

Análisis de la susceptibilidad genética de ratones a la infección por *Leishmania mexicana amazonensis*

F. Merino, M. Biondo y F. Rodríguez

Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC),
Departamento de Medicina Experimental, Caracas, Venezuela.

Genetic susceptibility of mice to infection by *Leishmania mexicana amazonensis*

Susceptibility of mice to infection by *Leishmania mexicana amazonensis* was studied in 12 different inbred and congenic strains. Variable degree of parasite growth was observed and the murine strains could be classified as susceptible or resistant. In the former there was no infection or temporary growth with latter regression. An association of the susceptibility to infection with the major histocompatibility locus was not observed.

La susceptibilidad para desarrollar la infección por *Leishmania mexicana amazonensis* fue estudiada en 12 cepas de ratones consanguíneos y congénicos. Se observó variaciones en el desarrollo de la lesión, existiendo cepas susceptibles y resistentes. En estas últimas unas desarrollaron un crecimiento progresivo con posterior regresión y en otras el crecimiento fue mínimo. El patrón de desarrollo de la infección en las diferentes cepas no fue compatible con una asociación al locus mayor de histocompatibilidad.

INTRODUCCION

Los parásitos del género *Leishmania* son protozoarios de crecimiento intracelular obligatorio en los macrófagos del huésped. Dos formas básicas de leishmaniasis son conocidas en el humano, la forma cutaneomucosa, con sus diferentes variedades, y la visceral. Esta última causada por una sola especie de *Leishmania*, *L. donovani*.

En el ratón es posible observar y reproducir ambas formas de la enfermedad. En base a este modelo experimental, ha sido posible efectuar análisis genéticos de la susceptibilidad o resistencia a especies de leishmanias. La resistencia natural a la *Leishmania donovani* ha sido descrita como determinada por un simple gen o grupo de ligamento en el cromosoma 1 (*locus* LsH), y la resistencia adquirida está influida por genes H-2, Ir-2 y H-11^{1,2}. Estudios sobre la susceptibilidad a *Leishmania tropica* han indicado que ésta es diferente de la observada en *L. donovani* y que puede estar controlada por un simple gen autosómico no ligado al *locus* H-2, Ir-2 o H-11³.

El propósito de este trabajo fue determinar si existe o no una asociación del *locus* mayor de histocompatibilidad del ratón y la susceptibilidad a la infección por *Leishmania mexicana amazonensis*. A tal fin se estudió la susceptibilidad a la infección de ra-

tones de 12 cepas murinas consanguíneas y congénicas.

MATERIALES Y METODOS

La *Leishmania mexicana amazonensis* usada en este estudio fue cedida por el Dr. K.-P. Chang (The Rockefeller University, Nueva York, EE.UU.) y mantenida *in vitro* en medio RPMI 1640 suplementado con suero fetal de ternera al 10% tal como se ha descrito previamente⁴, o por pasajes sucesivos en la parte dorsal de la pata de ratones Balb/c.

Se utilizaron ratones de las cepas A/J, Balb/c, CBA/J, C3H/He, C57b1/6, C57b1/10, DBA/2, SWR/J, ASW/J, B10.A (2R), B10.A (5R) y B10.SgSn de 6 a 12 semanas de edad, obtenidos de Jackson Laboratories (Bar Harbor, Maine, EE.UU.) y mantenidos en nuestras instalaciones.

La infección de los animales fue realizada mediante la inyección de formas amastigotas del parásito provenientes de nódulos de crecimiento *in vivo*. Previamente a su inoculación los parásitos se lavaron 3 veces con solución salina-fosfato. La inyección se efectuó en la parte dorsal de la pata y el tamaño de la lesión fue medido semanalmente con un vernier. El incremento de espesor de la pata indicativo de crecimiento parasitario fue confirmado por el examen histopatológico de las lesiones.

RESULTADOS

El crecimiento de *Leishmania mexicana amazonensis* en las cepas de ratones estudiadas fue deter-

Correspondencia y separatas: F. Merino. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Departamento de Medicina Experimental. Apartado 1827. Caracas, Venezuela.

TABLA I Desarrollo de la infección por *Leishmania mexicana amazonensis* en ratones de cepas consanguíneas y congénitas

Ratón (cepa)	Engrosamiento (mm) de la pata postinóculo				
	0 semanas	3 semanas	6 semanas	9 semanas	12 semanas
A/J	1,1	2,6	3,0	2,7	1,7
Balb/c	1,2	2,7	5,6	9,3	*
C3H/He	1,2	2,6	3,6	3,2	3,4
C57b1/10	1,1	1,8	1,7	1,7	1,7
C57b1/6	1,1	2,8	2,4	2,4	1,9
DBA/2	1,0	1,9	2,0	2,3	2,1
SWR	1,1	2,7	4,3	9,3	11,8
Congénicos					
ABY	1,1	3,4	6,0	8,9	8,5
ASW	1,1	2,5	3,6	5,0	5,3
B10.A(2R)	1,1	2,0	3,8	5,3	5,7
B10.A(5R)	1,2	2,3	3,8	4,3	3,4
B10.SgSn	1,2	2,9	3,1	2,8	1,8

* Lesión progresiva con ulceración y amputación. Ratones de las diferentes cepas fueron inculcados con 10^7 amastigotes, provenientes de nódulos *in vivo*, en la parte dorsal de la pata.

