con *T. cruzi* (Klotz *et al.*, 2014).

Estos insectos viven en madrigueras, nidos o en las casas de los seres humanos (cobertizos, corrales, grietas, etc.). Al ser atraídos por la luz y el calor entran en los hogares y es ahí cuando se alimentan de los seres humanos y de las mascotas convirtiéndolas en reservorios. Las chinches pueden vivir hasta un año, lo que depende de su alimentación, temperatura de su ambiente y la temporada. Pueden sobrevivir 7 meses sin alimento y entre 4-5 meses en cautiverio (Klotz *et al.*, 2014).

Las chinches salen del huevo en forma de ninfas, las cuales tienen cinco estadios antes de convertirse en chinches adultas y para cada cambio de estadio requieren alimentarse para poder mudar de piel (Klotz *et al.*, 2014).

Al igual que muchos otros insectos se comunican por medio de feromonas, las cuales también son importantes para reproducirse, como mecanismo de defensa y como medio de alarma. Estas feromonas son liberadas en forma de secreciones las cuales son un conjunto de cadenas cortas de ácidos grasos y alcoholes que están contenidas en las glándulas de Brindley. Como las ninfas no tienen estas glándulas aún, escapan cuando detectan los olores liberados por las chinches adultas que están en peligro (Klotz *et al.*, 2014).

La picadura de la chinche además de transmitir al parásito de la enfermedad de Chagas puede provocar: lesiones en la piel, inflamación en el lugar de la picadura, dolor, comezón, linfadenitis, erupciones vasculares, eritema multiforme, presión sanguínea baja, inflamación de vías respiratorias y en casos severos anafilaxia (Klotz *et al.*, 2014).

Estos síntomas se deben a los alérgenos que contiene la saliva del insecto, los cuales desencadenan la cascada alérgica mediada por IgE o también conocida como reacción de hipersensibilidad tipo 1 (Figura 2). En la primera picadura de la chinche existe la primera exposición al alérgeno o alérgenos contenidos en la saliva de la chinche, el cual es capturado por las células dendríticas del epitelio que lo transportan a los ganglios linfáticos en donde se degrada y solo presentan los péptidos obtenidos de la degradación del alérgeno a los linfocitos TCD4+ virgen. El linfocito TCD4+ se diferencia en linfocito T_H2 y en linfocitos cooperadores foliculares (T_{FH}) (Abbas, 2012).

Los linfocitos T_H2 y los T_{FH} producen citocinas (IL-4, IL-13), las que activan a los linfocitos B. Estos linfocitos B sufren un cambio de isotipo de cadena pesada y producen IgE, que circula libremente por el torrente sanguíneo hasta unirse a los mastocitos en el receptor del fragmento cristalizable ϵ de la reacción de hipersensibilidad tipo 1 (Fc ϵ R1). Hasta este punto no existe reacción alérgica, pero los mastocitos ya están sensibilizados, es decir que son capaces de reconocer al antígeno en una segunda exposición (Abbas, 2012).

Cuando se genera la segunda exposición, los mastocitos lo reconocen, y al unirse el alérgeno a la IgE expuesta en el Fc ϵ R1 estos se entrecruzan, lo que provoca que se liberen mediadores como: histamina que aumenta la permeabilidad vascular, prostaglandinas que provocan la vasodilatación y broncoconstricción, y leucotrienos que provocan broncoconstricción prolongada y secreción de moco (Abbas, 2012).

