



1942 - 2024

Imagen de portada:

Primer escudo institucional del Instituto de Medicina Regional de la Universidad Nacional del Nordeste (IMR-UNNE), ubicado en el Museo "Prof. Dr. Cecilio Romana", Instituto de Medicina Regional, Av. Las Heras 727, en la ciudad de Resistencia, provincia del Chaco, República Argentina.

Reseña histórica:

En el año 1937, por iniciativa del Dr. Julio Prebisch, entonces Rector de la Universidad Nacional de Tucumán (UNT), se creó el Instituto de Medicina Regional, cuyo funcionamiento dependía del Departamento de Investigaciones Regionales. Nuestro Instituto inició formalmente sus actividades en el año 1942, bajo la dirección del Dr. Cecilio Romana. Posteriormente, en el año 1954, trasladó su sede a la ciudad de Resistencia, en la provincia del Chaco.



Instituto de Medicina Regional
Universidad Nacional del Nordeste



BOLETÍN DEL INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL



ISSN 0325-9528 VOL. XXX EDICIÓN 2024

RESISTENCIA – CHACO
REPUBLICA ARGENTINA



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE

Rector

Prof. Dr. Gerardo Omar LARROZA

Vicerrector

Ing. José Leandro BASTERRA



INSTITUTO DE MEDICINA REGIONAL

Dirección

Prof. Dr. Luis Antonio MERINO

Bacteriología

Prof. Dr. Luis Antonio MERINO

UNNE

Dra. Silvina LÖSCH

UNNE

Dra. Malena SCHANTON

CONICET

Biología Molecular

Prof. Dr. Raúl Horacio LUCERO

UNNE

Mag. Bettina Laura BRUSÉS

UNNE

Dr. Héctor Marcelo MARÍN

UNNE

Entomología

Prof. Dra. Marina STEIN

UNNE-CONICET

Prof. Dr. Juan ROSA

UNNE

Dra. Griselda Inés ORIA

UNNE

Dra. Débora Natalia BANGHER

CONICET

Dr. Enrique Alejandro SZELAG

CONICET

Téc. Enzo Luis GÓMEZ

Inmunología

Dra. María Viviana BOJANICH

UNNE

Mag. María De Los Ángeles LÓPEZ

UNNE

Micología

Prof. Dr. Gustavo Emilio GIUSIANO

UNNE-CONICET

Dra. Florencia Dinorah ROJAS

UNNE

Dr. Javier Esteban MUSSIN

CONICET

Téc. Liliana ALEGRE

Bioquímica Clínica

Mag. Laura Belén FORMICHELLI

Téc. Alejandra Fabiana VALLEJOS

BENITEZ

Medicina Tropical

Prof. Dra. Silvia Edid BALBACHÁN

UNNE

Parasitología

Mag. Gustavo Javier FERNÁNDEZ

UNNE

Bacteriología

Dra. Silvia Lorena MANSILLA FERNÁNDEZ
Beca Posdoctoral CONICET- INTA

Bioq. Juan Leandro PELLEGRINI
Tesis Doctoral

Bioq. Augusto Joaquín VALLEJOS
Tesis Doctoral

Fiorella VICENTIN
Beca Pregrado Chaco+I

Oscar Ariel ARGÜELLO
Beca Pregrado Chaco+I

Jonás AGUIRRE
Beca Pregrado Chaco+I

Inmunología

Bioq. Florencia Agostina CALIVA
Beca BEI TI – Sec. Gral. Ciencia y Técnica

Bioq. Jessica Lorena SINCHI
Tesis Doctoral

María Florencia GONZALEZ
Beca Pregrado EVC-CIN

Gimena CURA
Beca Pregrado EVC-CIN

Sara Isabel TORRES MONTAÑEZ
Beca Pregrado Chaco+I

Biología Molecular

Bioq. Juan Manuel SOSA
Beca BEI TI – Sec. Gral. Ciencia y Técnica

Bioq. Marcelo SCHMIDBERGER
Especializando

Bioq. Aldo Rafael COSCI
Especializando

Bioq. Victoria BERTRAND
Especializando

Juan Francisco FRANCESCHI
Beca Pregrado EVC-CIN

Micología

Lic. Melina Noelia LORENZINI CAMPOS
Beca Doctoral CONICET

Lic. Luis Hernando CORREDOR SANGUÑA
Beca Doctoral CONICET

