

## **ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE LA FRECUENCIA CARDÍACA Y NIVELES DE AUTOANTICUERPOS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CHAGAS CRÓNICA Y UN GRUPO CONTROL**

**José I. Valenzuela<sup>A</sup>, Paola L. Noroña<sup>B</sup>**

<sup>A</sup>Laboratorio de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Litoral

<sup>B</sup> Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Litoral

**Área:** Ciencias de la Salud

**Sub-Área:** Medicina

**Grupo:** X

**Palabras clave:** Variabilidad de la frecuencia cardiaca, enfermedad de chagas crónica, autoanticuerpos

### **INTRODUCCION**

La enfermedad de Chagas-Mazza es producida por el parásito *Trypanosoma cruzi*. En América Latina se la considera una patología endémica que afecta a más de 6 millones de personas (WHO, 2015). En nuestro país la cifra de pacientes infectados supera los 2.000.000 (Corallini JC., et al. 2011), de los cuales el 30% presenta compromiso cardiaco manifestado por miocardiopatía dilatada, arritmias e incluso muerte súbita (Pinto Dias JC. 1995).

Con respecto a la afección cardíaca, se ha descrito su desarrollo a partir de distintos mecanismos entre los cuáles se destaca la acción parasitaria que produce por un lado, un proceso inflamatorio crónico tendiente a la fibrosis, a la formación de trombos y vasoespasmo a nivel microvascular, y por otro, el desarrollo de disautonomía relacionada a la acción parasitaria lesiva de manera directa (Marin-Neto JA. et al. 2007). Adicionalmente, la persistencia del mismo en los tejidos del huésped se ha postulado a partir de los años 90', como responsable de gatillar y probablemente sostener, respuestas autoinmunitarias principalmente de tipo humoral (Cunha-Neto E. et al. 1995). Desde entonces se han ido caracterizando diferentes tipos de autoanticuerpos (AAC) con implicancias fisiopatológicas disímiles originados, en la mayoría de los casos, por mimetismo molecular entre proteínas del parásito y secuencias homólogas presentes en el huésped. Este es el caso de aquellos que se encuentran dirigidos contra los distintos receptores autonómicos presentes en el miocardio como los AAC anti-muscarínicos (anti-M2), así como los dirigidos contra los receptores  $\beta$  adrenérgicos (anti-p2 $\beta$ , anti- $\beta$ 1AR, anti- $\beta$ 2AR) (Rosenbaum MB, et al. 1994) También se han descrito los AAC anti-B13 que surgen por reacción cruzada con una fracción de la proteína parasitaria B13 y la cadena pesada de la miosina cardíaca (Cunha-Neto E 1996, Abel LC 1997). Los mismos han sido estudiados en modelos experimentales, siendo capaces de inducir aumento de la frecuencia cardíaca, arritmias e incluso apoptosis de miocardiocitos (Gimenez L., et al. 2003).

### **OBJETIVOS**

Correlacionar el nivel de AAC anti-p2 $\beta$ , anti- $\beta$ 1AR, anti- $\beta$ 2AR y anti-B13 con componentes de la VFC que surgen del análisis espectral del estudio Holter.

### **MATERIALES Y METODOS**

Proyecto: "Relación del tejido graso epicárdico con el perfil clínico, inmunológico y de riesgo cardiovascular en pacientes con miocardiopatía chagásica crónica" – Secretaria de Ciencia, Tecnología e Innovación de la Prov. de Santa Fe - Código N° 2010-080-14

Director del proyecto: Pablo Arias

Director del becario/tesista: Miguel H. Vicco

Co-directora de pasante: Luz Rodeles

Se realizó un estudio de corte transversal, retrospectivo, analizando los datos provenientes del seguimiento de pacientes llevado a cabo por el consultorio de control de ECC del Hospital J. B. Iturraspe, habiéndose recibido aprobación del Comité de Docencia e Investigación.

En un muestreo no probabilístico por conveniencia de acuerdo a la disponibilidad de datos, se incluyeron aquellos correspondientes a un grupo de pacientes con ECC (al menos dos pruebas serológicas positivas ELISA y HAI) y un grupo de pacientes controles consistentes en individuos con serología negativa para T. cruzi.