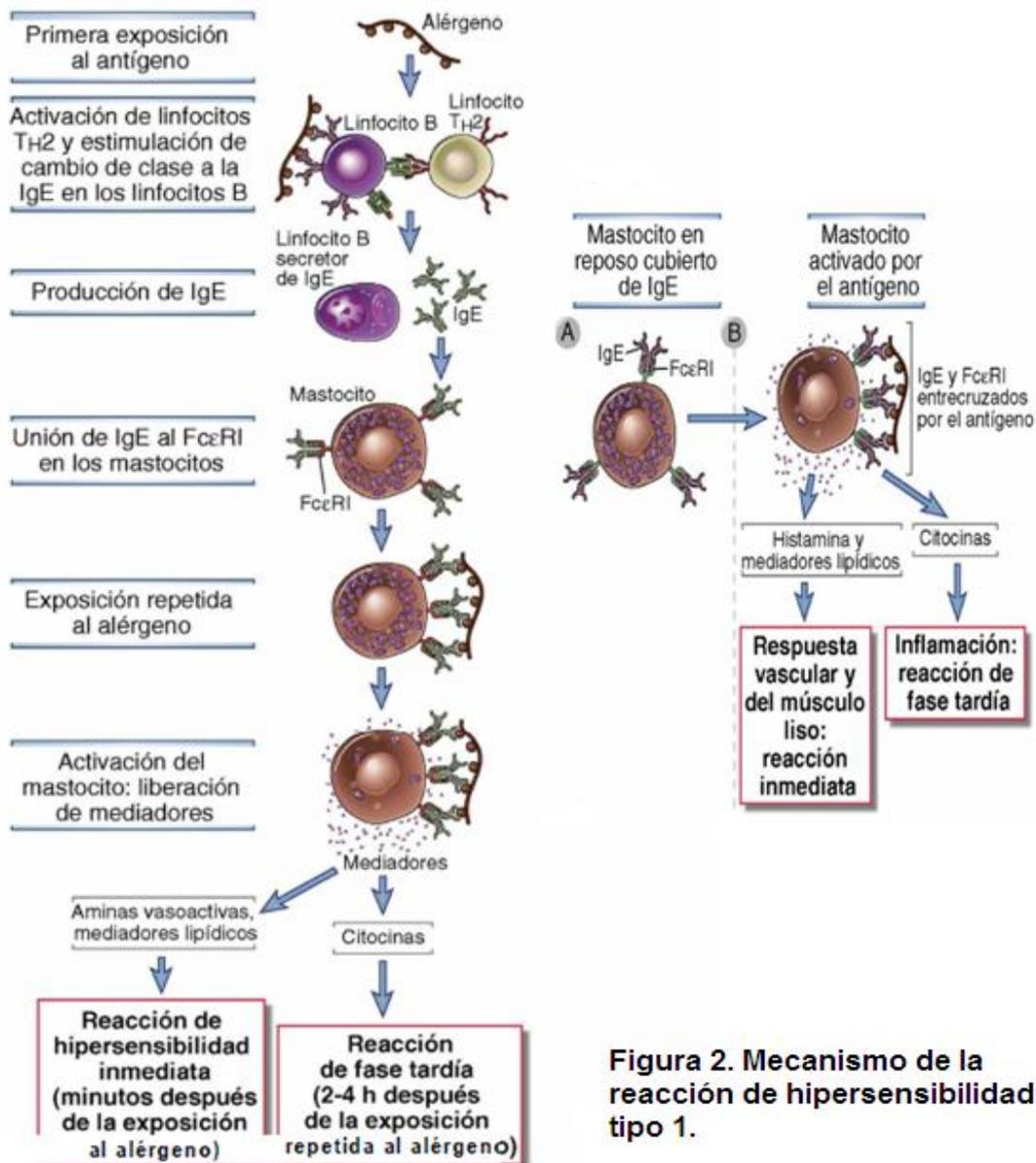


Figura 2. Mecanismo de la reacción de hipersensibilidad tipo 1.

Tomada de Abul K. Abbas, 2012.

MÉTODOS ACTUALES DE DIAGNÓSTICO

La enfermedad de Chagas es difícil de diagnosticar por su aparente falta de síntomas.

Diagnóstico clínico:

El diagnóstico clínico en el caso de la fase aguda es efectivo en casi el 90% de los pacientes a los que se les realiza. Para que pueda ser efectivo debe realizarse entre los 5 y 14 días posteriores a la infección, ya que en esta etapa existe una alta concentración de parásitos en sangre periférica; la desventaja es que no se presentan síntomas en esta etapa. Si se llegan a presentar síntomas estos consisten en la aparición de un chagoma, signo de Romaña, malestares generales como fiebre, anorexia, además de linfadenopatías, hepatoesplenomegalia y meningoencefalitis. La miocarditis es muy poco frecuente, pero es la principal causa de muerte (Murcia *et al.*, 2013).

La fase crónica cardíaca se caracteriza por ser una miocarditis crónica, la cual es lenta y progresiva, y es detectable con una radiografía de tórax. Los síntomas se deben a trastornos en el ritmo cardíaco, cardiopatía congestiva y tromboembolias. Otro método de diagnóstico es el electrocardiograma, en el cual se pueden detectar bloqueos auriculoventriculares, taquiarritmias, taquicardia ventricular y zonas eléctricamente inactivas (Murcia *et al.*, 2013).

Diagnóstico de laboratorio:

Como ya se mencionó antes, en los días posteriores a la infección existe una alta parasitemia y con base en esto los estudios de laboratorio son parasitológicos, y constan de observación directa de sangre periférica, frotis sanguíneos y gota gruesa. También se ocupan dos métodos más que son el xenodiagnóstico y el hemocultivo. En el caso del xenodiagnóstico el paciente es expuesto nuevamente a la chiche no infectada, en la cual el parásito proliferará y se detectará más fácilmente. En cuanto al hemocultivo puede durar entre 18 y 72 horas hasta 4 semanas (Murcia *et al.*, 2013).

El diagnóstico serológico se basa en encontrar anticuerpos IgG anti *T. cruzi*, y para ello se pueden realizar tres pruebas: inmunofluorescencia indirecta (IFI), hemaglutinación indirecta (HAI) y ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) que son los más comerciales y disponibles (Murcia *et al.*, 2013).

TRATAMIENTO

El Nifurtimox y el Benznidazol son los únicos medicamentos disponibles y son eficaces en el tratamiento de la fase aguda, pero en la fase crónica no, por tener una alta incidencia de efectos secundarios y bajos índices de cura (Jannin y Villa, 2007).

Estos medicamentos fueron lanzados al mercado en los años 1967 (Nifurtimox) y 1972 (Benznidazol) e inmediatamente mostraron su eficacia en el tratamiento de la fase aguda, pero la producción del Nifurtimox fue suspendida en el año de 1997 por su falta de demanda (Jannin y Villa, 2007).

En las Tablas 3 y 4 se muestran la función, los efectos secundarios y la eficacia de ambos medicamentos, y con base en esto se podría decir que el mejor medicamento es el Nifurtimox, ya que sus efectos adversos no son tan graves como los del Benznidazol (Apt B. *et al.*, 2008).

Tabla 3. Función, efectos secundarios y eficacia del Nifurtimox.	
Nifurtimox Lampit®	
Función	Tiene función tripanocida y actúa contra las formas amastigote y tripomastigote. Este fármaco genera productos de la reducción del oxígeno, provocando estrés oxidativo a lo cual es deficiente el tripanosoma.
Efectos secundarios	Anorexia, pérdida de peso, náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea, dermatitis, insomnio, alucinaciones, parestesias y psicosis.
Eficacia	Ha demostrado ser efectivo en la fase aguda, crónica indeterminada y crónica determinada, con una cura parasitológica del 76% en la fase aguda y porcentaje variable en la fase crónica.

Tabla 4. Función, efectos secundarios y eficacia del Benznidazol.	
Benznidazol Radanil®	
Función	Se une de forma covalente a los intermediarios de su nitrorreducción con los componentes del parásito, ADN, lípidos y proteínas.
Efectos secundarios	Erupción cutánea, edema generalizado, fiebre, adenopatías, mialgia, artralgia, depresión de la médula ósea con trombocitopenia, púrpura, agranulocitosis, polineuropatía, parestesia y polineuritis periférica.
Eficacia	Ha demostrado ser efectivo en el tratamiento de la fase aguda, en la fase crónica indeterminada y en la crónica determinada.

