

Chagas crónico: evaluación de IL-6 e IL-10 como marcadores biológicos de patología e influencia del tratamiento tripanocida.

Gloria Gallegos, Edith Felli.

Centro de Investigaciones sobre Endemias Nacionales. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas.
Universidad Nacional del Litoral.
Ciencias Biológicas. Bioquímica

Introducción y Antecedentes

La enfermedad de Chagas, tras 107 años de su descubrimiento sigue siendo en la actualidad protagonista de una de las endemias más importante de Latinoamérica, con una cifra estimada de 8 a 10 millones de infectados según datos de OPS. Es una de las principales causas de morbimortalidad, dado que entre un 20-30% de los infectados desarrolla cardiopatías, siendo la causa más frecuente de miocardiopatía dilatada de origen infeccioso, insuficiencia cardíaca y muerte súbita en el mundo. Desde 1969 se han realizado estudios tanto clínicos como de laboratorio para evaluar la eficacia de las drogas tripanosomicidas. El uso de estas drogas en infectados agudos por *T. cruzi* no se discute, pero en infectados crónicos es un amplio tema de controversia. Por ello el presente estudio pretende dilucidar el efecto preventivo de las mismas, entendiendo que la patogénesis de enfermedad y principalmente de las lesiones cardíacas, compromete mecanismos como el de la inmunidad humoral y celular, siendo clave el papel del proceso inflamatorio. Las interleuquinas participan en procesos inflamatorios. En el estudio se evaluó, por un lado, uno de los componentes pro-inflamatorios de tal proceso como lo es la interleuquina 6 (IL-6) y por el otro lado, en contraposición a tal efecto el componente antiinflamatorio de tal proceso que es la interleuquina 10 (IL-10), analizando si el tratamiento tripanocida modifica las concentraciones de estas IL y su relación con el desarrollo de cardiopatía.

Objetivo

Evaluar los niveles séricos de IL-6 e IL-10 y analizar su relación con el tratamiento tripanocida y la cardiopatía chagásica crónica (CCC).

Metodología

Diseño: estudio de corte transversal.

Población estudiada: se procesaron 53 sueros de provenientes del último control de pacientes adultos infectados crónicos por *Trypanosoma cruzi* con seguimientos clínicos mayores a 15 años y se agruparon en: **Grupo A:** 17 Pacientes infectados crónicos por *T. cruzi* sin patología demostrada que recibieron tratamiento tripanocida (con Nifurtimox y/o Benznidazol), **Grupo B:** 24 Pacientes infectados crónicos por *T. cruzi* sin patología demostrada que no recibieron tratamiento tripanocida, **Grupo C:** 12 Pacientes infectados por *T. cruzi* con patología chagásica crónica demostrada. Además se contó con un grupo control; **Grupo D:** 5 No infectados, sin patologías.

Se utilizó el kit Human IL-6 ELISA Set de BD OptEIA™ y el kit Human IL-10 ELISA Set de BD OptEIA™, siguiendo el protocolo descrito por el fabricante. Las muestras y las curvas estándares fueron realizadas por duplicado y se estableció un coeficiente de variación de 10%, donde aquellas muestras que superaran tal C.V. se repetirían. En

cada una de las mediciones se realizó la curva estándar determinada por el inserto, comprobando la linealidad esperada.

Análisis estadístico

Se aplican Test Shapiro-wilk y Mann Whitney. Para todas las pruebas se fijó un nivel de significación $p < 0,05$.

Resultados

La tabla 1 muestra los valores de IL-6 en los diferentes grupos estudiados, sus medias y desviaciones estándares correspondientes, al igual que los valores máximos y mínimos hallados. Valor normal IL-6 $< 7,5$ pg/mL.

-Tabla 1. Valores de IL-6 para los grupos estudiados -

GRUPO	Obs.	Media (pg/mL)	Desv. Std. (pg/mL)	Mín. (pg/mL)	Máx. (pg/mL)
A	17	24,11	29,61	4,70	113,04
B	24	28,61	45,85	0,11	221,91
C	12	33,47	67,30	4,15	241,54
D	5	3,99	3,20	1,32	9,27

Grupo A: infectados crónicos por *T. cruzi* sin patología demostrada que recibieron tratamiento tripanocida (Nifurtimox y/o Benznidazol), **Grupo B:** infectados crónicos por *T. cruzi* sin patología demostrada que no recibieron tratamiento tripanocida, **Grupo C:** infectados por *T. cruzi* con patología chagásica crónica demostrada; **Grupo D:** No infectados, sin patologías.