En el caso de aquellos que aceptaron participar voluntariamente, se les realizó interrogatorio y examen físico orientado. Se incluyeron individuos de ambos sexos, > 18 años. Fueron excluidos del estudio aquellos pacientes > 65 años de edad; etilistas crónicos ( $\geq 40$  gr/día); tabaquistas de más de 20 paquete/año; diagnóstico previo de diabetes mellitus u otras patologías que pudieran asociarse a disautonomía; tratamiento previo con  $\beta$ - bloqueantes,  $\beta$  agonistas, antiarrítmicos u otras drogas que puedan modificar la variabilidad de la frecuencia cardíaca.

Además se solicitaron estudios complementarios con el fin de estadificar la ECC acorde a la clasificación de Storino et al. (Storino R., et al. 1985).

A su vez dentro del protocolo de trabajo se incluyó la realización de un monitoreo electrocardiográfico continuo (Holter) de registro breve durante 60 minutos. Se analizó la VFC en dominio de tiempo donde se obtuvo el desvío estándar del total de los intervalos RR (SDNN; valor normal:  $141 \pm 39$  mseg) y la raíz cuadrada media de la diferencia de intervalos R-R consecutiva (rMSSD; valor normal:  $27 \pm 12$  mseg). En dominio de frecuencia se realizó el análisis espectral y del poder espectral de cada una de las frecuencias: baja (LF 0,04-0,40 Hz) y alta (HF 0,15-0,40 Hz) (Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. 1996). Para el ratio LF/HF se consideró un valor mayor a 5 como indicador de predominio simpático.

Se llevó a cabo la detección de AAC en el Laboratorio de Investigaciones Biomédicas de la Facultad de Ciencias Médicas, equipado para tal fin.

## RESULTADOS

### Población

Del total de pacientes estudiados (n=88), 65 presentaron ECC y 23 fueron controles sanos. En la muestra total predominó el sexo femenino en un 60% (n=53) y la media de edad fue de  $47,49 \pm 11$  años. Las características de los pacientes de cada grupo se especifican en la **Tabla 1**. No hubo diferencias significativas de edad ni de presión arterial basal entre ambos grupos.

**Tabla 1:** CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA. LA SIGNIFICANCIA SE CALCULÓ COMPARANDO EL GRUPO CONTROL CON EL GRUPO ECC; ns: no significativo.

	Storino I (n=32)	Storino II (n=25)	Storino III (n=8)	ECC (n=65)	Controles (n =23)	p
Sexo (F M)	24 8	13 12	7 1	44 21	9 14	0,016
Edad (Años)	46,19 $\pm$ 12	50,4 $\pm$ 7	49,38 $\pm$ 8	48,20 $\pm$ 10,24	46 $\pm$ 13	ns
TA SISTOLICA	124 (120-135)	134 (128-145)	140 (124-142)	130 (120-140)	138 (130-144)	ns
TA DIASTOLICA	84 (80-90)	86 (80-90)	90 (70-94)	86 (80-91)	84(80-90)	ns
IDO $\beta$ 2AR	1 (0,755-1,27)	1,10 (1,10-1,27)	1,06 (0,720-1,16)	1,05 (0,820-1,25)	0,584 (0,410-0,730)	ns
IDO $\beta$ 1AR	0,79 $\pm$ 0,42	0,90 $\pm$ 0,39	0,84 $\pm$ 0,29	0,828 $\pm$ 0,406	0,584 $\pm$ 0,196	0,008
IDO B13	1,26 $\pm$ 0,77	1,57 $\pm$ 0,92	1,42 $\pm$ 0,55	1,38 $\pm$ 0,831	0,605 $\pm$ 0,177	0,000
IDO p2 $\beta$	1,11 (0,790-1,28)	1,44 (1,44-2,13)	0,815(0,667-1,52)	1,13 (0,830-1,69)	0,610 (0,360-0,685)	0,000
ICT $\geq$ 0,5	-	5	3	8	1	0,001
IC ecocardiograma	-	3	6	9	-	<0,001
Clase funcional	I	II	III			
NYHA	24	14	1	39	22	0,001
	II	8	4	17	2	0,001
	II	3	3	8	-	0,001

### Electrocardiograma y radiografía de tórax

Del total de pacientes con ECC, 33 presentaron alteraciones en el ECG clasificando entonces como Storino II o III.