Lic. Freddy Genri VILLANUEVA COTRINA
Beca Doctoral CONICET

Entomología

Dra. Carla Noel ALVAREZ
Beca Posdoctoral CONICET-ICCTI

Dra. Janinna FARAONE
Beca Posdoctoral CONICET-ICCTI

Dr. Javier Orlando GIMÉNEZ
Tesis Doctoral

Lic. Miriam Alicia ELLENA
Beca Doctoral CONICET

Lic. Sofia Florencia GOMEZ GALLIPOLITI
Beca Doctoral CONICET

Lic. Aiara Belen YENSEN JUNCO
Beca Doctoral CONICET

Juan Manuel FILIPPONI
Beca Pregrado EVC-CIN

Iara Nazarena SANDOVAL
Beca Pregrado Chaco+I

Prólogo:

En esta nueva edición modificada del Boletín del Instituto de Medicina Regional, nos complace presentar una serie de artículos que reflejan el arduo trabajo y el compromiso de nuestro equipo y de otros investigadores con la investigación científica.

Esta publicación tiene como objetivo no solo dar mayor visibilidad a las diversas actividades desarrolladas en nuestro instituto y en otros centros, sino también registrar estas actividades de manera que otorguen créditos curriculares a los participantes, reconociendo así su invaluable aporte.

Los temas abordados en esta edición son de gran relevancia e interés para la comunidad científica y médica.

Por un lado, se explora la relación entre el ambiente y los mosquitos, con un impacto significativo en la salud pública debido al papel de estos artrópodos como vectores de enfermedades emergentes y reemergentes de importancia tanto regional como nacional.

Además, nos sumergimos en el fascinante estudio del microbioma, esa vasta comunidad de microorganismos que habita en nuestro organismo y que desempeña un papel crucial en nuestra salud; avances en este campo prometen revolucionar nuestra comprensión de numerosas enfermedades y condiciones médicas.

También incluimos investigaciones sobre nanopartículas, un campo de las ciencias de la salud y la biotecnología que ofrece prometedoras aplicaciones en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades.

No menos importante es el tema de la estomatitis en ofidios. Este artículo subraya la importancia de la salud veterinaria en el contexto más amplio de la salud pública y la conservación de especies animales.

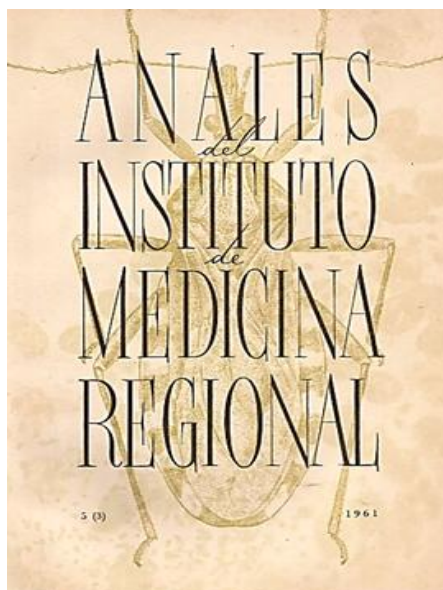
El estudio sobre la influencia de la incompatibilidad KIR/LIGANDO en la sobrevida del injerto renal revela importantes hallazgos para mejorar los resultados de los trasplantes, actividad cada vez más frecuente en la actividad médica.

Por otra parte, el monitoreo de la vigilancia de la resistencia antimicrobiana en efluentes cloacales nos proporciona datos cruciales para enfrentar este desafío global en el marco de una salud

Por último, la implementación de un modelo 3D de línea trofoblástica humana para estudios de infección por *T. cruzi* en placenta abre nuevas posibilidades para comprender y combatir la enfermedad de Chagas.

Esperando que esta edición del boletín del instituto de medicina regional sea una fuente de inspiración y conocimiento para todos nuestros lectores, agradezco profundamente la dedicación de nuestros investigadores y colaboradores, cuyo trabajo incansable hace posible esta publicación.