En la Figura 1 se observan los resultados de ELISA IL-6 en los diferentes grupos estudiados.

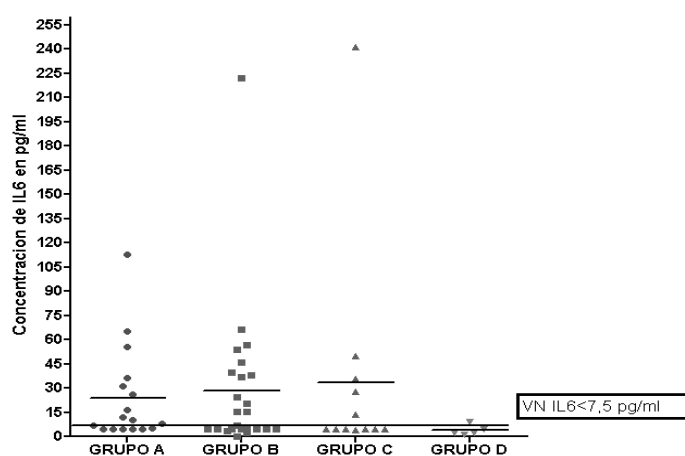


Figura 1. Grupo A: Pacientes infectados crónicos por *T. cruzi* sin patología demostrada que recibieron tratamiento tripanocida. **Grupo B:** Pacientes infectados crónicos por *T. cruzi* sin patología demostrada que no recibieron tratamiento tripanocida. **Grupo C:** Pacientes infectados por *T. cruzi* con patología chagásica crónica demostrada. **Grupo D:** No infectados, sin patologías.

Si bien cada grupo posee una gran dispersión, los pacientes infectados (correspondientes a los grupos A, B y C) presentaron valores medios más elevados que el grupo control. Mediante el método estadístico Mann-Whitney, se compararon los niveles de IL-6 entre los grupos A y B ($p=0,6690$), B y C ($p=0,7068$) y A y C ($p=0,3390$), no se encontraron diferencias significativas entre ellos. Aunque puede observarse que hay una tendencia al aumento de la media en el grupo C respecto del B y también respecto del A (tabla 1).

Al analizar los resultados de IL10 se encontró que 6 muestras presentaron un CV >10% y no fueron incluidas en este análisis ya que no pudieron repetirse debido al estado de conservación del Kit utilizado.

La tabla 2 muestra los valores de IL-10 para los diferentes grupos estudiados, sus medias y desviaciones estándares correspondientes, al igual que los máximos y mínimos hallados. Valor normal de la IL-10 entre 1,3 y 15,6 pg/mL.

-Tabla 2. Valores de IL-10 para los grupos estudiados -

GRUPO	Obs.	Media (pg/mL)	Desv. Std. (pg/mL)	Mín. (pg/mL)	Máx. (pg/mL)
A	16	4,37	2,22	1,20	9,21
B	22	14,85	19,90	2,14	100,93
C	12	3,72	2,52	0,25	9,31
D	2	8,63	2,35	6,97	10,29

Grupo A: infectados crónicos por *T. cruzi* sin patología demostrada que recibieron tratamiento tripanocida (Nifurtimox y/o Benznidazol), **Grupo B:** infectados crónicos por *T. cruzi* sin patología demostrada que no recibieron tratamiento tripanocida, **Grupo C:** infectados por *T. cruzi* con patología chagásica crónica demostrada; **Grupo D:** No infectados, sin patologías.

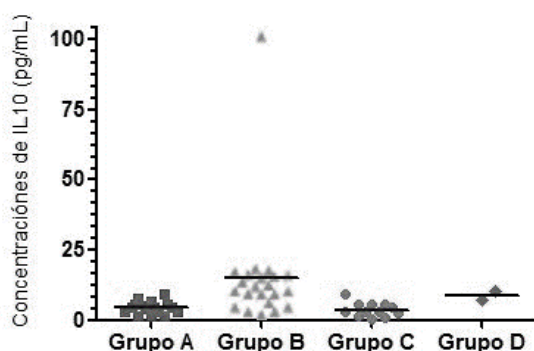


Figura 2. Grupo A: Pacientes infectados crónicos por *T. cruzi* sin patología demostrada que recibieron tratamiento tripanocida. **Grupo B:** Pacientes infectados crónicos por *T. cruzi* sin patología demostrada que no recibieron tratamiento tripanocida. **Grupo C:** Pacientes infectados por *T. cruzi* con patología chagásica crónica demostrada. **Grupo D:** No infectados, sin patologías.