SOLUCIONES ELECTROLIZADAS SUPEROXIDADAS

Las soluciones electrolizadas superoxidadas (SES) son un producto preparado con agua purificada y con una solución saturada de cloruro de sodio (Cabello *et al.*, 2009). El agua es sometida a electrolisis en un dispositivo que tiene dos electrodos que están hechos de titanio recubiertos de platino y están separados por una membrana semipermeable hecha de plástico (Henry y Chambron, 2013). En la parte del ánodo se acumulan aniones minerales como HCO_3^- , Cl^- , HSO_4^- , NO_3^- , además de liberar protones y oxígeno. En la parte del cátodo se liberan minerales catiónicos como Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} y se producen iones hidroxilo e hidrógeno (Cabello *et al.*, 2009).

El mecanismo de acción de las SES como bactericida se debe al efecto de oxidación de los grupos sulfhidrilo (-SH) y aminoácidos de la pared celular de la bacteria, con lo que se afecta su proceso de respiración y nutrición, provocando la inhibición de la síntesis de proteínas y el rompimiento de las cadenas de RNA. Sin embargo, la concentración de los iones está controlada y no son dañinos para los seres humanos (Cabello *et al.*, 2009).

Se han realizado estudios sobre los efectos de las SES en microorganismos y en pacientes con heridas. Una de las empresas que se dedica a fabricar SES es Medilox® y se realizó un estudio *in vitro* para comprobar su actividad antimicrobiana en diferentes tiempos (1-30 min) y sobre la dilución de la SES. Para ello se ocuparon 19 microorganismos en los que se incluyen bacterias, hongos y mohos. Se demostró que la SES es efectiva en la inactivación de los microorganismos ocupados, en las diluciones 1/1 y 1/2 y en todos los tiempos (Tablas 5, 6 y 7) (Gunaydin *et al.*, 2014).

Tabla 5 efectos de la SES Medilox en el crecimiento de bacterias aisladas

		Dilución					
		1/1	1/2	1/5	1/10	1/50	1/100
<i>Acinetobacter baumannii</i> 19606	1 min.	-	-	+	+	+	+
	2 min.	-	-	+	+	+	+
	5 min.	-	-	+	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+	+
<i>E. coli</i> 25922	30 min.	-	-	-	+	+	+
	1 min.	-	-	+	+	+	+
	2 min.	-	-	+	+	+	+
	5 min.	-	-	-	+	+	+
<i>Enterococcus faecalis</i> 29212	10 min.	-	-	-	+	+	+
	30 min.	-	-	-	+	+	+
	1 min.	-	-	+	+	+	+
	2 min.	-	-	+	+	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 254988	5 min.	-	-	+	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+	+
	30 min.	-	-	+	+	+	+
	1 min.	-	-	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	2 min.	-	-	+	+	+	+
	5 min.	-	-	+	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+	+
	30 min.	-	-	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> 29213	1 min.	-	-	+	+	+	+
	2 min.	-	-	+	+	+	+
	5 min.	-	-	+	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+	+
	30 min.	-	-	-	+	+	+

Tabla 6 Efectos de la SES Medilox en el crecimiento de levaduras

		Dilución					
		1/1	1/2	1/5	1/10	1/50	1/100
<i>Candida albicans</i>	1 min.	-	-	+	+	+	+
	2 min.	-	-	+	+	+	+
	5 min.	-	-	+	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+	+
	30 min.	-	-	-	+	+	+
<i>Candida tropicalis</i>	1 min.	-	-	+	+	+	+
	2 min.	-	-	+	+	+	+
	5 min.	-	-	+	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+	+
	30 min.	-	-	-	+	+	+
<i>Candida parapsilosis</i>	1 min.	-	-	+	+	+	+
	2 min.	-	-	+	+	+	+
	5 min.	-	-	-	+	+	+
	10 min.	-	-	-	+	+	+
	30 min.	-	-	-	+	+	+
<i>Candida glabrata</i>	1 min.	-	-	+	+	+	+
	2 min.	-	-	+	+	+	+
	5 min.	-	-	+	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+	+
	30 min.	-	-	-	+	+	+
<i>Candida krusei</i>	1 min.	-	+	+	+	+	+
	2 min.	-	+	+	+	+	+
	5 min.	-	-	+	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+	+
	30 min.	-	-	+	+	+	+
<i>Candida lusitanae</i>	1 min.	-	+	+	+	+	+
	2 min.	-	+	+	+	+	+
	5 min.	-	-	+	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+	+
	30 min.	-	-	+	+	+	+
<i>Trichosporon spp.</i>	1 min.	-	+	+	+	+	+
	2 min.	-	-	+	+	+	+
	5 min.	-	-	+	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+	+
	30 min.	-	-	-	+	+	+

Tomadas de Gunaydin *et al.*, 2014.

Tabla 7 Efectos de la SES Medilox en el crecimiento de moho

	Dilución					
	1/1	1/2	1/5	1/10	1/50	1/100
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1 min.	+	+	+	+	+
	2 min.	+	+	+	+	+
	5 min.	-	-	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+
	30 min.	-	-	-	+	+
	1 min.	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i>	2 min.	-	+	+	+	+
	5 min.	-	-	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+
	30 min.	-	-	-	+	+
	1 min.	+	+	+	+	+
	2 min.	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	5 min.	-	+	+	+	+
	10 min.	-	-	+	+	+
	30 min.	-	-	-	+	+

Tomada de Gunaydin *et al.*, 2014.

También se realizó un estudio en la SES marca Oxum para comparar su efecto en la disminución del tamaño de heridas contra la Betadina. Este estudio se realizó en 200 pacientes con diferentes tipos de heridas como úlceras, heridas por trauma, úlceras de pie diabético, úlceras varicosas, heridas post cirugía, entre otras; estos pacientes se dividieron en 2 grupos, el grupo A Oxum y el grupo B Betadina. El resultado que se obtuvo es que en todos los casos el tratamiento con la SES Oxum redujo el tamaño de la herida, la secreción de pus y aumentó la regeneración de la piel (Figura 3-10) (Kapur y Kumar, 2010).