TABLA II Efecto de la concentración del inóculo (10^5 y 10^7) en el crecimiento de *L. mexicana amazonensis* en ratones susceptibles o resistentes

Cepa	Crecimiento (mm) postinóculo									
	0 semanas		3 semanas		6 semanas		9 semanas		12 semanas	
	10^5	10^7	10^5	10^7	10^5	10^7	10^5	10^7	10^5	10^7
A/J	1,0	1,0	1,0	1,7	2,3	2,4	2,6	3,1	2,8	
C57b1/10	1,1	1,5	2,0	3,0	3,4	3,2	3,8	3,0	3,0	
DBA/2	1,1	1,4	1,9	1,8	2,0	1,9	2,3	1,9	2,2	
SWR	1,1	1,1	2,2	2,0	4,3	3,0	9,3	8,5	11,8	

minado en dos experimentos independientes usando 3 ratones por grupo. Se obtuvieron resultados similares y un promedio de ambas se presenta en la tabla I. Los ratones se pueden dividir en dos grupos: susceptibles y resistentes. En los primeros existe una lesión progresiva caracterizada por un incremento del espesor de la pata debido a un crecimiento parasitario e infiltración de células mononucleares según pudo comprobarse por examen histológico. Posteriormente se observó ulceración progresiva y amputación de la pata.

En los animales resistentes pueden distinguirse dos grupos. En uno de ellos existe un incremento transitorio del espesor de la pata debido a un crecimiento parasitario temporal con inflamación inespecífica; éste es clasificado como intermediario. En el otro grupo, después de un ligero crecimiento tuvo lugar una regresión posterior. De los resultados de la tabla I se aprecia que la susceptibilidad a la infección leishmánica ocurre en ratones de las cepas ABY

Balb/c y SWR. Ello indica que siendo estos ratones de cepas diferentes y con distintos haplotipos H-2 la susceptibilidad a *Leishmania* no está especialmente controlada por el locus mayor de histocompatibilidad. Interesante es la observación referente a las cepas congénicas ABY y ASW, las cuales siendo derivadas de la cepa A, resistente, muestran susceptibilidad intermediaria o completa a la infección por esa *Leishmania*, respectivamente. Un fenómeno similar se observa en animales congénitos derivados de C57b1/10 y en los cuales las cepas congénicas mostraron una mayor susceptibilidad a la infección. La susceptibilidad no fue determinada por el inóculo de parásitos ya que en dosis menores se observó un patrón similar de crecimiento (tabla II).

DISCUSION

Los hallazgos presentados indican que la susceptibilidad o resistencia natural a la infección por *Leishmania mexicana amazonensis* no está bajo control genético asociado al locus mayor de histocompatibilidad. Las cepas murinas susceptibles a esta infección pertenecen a los haplotipos H-2 b (ABY), H-2q (SWR) y H-2d (Balb/c). Asimismo, dentro de un mismo haplotipo H-2 es posible observar ambas cualidades, susceptibilidad o resistencia.

Esta observación es similar y coincidente con la DeTalla et al³ en leishmaniasis cutánea por la infección de *Leishmania tropica*. Así, las mismas cepas de ratones susceptibles o resistentes para *L. tropica* son las mismas que para *L. mexicana amazonensis*. Una susceptibilidad de ratones Balb/c para *Leishmania mexicana* ha sido previamente indicada⁵.

DeTalla et al³ interpretaron sus resultados como indicativos de que el control genético a *L. tropica* era diferente del reportado para *L. donovani*. Por tanto, dada la similitud entre *L. tropica* y *L. mexicana* en la susceptibilidad o resistencia, es posible pensar que el control genético para ambas reside dentro de un único mecanismo, controlando infecciones de leishmaniasis cutánea.

El mecanismo de acción de este control genético es desconocido. Se ha descartado una posible asociación al sistema de citotoxicidad natural⁶. La posible asociación a un defecto macrofágico y desarrollo de mecanismos de actividad supresora ha sido planteado recientemente⁷.

AGRADECIMIENTO

El trabajo descrito fue parcialmente subvencionado con un fondo de investigación del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Venezuela.

Bibliografía

1. Blackwell J, Freeman J, Bradley D. Influence of H-2 complex on acquired resistance to *Leishmania donovani* infection in mice. Nature 1980; 283:72-74.

2. Bradley D, Taylor BA, Blackwell J, Evans EP, Freeman J. regulation of *Leishmania* populations within the host. III. Mapping of the locus controlling susceptibility to visceral leishmaniasis in the mouse. *Clin Exp Immunol* 1979; 37:7-14.
3. DeTalla LJ, Scott PA, Farrel JP. Single gene control of resistance to cutaneous leishmaniasis in mice. *Immunogenetics* 1981; 14:29-39.
4. Merino F, Gabaldón I. *In vitro* culture of *Leishmania brasiliensis* in a defined medium. *Acta Cient Venezolana* 1978; 29:181-183.
5. Merino F, Cruz I. Natural killer (NK) cell activity in experimental cutaneous leishmaniasis (pendiente de publicación).
6. Pérez H, Labrador F, Torrealba W. Variations in the response of five strains of mice to *Leishmania mexicana*. *Int J Parasitol* 1979; 9:27-32.
7. Scott PA, Farrel JP. Experimental cutaneous leishmaniasis: disseminated leishmaniasis in genetically susceptible and resistant mice. *Am J Trop Med Hyg* 1982; 31:230-238.