Los hallazgos que se observaron con mayor frecuencia en los ECG alterados consistieron en bloqueo completo de rama derecha (BCRD) con un n=9, y hemibloqueo anterior izquierdo (HBAI) con un n=7. Además, en 4 de los pacientes se halló bloqueo completo de rama izquierda (BCRI) y en 2 de los casos hubo más de una alteración, encontrándose en conjunto HBAI con BCRD. Por otra parte 11 de los pacientes presentaron extrasístoles ventriculares (EV), y solo uno del total con alteraciones en el ECG presentó fibrilación auricular.

En relación a las radiografías de tórax, no se encontraron alteraciones en 57 de los pacientes con ECC. En 8 de ellos el Índice cardiotorácico (ICT) fue > a 0,5.

Los pacientes con presencia de algún cambio electrocardiográfico presentaron mayores niveles de AAC anti-p2β que los que no evidenciaron ninguna alteración [1,16 (0,721-1,74) vs 0,777 (0,606-1,47); p= 0,043] como puede observarse en el GRÁFICO 1. No se observaron diferencias en los niveles de los demás AAC estudiados.

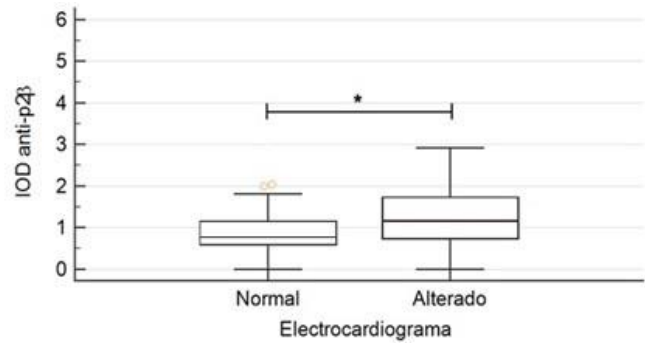


Gráfico 1 Nivel de IDO de anti-p2β en pacientes con electrocardiograma normal vs patológico; \*: p<0,05

## Ecocardiograma

De los 65 pacientes con ECC, se obtuvieron 38 ecocardiogramas sin alteraciones. En 12 pacientes se halló hipertrofia ventricular izquierda (HVI) y en 9 se determinó IC según una FEY ≤ 50% o IC diastólica (dentro de esta última se encontraron 4).

## Estudio Holter

El estudio Holter fue realizado a 31 pacientes con ECC y a los 23 controles. Se encontró que los pacientes con ECC presentaron menor VFC en el análisis del dominio temporal menor SDNN [(66,40 ± 29,68 vs 113,8 ± 52,51); p=<0,001] y menor RMSSD [21,10 (13,39-42,55) vs 34,79 (25,94-48,62); p=0,040] en contraste con el grupo control.

Cabe destacar también que el cociente LF/HF se encontró alterado (diferencia > a 5) en 9 pacientes con ECC (p=0,005).

## Autoanticuerpos

En relación al análisis de AC, un 93,8% de los pacientes con ECC resultó positivo para anti-β2AR, seguido del 60%, 93,7% y el 87,5% para anti-β1, anti-p2β y anti-B13 respectivamente.

Todos los pacientes del grupo control presentaron resultados negativos.

No se halló asociación de los AAC con el sexo o edad de los pacientes incluidos en el estudio, tampoco con otras variables evaluadas como la presencia de cardiomegalia en la radiografía de tórax, insuficiencia cardíaca por ecocardiograma. La presencia de un ECG alterado se vinculó con el AAC anti-p2β (p= 0,043) (**Gráfico 1**).