Figura 3. Muestra la reducción del tamaño de la herida provocada por abscesos agudos

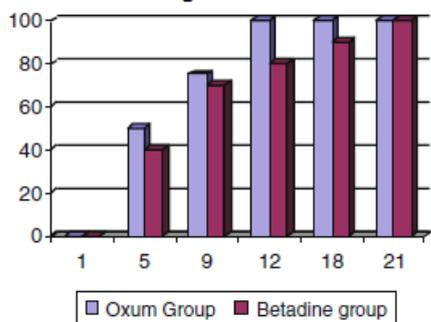


Figura 4. Muestra la reducción del tamaño de la herida provocada por úlcera de pie diabético

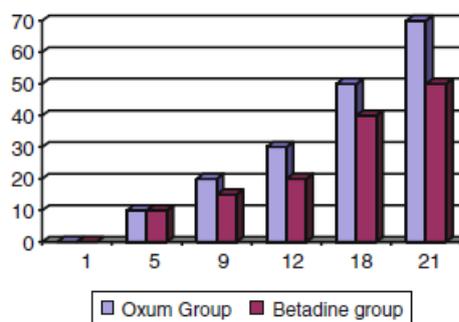


Figura 5. Muestra la reducción en la hinchazón perilesional en heridas provocadas por eritemas de abscesos agudos

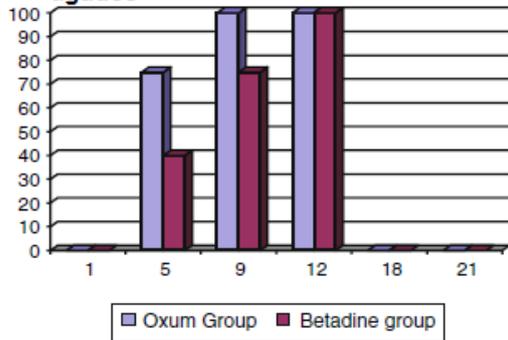


Figura 6. Muestra la reducción en la hinchazón perilesional en heridas provocadas por eritemas de úlceras venosas

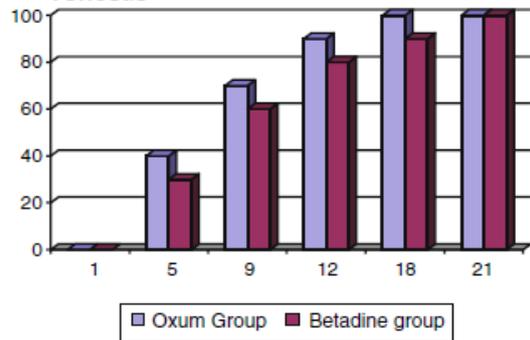


Figura 7. Muestra la reducción de la secreción de pus en heridas provocadas por abscesos agudos

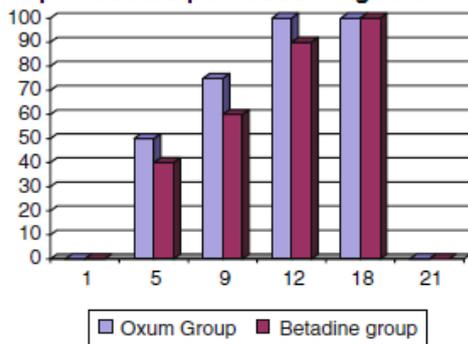


Figura 8. Muestra la reducción de la secreción de pus en pacientes con gangrena de Fournier

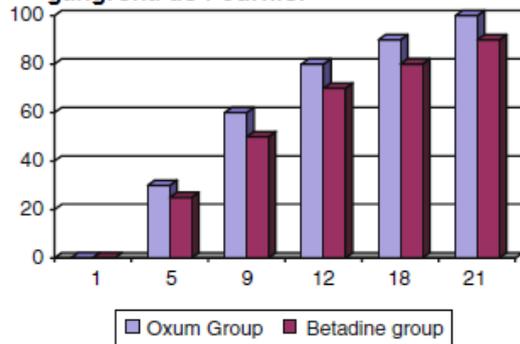


Figura 9. Muestra un incremento en la granulación y epitelización en quemaduras

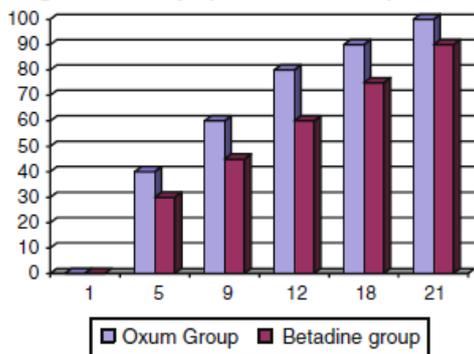
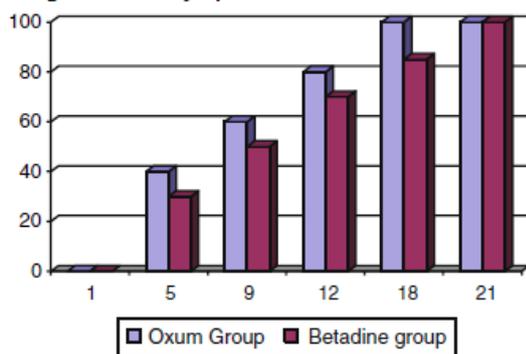


Figura 10. Muestra un incremento en la granulación y epitelización en fistula rectal



Objetivos particulares:

1. Infectar a los ratones con 2000 tripomastigotes metacíclicos de la cepa H8
 - a) Obtener sangre caudal de un ratón a los 28 días de infección.
 - b) Cuantificar los parásitos presentes y hacer la dilución adecuada.
 - c) Inocular los parásitos por vía intraperitoneal.

2. Tratar a los ratones infectados a los 28 días post-infección.
 - a) Grupo I: administrar 200µL de SES por vía intravenosa (IV).
 - b) Grupo II: administrar 500µL de SES por vía oral.
 - c) Grupo III: administrar 50 µL de SES por vía intramuscular (IM).

3. Realizar una curva de parasitemia durante la fase aguda de la infección.
 - a) Cuantificar los parásitos presentes en la sangre de los ratones cada tercer día iniciando el día 10 post-infección.