Luis A. Merino



Portada de los Anales del
Instituto de Medicina Regional, año 1961

MODELO 3D DE LÍNEA TROFOBLÁSTICA HUMANA PARA ESTUDIOS DE INFECCIÓN POR *T. CRUZI* EN PLACENTA

APODACA SOFÍA, LONGHI SILVIA A., SCHIJMAN ALEJANDRO G

Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas. INGEBI-CONICET.
so.apodaca@gmail.com

Introducción:

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito protozoario *Trypanosoma cruzi*, afecta a aproximadamente 7 millones de personas a nivel mundial [1]. La transmisión congénita o vertical se ha convertido en la causa principal de generación de nuevos casos, debido al control de las demás vías de transmisión y los procesos migratorios, que convierten a la enfermedad de Chagas congénito en un problema de salud pública a nivel mundial [2-4]. En Argentina, la seroprevalencia en embarazadas es de alrededor del 6% en regiones endémicas y el riesgo de transmisión congénita del 7% al 11% [5].

Se considera que, para producirse la transmisión vertical, el parásito presente en la sangre materna tiene que atravesar la placenta, invadiendo el trofoblasto que separa la sangre materna de la fetal en las vellosidades coriónicas [6,7]. Esta transmisión es un proceso multifactorial que depende de las características de la/s cepa/s infectante/s, y de factores del hospedero, como los genéticos

placentarios [7]. Los cultivos tridimensionales (3D) son fisiológicamente relevantes ya que imitan la microarquitectura de los tejidos y puede proporcionar un entorno similar al que se encuentra en las infecciones naturales [8]. Entre las funciones biológicas de estos cultivos que se acercan a las de situaciones in vivo figuran la proliferación celular, la diferenciación, la morfogénesis y la expresión génica [8-10]. A pesar de su potencial, el uso de esferoides para la exploración de mecanismos asociados a la infección por *T. cruzi* y para estudiar interacciones hospedero-parásito ha sido limitado.

Resultados y discusión:

En este trabajo, desarrollamos un modelo de cultivo 3D utilizando la línea celular trofoblástica humana BeWo y moldes no adherentes de agarosa utilizando el sistema MicroTissues® 3D Petri Dish®. Se probaron tanto modelos chicos (12-256) como grandes (12-81), con distinto número inicial de células. Ambos modelos están diseñados para utilizarse en placas

de cultivo de 12 pozos y consisten en 256 micropozos de 300 μm de diámetro o 81 micropozos de 800 μm de diámetro, de lo cual deriva la nomenclatura 12-256 y 12-81 respectivamente. En primer lugar, medimos el diámetro de los cultivos 3D y evaluamos la viabilidad celular utilizando Azul de Tripano. Con una siembra inicial de 1000 células por micropozo grande y 316 por micropozo chico, el diámetro teórico alcanzó 500 μm a los 8 días desde la

siembra solo para los esferoides grandes de 1000 células, sin verse limitados por el tamaño del micropozo (Figura 1). Esto se alinea con el valor límite estimado para prevenir la formación de un centro necrótico ^[11]. De hecho, la viabilidad celular en cultivos 3D de BeWo permaneció relativamente estable en comparación con los cultivos 2D, superando en todos los casos el 90%.