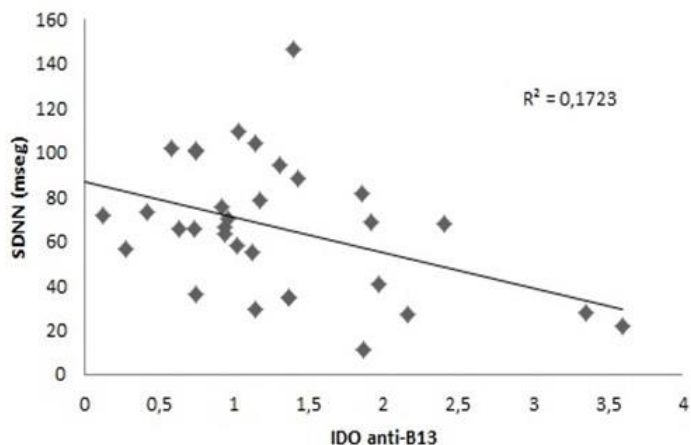


Gráfico 2 Correlación entre el nivel de IDO de anti-B13 y SDNN del Holter

Por otra parte, se observó una correlación negativa moderada entre el IDO del anticuerpo anti-B13 y el SDNN (Rho de Spearman -0,435;  $p=0,016$ ) (**Grafico 2**).

Concordantemente, anti-B13 también presentó una correlación negativa con el componente HF del análisis espectral del Holter como se observa en el (Rho de Spearman -0,393;  $p=0,026$ ). Además, anti-B13 presentó mayores niveles en el grupo de pacientes con cociente LF/HF mayor a 5 [ 1,85 ( $\pm 1,04$ ) vs 1,13 ( $\pm 0,609$ );  $p=0,023$ ].

Con respecto a anti- $p2\beta$ , se evidencia una correlación positiva con el cociente LF/HF (Rho de Spearman 0,349;  $p=0,033$ ).

## CONCLUSIONES

En nuestro reporte pudimos observar que los pacientes con ECC presentaron menor VFC en el análisis del dominio temporal en contraste con el grupo control. Esto resulta concordante con el hecho de constituir una disautonomía caracterizada por la lesión del sistema nervioso parasimpático principalmente. Esto podría generar que disminuya su capacidad de regular la VFC normal que debería permitir responder con cierta amplitud de variación de los intervalos SDNN y rMSSD ante los distintos estímulos.

En este sentido, en este trabajo, encontramos correlación negativa entre los niveles de los AAC anti-B13 y los valores de SDNN del Holter, indicando una disminución de la VFC asociada al aumento de dichos AAC. Como mecanismo subyacente, podría pensarse que el daño inducido por el mismo dado el mimetismo molecular con la cadena pesada de la miosina cardíaca, podría conllevar procesos de fibrosis como se ha descrito en la literatura, (Cunha-Neto E, et al. 1996; Abel LC, et al. 1997) y de esta manera contribuya a la lesión de las fibras autonómicas parasimpáticas encargadas de modular la respuesta cronotrópica en este grupo de pacientes.

Concordantemente, anti-B13 también presentó una correlación negativa con el componente HF del análisis espectral del Holter, lo cual también se podría vincular a una disminución de la actividad del sistema nervioso parasimpático y resultar también en un menor valor de SDNN y por ende en una frecuencia cardíaca más "fija" de manera permanente. Además, anti-B13 presentó mayores niveles en el grupo de pacientes con cociente LF/HF mayor a 5, implicando también un predominio simpático en el equilibrio autonómico en relación a los anticuerpos.

En lo que respecta al análisis del AAC anti- $p2\beta$ , se observaron mayores niveles en aquellos pacientes que presentaron cualquier alteración en el electrocardiograma en contraste con los individuos que no presentaron ninguna. Sin embargo, discriminando por tipo de alteración electrocardiográfica, no encontramos diferencias significativas. Estos resultados son concordantes a los descritos por Vicco et al (Vicco MH., 2013) en un estudio en 90 pacientes en el cual no se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto del grupo control.