4. Observar y registrar los signos clínicos de los ratones infectados durante la fase aguda.

5. Obtener el índice cardiaco, esplénico y linfático a partir de la ecuación: peso del órgano/peso corporal X 100.
 - a) Pesar al ratón antes de la eutanasia.
 - b) Pesar el corazón, bazo y ganglios.

6. Fijar en formol una sección de cada órgano para su futuro análisis histológico

7. Preservar en solución de RNA-later una sección de cada órgano y almacenarlos a -20°C para su posterior análisis molecular.

DESARROLLO EXPERIMENTAL

Modelo experimental:

Para este trabajo se utilizaron 30 ratones BALB/C hembras, las cuales fueron infectadas con un inóculo intraperitoneal de 2000 tripomastigotes metacíclicos de *T. cruzi*. Los ratones fueron tratados con una solución electrolizada superoxidada de pH neutro ≈ 7 .

Los ratones se clasificaron en 5 grupos. grupo uno: ratones sanos o control negativo, es decir, ratones sin infección y sin tratamiento; grupo dos: ratones infectados sin tratamiento (control positivo); grupo tres: ratones infectados con tratamiento intravenoso; grupo cuatro: ratones infectados con tratamiento intramuscular y, finalmente grupo cinco: ratones infectados con tratamiento oral. Te falta describir el volumen empleado, tal como lo dijiste en los objetivos. Recuerda que la metodología debe ser muy detallada.

Curva de parasitemia:

La curva de parasitemia se inició al día 10 post-infección y cada tercer día durante la fase aguda de la enfermedad. Para esto se colocó al ratón en una trampa, la cual está adaptada para que el ratón no se asfixie y deja libre la cola del ratón. Después se realizó una pequeña incisión en la cola del ratón y se estimuló el sangrado, se tomaron 10 μL de sangre. Se realizó la hemostasia; los 10 μL de sangre se colocaron en 490 μL de solución salina fisiológica (SSF) y se homogenizó perfectamente. Se colocaron 10 μL de la sangre homogenizada en SSF en la cámara de Neubauer y se realizó el conteo de parásitos en un microscopio óptico (marca, modelo).

Sacrificio:

Los ratones fueron sacrificados de acuerdo a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres; se utilizó el método de dislocación cervical, provocando la muerte instantánea al animal.

Obtención de órganos y sangre:

Antes del sacrificio se pesó cada ratón. Se realizó una técnica de disección en "Y", para la obtención de corazón, bazo, ganglios linfáticos, intestino delgado, intestino grueso, esófago, músculo esquelético, cerebro y sangre. Para obtener la sangre, se cortó la arteria carótida, lo que provocó que el corazón se desangrara, se recolectó la sangre con una jeringa de 1 mL para su posterior análisis inmunoenzimático.

Una vez obtenidos los órganos, los animales fueron colocados en bolsas amarillas de RPBI (Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos) y almacenados en congelación para su posterior incineración.

El corazón, bazo y ganglios linfáticos fueron lavados y pesados en una balanza digital para determinar los índices cardíacos, esplénicos y linfáticos.

Preservación de órganos

Los órganos fueron colocados en formol y RNA-later para su posterior análisis histológico. La sangre fue centrifugada a 3500 rpm durante 15 minutos para obtener el suero, el cual se separó del paquete globular y se almacenó a -20 °C para su posterior análisis molecular.

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

La determinación de cardiomegalia, esplenomegalia y linfadenomegalia se realizó por medio del cálculo del índice cardíaco, esplénico y linfático en cada uno de los diferentes grupos de ratones tratados por las vías intravenosa, intramuscular, oral y los que no fueron tratados, así como los del grupo control positivo y control negativo.

Para la determinación de los índices se utilizó la siguiente ecuación y los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 8.

$$I_{c,e,l} = \left(\frac{\text{Peso del organo en g}}{\text{Peso corporal en g}} \right) * 100$$

Tabla 8. Se presentan los pesos corporales de cada ratón, los pesos de los órganos obtenidos y la determinación de los índices de cada órgano.							
Grupo	Peso corpora l	Peso del corazón	Peso del bazo	Peso del ganglio	Indice cardiaco	Indice esplenico	Indice linfatic o
contro l	19.03	0.0926	0.1360	0.0015	0.4866	0.7147	0.0079
	20.72	0.0990	0.1376	0.0006	0.4778	0.6641	0.0029
	21.68	0.1256	0.1699	0.0018	0.5793	0.7837	0.0083
	20.90	0.1205	0.1490	0.0005	0.5766	0.7129	0.0024
	20.75	0.1071	0.1284	0.0007	0.5161	0.6188	0.0034
S/Tx	21.46	0.1525	0.1951	0.0024	0.7106	0.9091	0.0112
	21.00	0.1184	0.2114	0.0100	0.5638	1.0067	0.0476
	22.43	0.1103	0.2576	0.0060	0.4918	1.1485	0.0267
	19.83	0.1039	0.1934	0.0040	0.5240	0.9753	0.0202
	22.98	0.1186	0.2224	0.0094	0.5161	0.9678	0.0409
	17.60	0.0916	0.1436	0.0020	0.5205	0.8159	0.0114
	20.44	0.1012	0.2400	0.0206	0.4951	1.1742	0.1008
I/V	17.78	0.1093	0.1497	0.0039	0.6147	0.8420	0.0219
	20.76	0.1151	0.2600	0.0068	0.5544	1.2524	0.0328
	21.80	0.1075	0.2178	0.0078	0.4931	0.9991	0.0358
	19.42	0.1045	0.2111	0.0081	0.5381	1.0870	0.0417
	19.62	0.1041	0.2062	0.0094	0.5306	1.0510	0.0479
	22.78	0.104	0.2483	0.0016	0.4592	1.0900	0.0070
I/M	23.82	0.1194	0.1145	0.0062	0.5013	0.4807	0.0260
	22.66	0.1126	0.2687	0.0086	0.4969	1.1858	0.0380
	20.84	0.0947	0.2402	0.0040	0.4544	1.1526	0.0192
	18.80	0.0993	0.1985	0.0071	0.5282	1.0559	0.0378
oral	18.39	0.1055	0.1752	0.0033	0.5737	0.9527	0.0179
	23.00	0.1063	0.2813	0.0055	0.4622	1.2230	0.0239

De esta forma, la presencia de cardiomegalias, esplenomegalias y linfadenomegalia fueron determinadas mediante la prueba estadística de Kruskal Wallis con una $P \leq 0.05$ con respecto al grupo control.