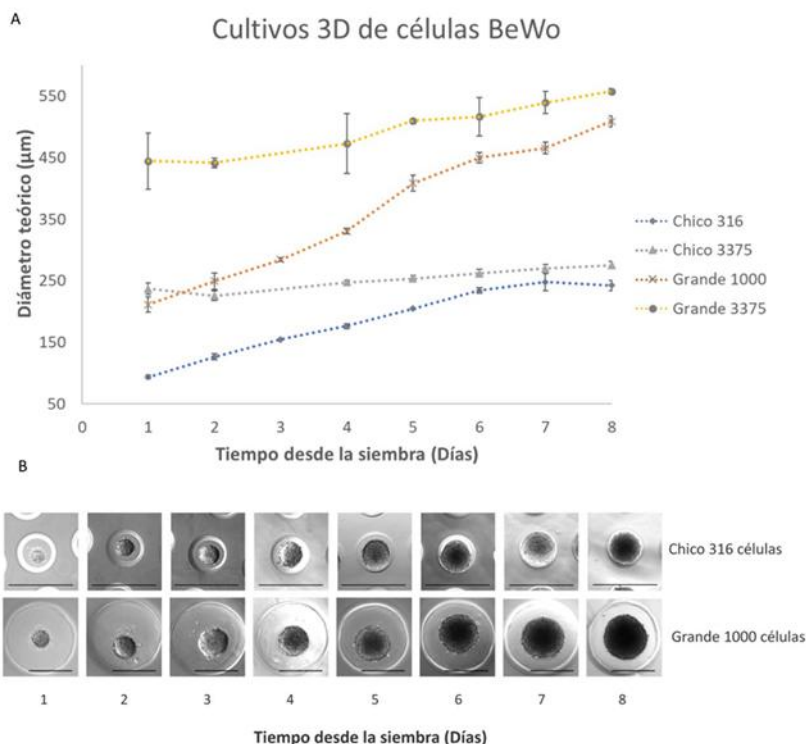


Figura 1. Esferoides de BeWo. (A) Utilizando el sistema 3D Petri Dish, se sembraron 3375 y 316 células por pocillo en el modelo chico (triángulos y diamantes respectivamente) y 3375 y 1000 células por pocillo en el modelo grande (círculos y cruces respectivamente) según el protocolo del fabricante. El gráfico muestra el promedio de 3 mediciones y su desviación estándar para cada condición. (B) Imágenes secuenciales que ilustran la progresión diaria de los resultados después de sembrar 1000 y 316 células por pocillo en el molde Chico y Grande respectivamente. Barra de escala: 500 μm .

Con el objetivo de evaluar la funcionalidad del trofoblasto se cuantificó la producción de β -hCG mediante ELISA, y se midió la fusión celular utilizando microscopía confocal, con Phalloidina o ZO-1 para marcar los bordes celulares y DAPI para los núcleos. En ausencia de inducción con forskolina, los esferoides expresaron β -hCG, lo que indica la funcionalidad del trofoblasto. Esta observación se mantuvo

tanto para esferoides chicos como grandes a los 3 y 5 días, con niveles elevados de β -hCG en comparación con los observados en cultivos 2D de células BeWo (Figura 2). Sin embargo, aunque los niveles de β -hCG medidos en los cultivos 3D fueron más altos que en los cultivos 2D, incluso en ausencia de estimulación con forskolina, la fusión del trofoblasto apenas se observó en cultivos 2D y 3D sin estímulo (Figura 3).

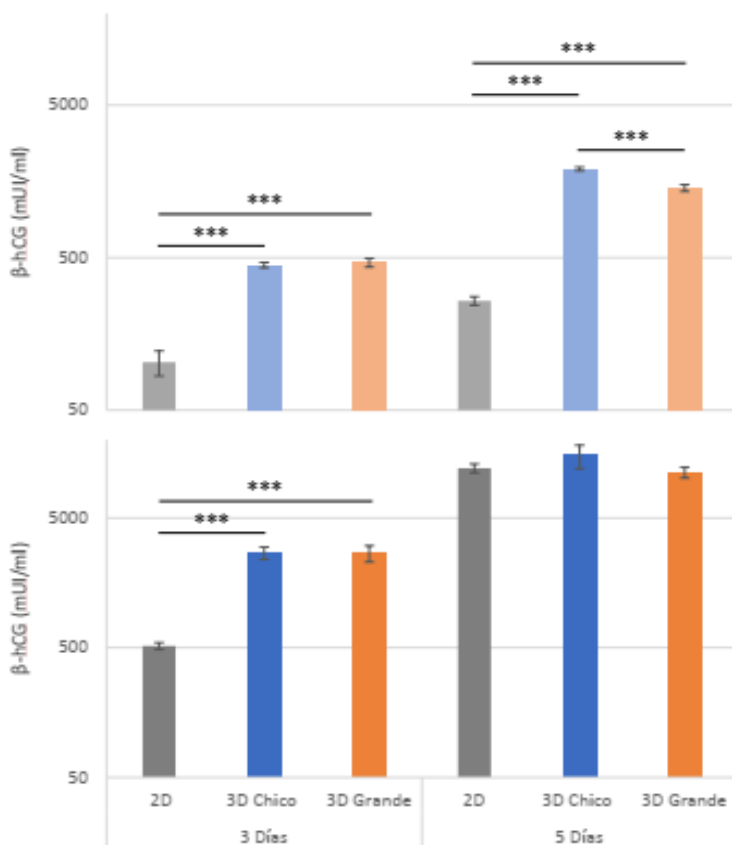


Figura 2. Producción de β -hCG. La liberación de β -hCG en el medio de cultivo en los diferentes modelos fue cuantificada utilizando ELISA, tanto sin estimulación como con estimulación con forskolina 20 μ M, a los días 3 y 5 después de la siembra. (***) $p < 0.001$.