Por otro lado se evidencia una correlación positiva entre el AAC mencionado anteriormente con el cociente LF/HF. Si se tiene en cuenta que  $p2\beta$  ejerce un efecto agonista simpático sobre los receptores beta 1 adrenérgicos, su actividad podría contribuir en cierto modo al desbalance autonómico con predominio simpático que se ha observado en la ECC.

Es necesario continuar estudios de mayor potencia para confirmar las distintas asociaciones que encontramos en nuestro reporte con el fin de evaluar su potencial utilidad como biomarcadores o predictores de alteraciones de la VFC en pacientes con ECC y esclarecer su utilidad clínica.

## BIBLIOGRAFÍA

**Abel LC, Kalil J, Cunha Neto E.** 1997. Molecular mimicry between cardiac myosin and Trypanosoma cruzi antigen B13: identification of a B13-driven human T cell clone that recognizes cardiac myosin. *Braz J Med Biol Res*;30:1305–8.

**Chiale PA, Rosenbaum MB, Elizari MV, Hjalmarson A, Magnusson Y, Wallukat G, Hoebeke J.** 1995. High prevalence of antibodies against Beta 1- and Beta 2-adrenoceptors in patients with primary electrical cardiac abnormalities. *J Am Coll Cardiol*.26(4):864-9.

**Corallini JC., Fernández O., Della Vedova A., et al.** 2011. Chagas-Mazza disease: seroprevalence, epidemiological and social features, *Acta Bioquím Clín Latinoam*; 45 (3): 431-9.

**Cunha-Neto E, Duranti M, Gruber A, Zingales B, de Messias I, Stolf N, et al.** 1995.

Autoimmunity in Chagas' disease cardiomyopathy: biological relevance of a cardiac myosin-specific epitope crossreactive to an immunodominant Trypanosoma cruzi antigen. Proc Natl Acad Sci USA. 92:3541-3545.

**Cunha-Neto E, Coelho V, Guilherme L, Fiorelli A, Stolf N, Kalil J.** 1996. Autoimmunity in Chagas' disease. Identification of cardiac myosin-B13 Trypanosoma cruzi protein crossreactive T cell clones in heart lesions of a chronic Chagas' cardiomyopathy patient. J Clin Invest;98:1709-12.

**Gallo JA., Farbiarz., Alvarez DL.,** 1999. Análisis espectral de la variabilidad de la frecuencia cardíaca, IATREIA Vol. 12 N°2.

**Gimenez L., Mitelman J., et al.** 2003. Anticuerpos antirreceptores autonómicos, alteraciones de la variabilidad de la frecuencia cardíaca y arritmias en sujetos con enfermedad de Chagas, Revista Sociedad Argentina de Cardiología.

**Marin-Neto JA., Cunha-Neto E., Maciel BC., Simões MV.** 2007. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. Circulation.;115:01109-2.

**Marin-Neto JA., Rassi A.,** 2009. Actualización sobre la cardiopatía de la enfermedad de Chagas en el primer centenario de su descubrimiento

**Pinto Dias JC.** 1995. Natural history of Chagas' disease. Arq Bras Cardiol. 65. 359-66.

**Sociedad Argentina de Cardiología.** 2012. Consenso de Enfermedad de Chagas "Dr. Salvador Mazza".

**Storino R, Schapachnik E, Barousee J, Leguizamo'n Palumbo J, Manigot D, De Rosa M, et al.** 1985. Clasificación clínica de la miocardiopatía chagásica crónica e historia natural. Bol Acad Nac Med B Aires.63:160.

**Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology.** 1996. "Heart Rate Variability - Standards of Measurement, Physiological Interpretation, and Clinical Use", Special Report. Circulation; 93: 1.043-1.065.

**Vicco MH, Ferini F, Rodeles L, Cardona P, Bontempi I, Lioi S, Beloscar J, Nara T, Marcipar I, Bottasso OA.** 2013. Assessment of cross-reactive host-pathogen antibodies in patients with different stages of chronic Chagas disease. Rev Esp Cardiol (Engl Ed). Oct;66(10):791-6.

**World Health Organization.** 2015. Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases: third WHO report on neglected diseases. World Health Organization Technical Report, Geneva, Switzerland.