Con respecto al índice esplénico, los resultados obtenidos indican que existen diferencias significativas entre el grupo control y los grupos S/Tx, Tx/IV y Tx/Oral, lo cual indica que los tratamientos IV y oral no tuvieron efecto, es decir, la SES no evitó la inflamación del bazo durante la infección. Sin embargo, el tratamiento intramuscular disminuyó la inflamación de este órgano durante la infección (Fig.11).

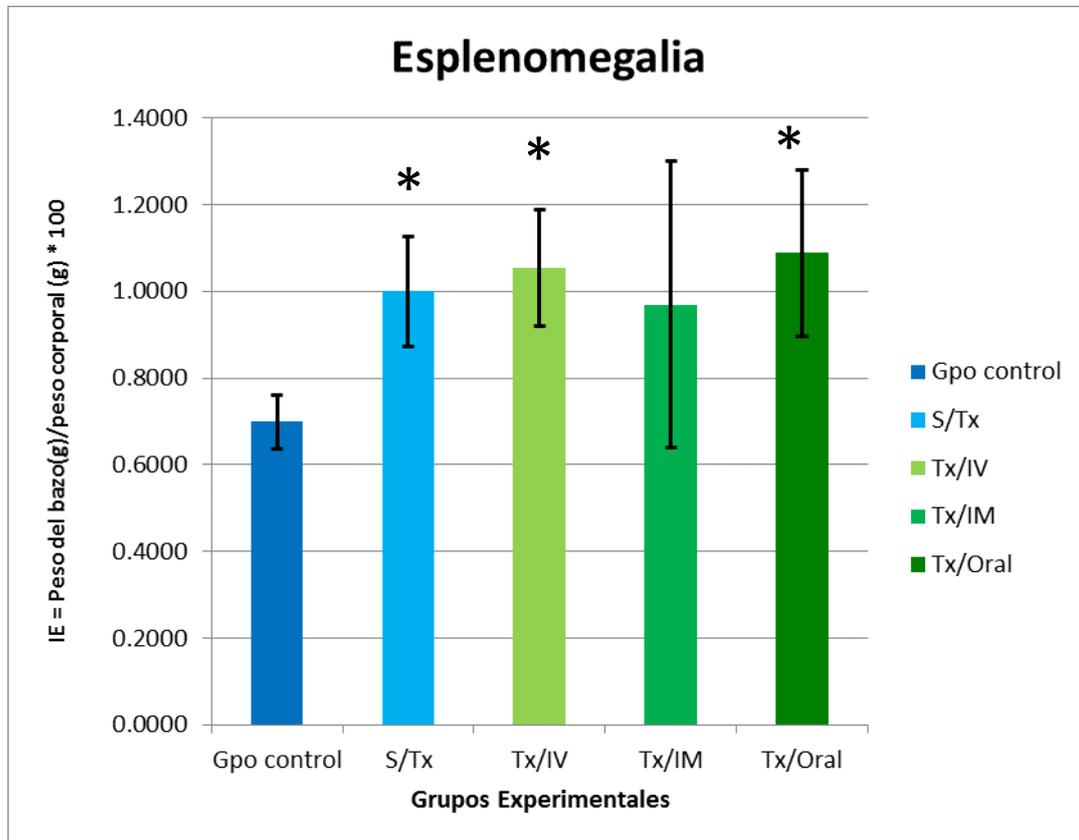


Figura 11. Esplenomegalia en ratones Balb/C durante la etapa crónica de la infección experimental con *T. cruzi* (cepa H8) La esplenomegalia se determinó calculando el promedio del índice esplénico (\pm DE). Se indican las diferencias significativas entre los diferentes grupos comparados contra el grupo control (sanos) ($P \leq 0.05$ mediante la prueba de Kruskal-Wallis). (IE = índice esplénico).

En el caso del índice cardiaco los resultados indican que no existen diferencias significativas entre los grupos de tratamiento. Esto significa que el tratamiento con la SES por de las vías de administración estudiadas no es efectivo para evitar la cardiomegalia . Sin embargo, se puede observar que el índice cardiaco disminuye con respecto al grupo infectado y sin tratamiento (Fig. 12).