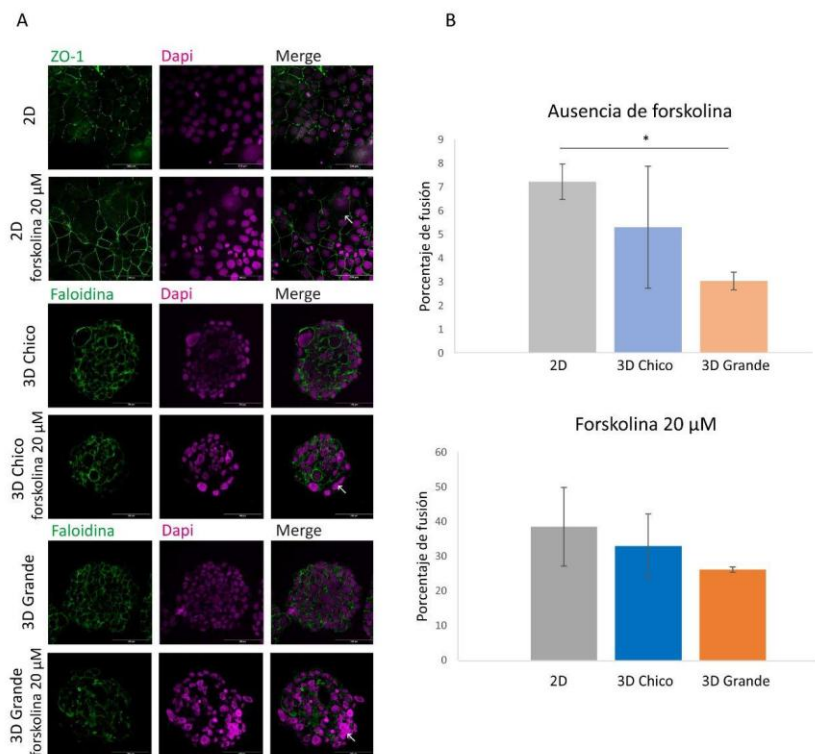


Figura 3.

Funcionalidad. A: Cultivos 2D y 3D, en presencia o ausencia de forskolina 20 μM, fueron fijados a los 5 días. Se prepararon secciones con criostato y se realizó el etiquetado inmunofluorescente con Faloidina o Zo-1 (en verde) para visualización de membranas y DAPI (en magenta) para núcleos. Las fotografías en la parte derecha muestran la fusión de ambos canales. La flecha blanca señala un sincicio.

B: Histogramas que representan el Porcentaje de fusión = $100 \times ((\text{núcleos del sincicio}) / (\text{núcleos totales}))$ para estimar la proporción de núcleos de sincicio dentro del número total de núcleos observados en los cultivos 2D y 3D, cuando se incuban en presencia o ausencia de forskolina 20 μM (* $p \leq 0.05$).

Por último, se evaluó la infección por *T. cruzi* mediante microscopía y PCR cuantitativa, dirigiéndose al gen EF1-α para *T. cruzi* y GAPDH para las células BeWo, utilizando tres stocks de parásitos: VD (aislada de un infante con enfermedad de Chagas congénita y clasificada como

Tc VI), y K98 y Pan4 (no relacionadas con la infección congénita y clasificadas como Tc I). Los ensayos se realizaron con una multiplicidad de infección de 20 parásitos por célula BeWo, con una incubación de 48h.

En las imágenes de microscopía confocal de los esferoideos infectados se puede apreciar variabilidad en la distribución y avance de la infección para cada stock parasitario ensayado (Figura 4). En el caso de la cepa VD, se observó una distribución más amplia de la infección, detectándose parásitos incluso en el centro de los esferoideos. Para K98, la distribución se observó más limitada a áreas cercanas a la superficie del esferoide. Para PAN4, se observó una mayor carga de parásitos en las células infectadas, sugiriendo una mayor tasa de replicación de los amastigotes, lo que es esperable dado que PAN4 se caracteriza por ser una cepa altamente virulenta [12]. Además, la distribución de PAN4 mostró una alta

fluorescencia verde, formando parches, en la superficie de los esferoideos y parásitos dispersos que llegaron al centro.

Respecto a la carga parasitaria por célula BeWo, estimada mediante PCR cuantitativa, se observaron diferencias significativas entre los cultivos 2D y 3D para cada stock parasitario ensayado (Figura 5). Además, para la cepa VD, esta diferencia fue más pronunciada en 3D, lo cual coincide con hallazgos previos in vivo en el modelo murino, que mostraron que VD exhibió un mayor tropismo placentario que K98 [13], lo que sugiere que estos esferoideos trofoblásticos podrían representar mejor las condiciones in vivo de infectividad que los modelos 2D.