Mediante el método estadístico Mann-Whitney, se compararon los niveles de IL-10 entre los grupos A y B ($p= 0,155$), B y C ($p= 0,886$) y A y C ($p= 0,586$), encontrándose que no hay diferencia significativa entre ellos. No se encontró dispersión dentro de cada uno de los grupos.

Conclusión

En este trabajo los niveles de IL-6 no fueron modificados por el tratamiento tripanocida y no se encontró asociación entre las concentraciones de IL-6 y la cardiopatía chagásica crónica. Si bien estos resultados coinciden con otras publicaciones (Haberland y col., 2013; Hovsepian y col., 2012; Keating y col., 2015; Machado y col., 2012; Moreno Ayala y col., 2015) se observó una leve tendencia de la media de concentración de IL-6 siendo en los pacientes que recibieron tratamiento tripanocida menor en relación a los infectados, en la misma condición clínica, que no fueron tratados. Finalmente, el mayor valor de IL-6 se observó en los pacientes infectados por

T. cruzi con cardiopatía chagásica crónica, si bien estas diferencias carecen de significación estadística. Sería conveniente ampliar el número de muestras, para definir la tendencia observada.

Los niveles de IL-10 tampoco fueron modificados por el tratamiento tripanocida y no se encontró asociación entre las concentraciones de IL-10 y la cardiopatía chagásica crónica. Los resultados difieren de otras investigaciones que encontraron valores elevados de IL-10 en pacientes con afecciones cardíacas compatible con miocardiopatía chagásica (Casas y col., 2008; Machado y col., 2012; Poveda y col., 2014; Siqueira y col., 2012; Vasconcelos y col., 2015).

Es preciso destacar que las concentraciones de IL-6 e IL-10 están afectadas también por procesos inflamatorios o infecciosos circunstanciales ajenos a la patología chagásica del paciente, y las mismas pueden afectar a la conclusión final del trabajo, por ello para disminuir estos posibles sesgos habría que realizar estudios de seguimiento.

Bibliografía

- Casas L.A., Gómez Gutiérrez A.**, 2008. Asociación de polimorfismos genéticos de TNF- α e IL-10, Citoquinas reguladoras de la respuesta inmune en enfermedades. Asociación Colombiana de Infectología, 1, 12, 38-53.
- Haberland A. K., Munoz Saravia S. G., Wallukat G., Ziebig R., Schimke I.**, 2013. Chronic Chagas disease: from basics to laboratory medicine. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2, 51, 271-294.
- Hovsepian E., Penas F., Mirkin G.A., Goren N.B.**, 2012. Role of PPARs in *Trypanosoma cruzi* infection: implications for chagas disease therapy. Hindawi Publishing Corporation, 2012.
- Keating S.M., Dengb X., Fernandes F., Cunha-Neto E., Ribeiro A.L., Adesina B., Beyer A.I.**, 2015. Inflammatory and cardiac biomarkers are differentially expressed in clinical stages of Chagas disease. International Journal of Cardiology, 199, 451-459.
- Machado F. Dutra W., Esper L., Gollob K., Teixeira M., Factor S., Weiss L., Nagajyothi F., Tanowitz H., Garg N.**, 2012. Current understanding of immunity to *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas disease. Semin Immunopathol, 34, 753-770.
- Moreno Ayala M.A., Casasco A., González M., Postan M., Corral R.S., Petray P.B.**, 2015. *Trypanosoma cruzi* infection induces the expression of CD40 in murine cardiomyocytes favoring CD40 ligation-dependent production of cardiopathogenic IL-6. Parasitology Research, 115, 779-785.
- Poveda C., Fresno M., Gironès N., Martins-Filho O.A., Ramírez J.D., Santi-Rocca J., Marin-Neto J.A., Morillo C.A., Rosas F., Guhl F.**, 2014. Cytokine profiling in Chagas Disease: Towards understanding the Association with infecting *Trypanosoma cruzi* discrete typing units. Plos One, 9, 3.
- Siqueira de Melo A., Barros de Lorena V.M., Carvalho de Moura Braz S.**, 2012. IL-10 and IFN- γ gene expression in chronic Chagas disease patients after in vitro stimulation with recombinant antigens of *Trypanosoma cruzi*. Cytokine, 58, 207-212.
- Vasconcelos R.H., Azevedo Ede A., Diniz G.T., Cavalcanti Mda G., de Oliveira W Jr., de Moraes CN., Gomes Yde M.**, 2015. Interleukin-10 and tumour necrosis factor-alpha serum levels in chronic Chagas disease patients. Parasite Immunology, 37, 376-379.