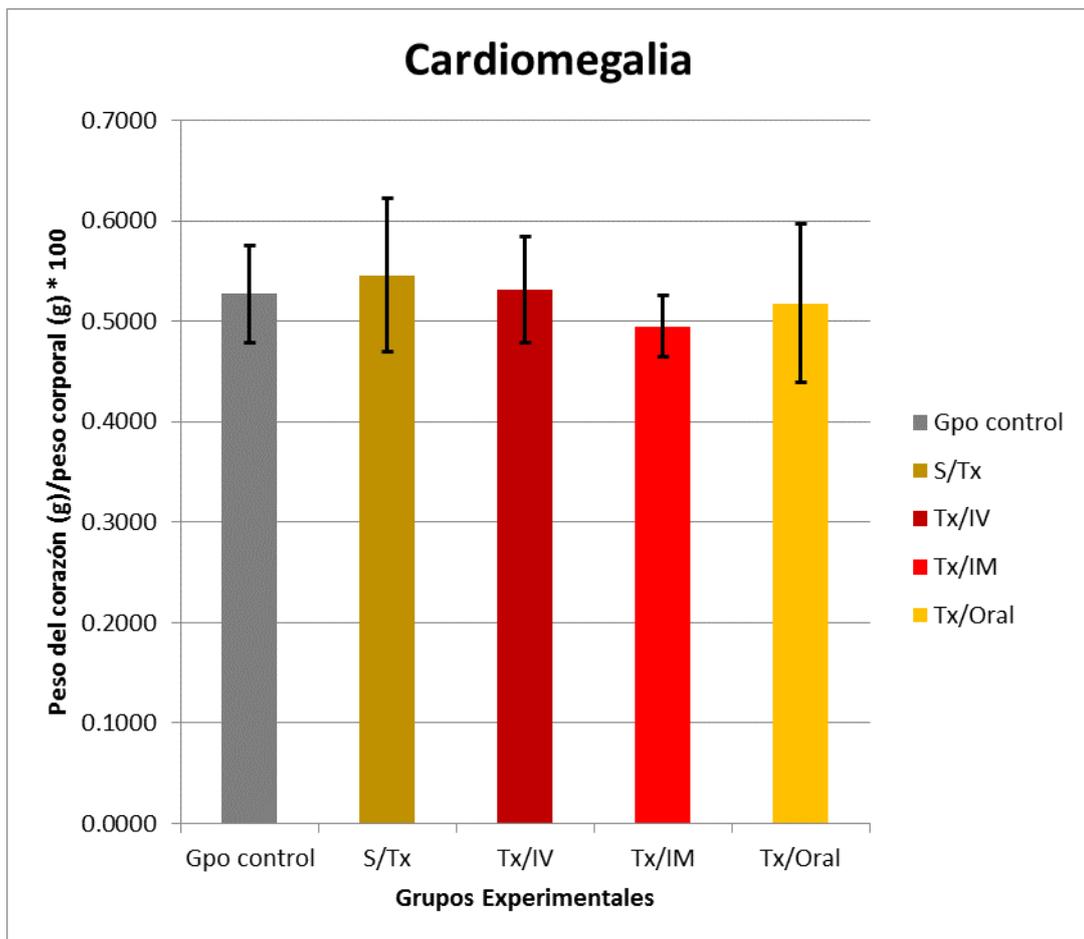


Figura 12. Cardiomegalía durante la etapa crónica de la infección con *T. cruzi* (cepa H8) en ratones Balb/C infectados experimentalmente. La cardiomegalía se determinó calculando el promedio del índice esplénico (\pm DE). Se indican las diferencias significativas entre los diferentes grupos comparados contra el grupo control (sanos) ($P \leq 0.05$ mediante la prueba de Kruskal-Wallis). (IE = índice esplénico).

Por último, en la figura 13 se muestra que hay diferencias significativas de todos los grupos con respecto al grupo control (sanos), lo que es indicativo que el tratamiento por las diferentes vías no evita la inflamación de los ganglios linfáticos. Aunque aparentemente el tratamiento disminuyó el tamaño de los ganglios linfáticos en los ratones tratados oralmente, el análisis estadístico demostró que el tratamiento por ninguna de las vías probadas evita el efecto de la infección en los ganglios.

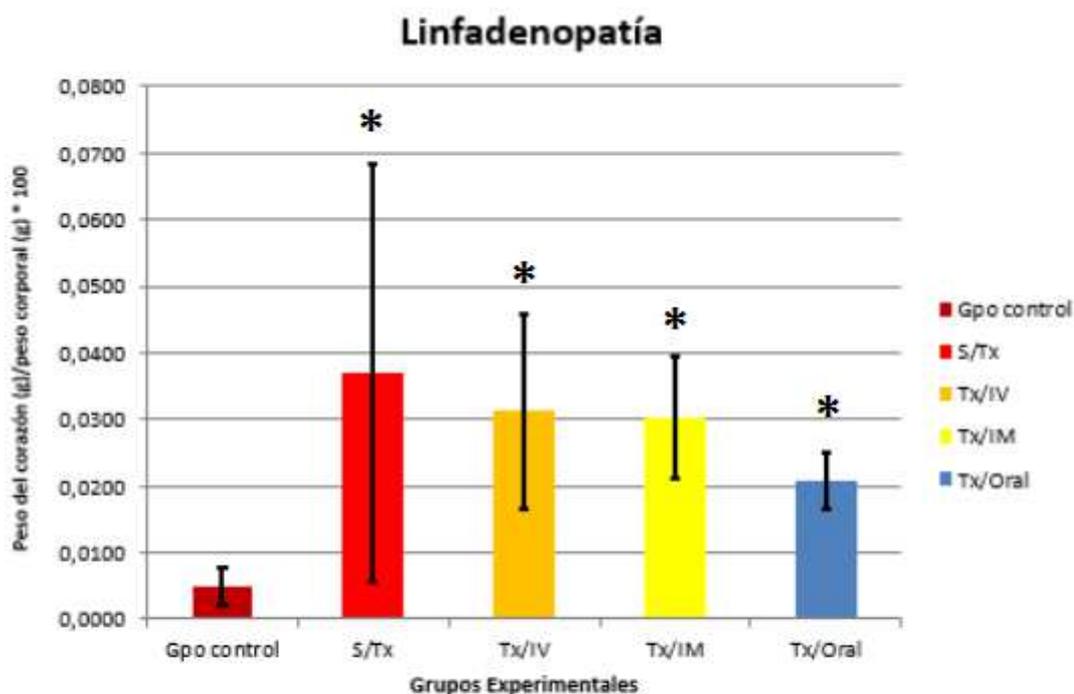
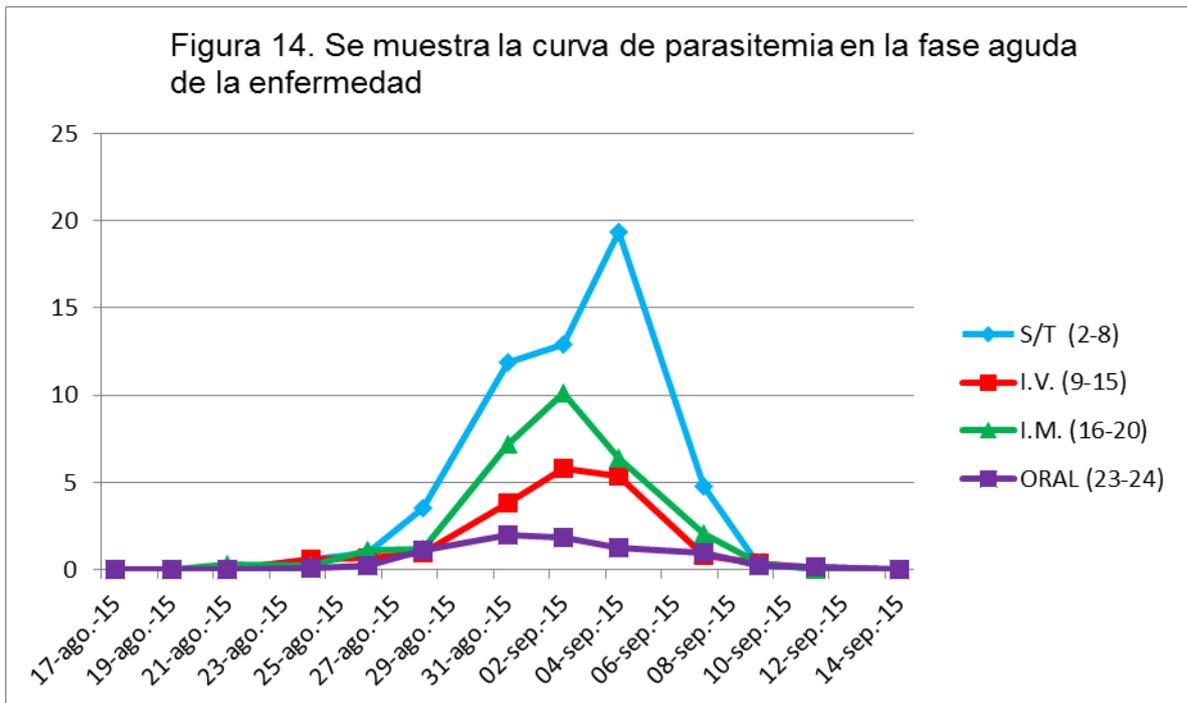