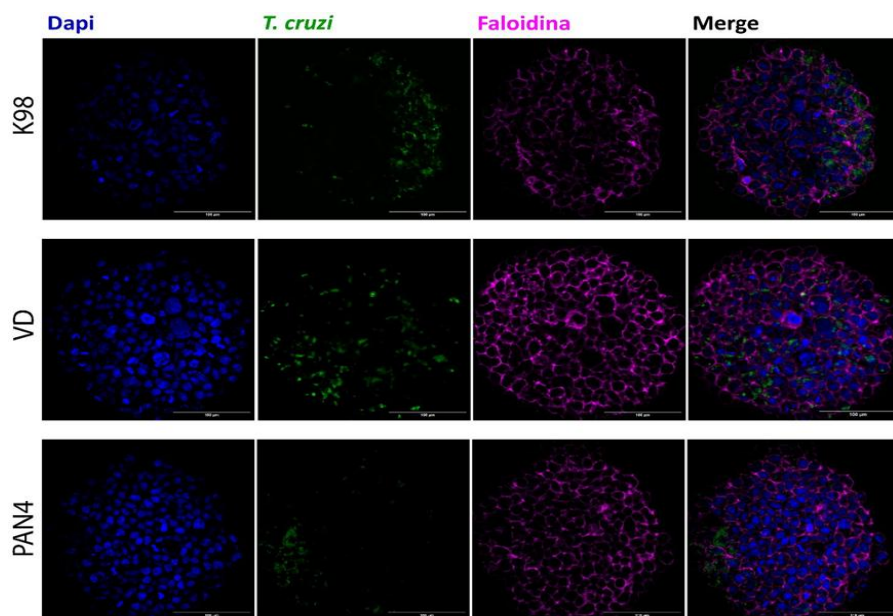


Figura 4. Infección de cultivos 3D por *T. cruzi*. Los esferoideos de tres días de edad fueron expuestos a tripomastigotes de *T. cruzi* de los stocks K98, VD y PAN4. De izquierda a derecha, las imágenes muestran los núcleos en azul, los parásitos en verde, el marcaje con faloidina en magenta y la fusión de los canales.

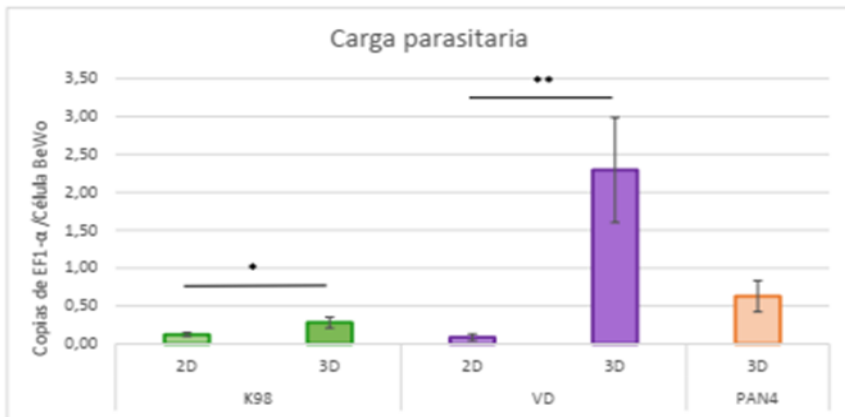


Figura 5. Carga parasitaria. Cuantificación mediante PCR cuantitativa de la carga parasitaria expresada como copias de ADN de *T. cruzi* por célula BeWo. Los resultados se representan como la media con la desviación estándar ($p \leq 0,05$ *, $p \leq 0,01$ **).

Conclusión:

Este innovador modelo 3D ofrece un enfoque simple pero eficaz para generar cultivos viables y funcionales, susceptibles a la infección por *T. cruzi*, diferenciándolo del modelo 3D desarrollado por Silberstein y col. [14] que resultó refractario a la infección. De esta manera, nuestro trabajo presenta un potencial significativo para estudiar el microambiente placentario en la interacción parásito-hospedero.