Figura 13. Linfadenopatía durante la etapa crónica de la infección con *T. cruzi* (cepa H8). La Linfadenopatía se determinó calculando el promedio del índice esplenico (\pm DE). Se indican las diferencias significativas entre los diferentes grupos comparados contra el grupo control (sanos) ($P \leq 0.05$ mediante la prueba de Kruskal Wallis). (IL=índice de linfadenopatía).

En la figura 14 se muestra la curva de parasitemia realizada durante la fase aguda de la enfermedad. Se puede observar que el número de parásitos en los ratones infectados disminuye considerablemente con respecto al grupo control (infectados sin tratamiento, curva en azul. En este punto se muestra que la mejor vía de administración es la oral.



DISCUSIÓN

Como no hay trabajos reportados de la SES como tratamiento contra la enfermedad de Chagas, posiblemente el tiempo durante el cual fue administrada la SES, al igual que la concentración administrada, no fueron las adecuadas, por lo cual no se pudo observar un efecto positivo frente al daño en los órganos.

La disminución tan notoria en la curva de parasitemia (Fig.14) se deben al efecto de la SES, por lo mencionado por Cabello *et al.*, 2009, oxida los grupos sulfhidrilo (-SH) y aminoácidos de la pared celular, con lo que se afecta el proceso de respiración y nutrición, provocando la inhibición de la síntesis de proteínas y el rompimiento de las cadenas de RNA.

Y por lo descrito por Gunaydin *et al.*, 2014, la SES es efectiva contra diversos microorganismos, pero no en el proceso de cicatrización.

CONCLUSIONES

La SES disminuye la carga parasitaria en sangre durante la etapa aguda; sin embargo, no es efectiva para disminuir el daño provocado en los órganos del hospedero.

BIBLIOGRAFÍA

Abul K. Abbas, Lichtman H. A., Pillai S., 2012. Inmunología celular y molecular. En: *Inmunología celular y molecular*. Barcelona, España: Elsevier, pp. 425-434.

Apt B. Werner, Heitmann G. Ingrid, Jercic L. M. Isabel, 2008. Parte VI. Tratamiento antiparasitario de la enfermedad de Chagas. *Revista chilena de infectología*, 25 (5), pp. 384-389

Cabello Gutiérrez C., Rosete Olvera D. P. y Manjarrez Zavala M. E., 2009. Efecto de una solución electrolizada de superoxidación con pH neutro sobre la infección del virus de influenza A en células MDCK. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 22(4), pp. 280-287.

Carabarin Lima A.,González Vázquez M. C., Rodriguez Morales O., *et al.*, 2013. Chagas disease (American trypanosomiasis) in México: An update. *Acta Tropica*, Volumen 127, pp. 126-135.

Gunaydin M., Esen S., Karadag A., *et al.*, 2014. In vitro antimicrobial activity of Medilox super-oxidized water. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, pp. 1-6.

Henry M. and Chambron J., 2013. Physico-Chemical, Biological and Therapeutic Characteristics of Electrolyzed Reduced Alkaline Water (ERAW). *water*, Volumen 5, pp. 2094-2115.

Jannin J. and Villa L., 2007. An overview of Chagas disease treatment. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 102(1), pp. 95-97.

Kapur V. y Kumar M. A., 2011. Evaluation of Effect and Comparison of Superoxidised Solution (Oxum) V/S Povidone Iodine (Betadine). *Springer*, 73(1), pp. 48-53.

Klotz A. S., Dorn L. P., Mosbacher M., et al., 2014. Kissing Bugs in the United States: Risk for Vector-Borne Disease in Humans. *Environmental Health Insights*, 8(S2), pp. 49-59.

Murcia L., Carrilero B., Saura D., et al., 2013. Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Chagas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(S1), pp. 26-34.

Pereira Nuñez M. C., Dones W., Morillo A. C., et al., 2013. Chagas Disease An Overview of Clinical and Epidemiological Aspects. *Journal of the American College of Cardiology*, 62(9), pp. 767-776.

Rassi Jr A., Rassi A., Marin Neto J. A., 2010. Chagas disease. *Seminar*, Volumen 375, pp. 1388-1402.

World Health Organization, 2015. Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. *Weekly epidemiological record*, 90(6), pp. 33-44.