Bibliografía:

1. WHO. (2023, April 6). [https://www.who.int/es/newsroom/fact-sheets/detail/chagasdisease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/newsroom/fact-sheets/detail/chagasdisease-(american-trypanosomiasis))
2. Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. (2015). *Releve Epidemiologique Hebdomadaire / Section d'hygiene Du Secretariat de La Societe Des Nations = Weekly Epidemiological Record / Health*

Section of the Secretariat of the League of Nations, 90(6), 33–43.

3. Antinori, S., Galimberti, L., Bianco, R., Grande, R., Galli, M., & Corbellino, M. (2017). Chagas disease in Europe: A review for the internist in the globalized world. *European Journal of Internal Medicine*, 43, 6–15.

4. Organización Panamericana de la Salud. (2020). [Synthesis of evidence: Guidance for the diagnosis and treatment of Chagas disease Síntese de evidências: Guia de diagnóstico e tratamento da doença de Chagas]. *Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health*, 44, e28.

5. De Rissio, A. M., Riarte, A. R., Ruiz, A. M., Quaglino, M., Esteva, M. I., & García, M. M. (2010). Congenital Trypanosoma cruzi infection. Efficacy of its monitoring in an urban reference health center in a non-endemic area of Argentina. *The American*

Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 82(5), 838–845.

6. Carlier, Y., Truysens, C., Deloron, P., & Peyron, F. (2012). Congenital parasitic infections: A review. *Acta Tropica*, 121(2), 55–70.

7. Kemmerling, U., Osuna, A., Schijman, A. G., & Truysens, C. (2019). Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: A review about the interactions between the parasite, the placenta, the maternal and the fetal/neonatal immune responses. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01854>

8. Shamir, E. R., & Ewald, A. J. (2014). Three-dimensional organotypic culture: experimental models of mammalian biology and disease. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 15(10), 647–664.

9. Yamada, K. M., & Cukierman, E. (2007). Modeling tissue morphogenesis and cancer in 3D. *Cell*, 130(4), 601–610.

10. Smalley, K. S. M., Lioni, M., & Herlyn, M. (2006). Life isn't flat: taking cancer biology to the next dimension. *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Animal*, 42(8–9), 242–247.

11. Hirschhaeuser, F., Menne, H., Dittfeld, C., West, J., Mueller-Klieser, W., & KunzSchughart, L. A. (2010). Multicellular tumor spheroids: an underestimated tool is catching up again. *Journal of Biotechnology*, 148(1), 3–15.

12. De Pablos, L. M., González, G. G., Solano Parada, J., Seco Hidalgo, V., Díaz Lozano, I. M., Gómez Samblás, M. M., Cruz Bustos, T., & Osuna, A. (2011). Differential expression and characterization of a member of the mucin-associated surface protein family secreted by *Trypanosoma cruzi*. *Infection and Immunity*, 79(10), 3993–4001.

13. Juiz, N. A., Solana, M. E., Acevedo, G. R., Benatar, A. F., Ramirez, J. C., da Costa, P. A., Macedo, A. M., Longhi, S. A., & Schijman, A. G. (2017). Different genotypes of *Trypanosoma cruzi* produce distinctive placental environment genetic response in chronic experimental infection. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(3), e0005436.

14. Silberstein, E., Kim, K. S., Acosta, D., & Debrabant, A. (2021). Human placental trophoblasts are resistant to *Trypanosoma cruzi* infection in a 3D-culture model of the maternal-fetal interface. *Frontiers in Microbiology*, 12, 626370.

Boletín del Instituto de Medicina Regional

Vol. XXX

Mayo 2025

Este volumen del boletín reúne una serie de artículos presentados en el marco de las actividades desarrolladas en el "Ciclo de Seminarios del Instituto de Medicina Regional" Disp. N.º 46/23 y Disp. 2024-10-DGA-DGCADM-DIR-IMR#UNNE durante el año 2024.

Edición:

Aiara Belen YENSEN JUNCO, Laura Belén FORMICHELLI y Florencia Dinorah ROJAS

Diseño gráfico y diagramación:

Aiara Belen YENSEN JUNCO

Instituto de Medicina Regional

Universidad Nacional de Nordeste

Av. Las Heras 727 – CP 3500 – Resistencia, Chaco, Argentina

Tel: +54 362 4488560 / +54 362 4488561

Correo electrónico: inmedreg@medreg.unne.edu.ar

Página web: <https://medicinaregional.unne.edu.ar/>

Instagram: @imrunne

ISSN 0325-9528

Licencia:

Este boletín se distribuye bajo la Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 2.5 Argentina (CC BY-NC-ND 2.5 ar) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/ar/>
