

## TEJIDO ADIPOSEO EPICÁRDICO E INTERACCIONES INMUNOMETABÓLICAS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CHAGAS

Castro, Maximiliano Gabriel<sup>1</sup>; Valenzuela, José Ignacio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias Médicas, UNL

Área: Ciencias de la Salud

Sub-Área: Medicina

Grupo: X

**Palabras clave:** tejido adiposo, enfermedad de Chagas, auto anticuerpos.

### INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas, es una antropozoonosis endémica causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, que afecta a 1.600.000 habitantes de nuestro país, de los cuales 500.000 padecen miocardiopatía chagásica crónica (Chuit, 2012). Un 30-40% de los pacientes evolucionan a formas clínicamente manifiestas, que son causantes de 50.000 muertes anuales y de un alto costo al sistema de salud (OMS, 2015).

A pesar de los avances en la comprensión de los mecanismos de la infección, existen controversias en cuanto al abordaje terapéutico de los pacientes con miocardiopatía chagásica crónica (MCC). Por un lado, no hay evidencias de que el tratamiento anti-*T.cruzi* sea efectivo en este grupo de pacientes; por el otro, nunca se ha enfocado la enfermedad de Chagas crónica (ECC) desde una perspectiva integral que implique la prevención de las complicaciones asociadas a la parasitosis, evitando la aparición tardía de miocardiopatía, megasíndromes y muerte súbita. El cambio de paradigma implica aceptar que la MCC tiene una fase preclínica silente, susceptible de ser detectada y abordada desde la detección precoz y la prevención cardiovascular, disminuyendo la morbimortalidad de estos pacientes.

Siguiendo esta línea, se ha comenzado a develar una red de mecanismos inmunohumorales inducidos por la infección por *T. cruzi* que promoverían modificaciones metabólicas consideradas como factores de riesgo cardiovascular o equivalentes de enfermedad coronaria. Particularmente, se ha descrito que la persistencia parasitaria en tejido adiposo genera cambios inflamatorios y endocrinometabólicos probablemente relacionados con la prevalencia incrementada de obesidad y diabetes descrita en estos pacientes (Geraix, 2007). El estado inflamatorio crónico se traduce en un aumento de los niveles de interleuquinas (IL-10, IL-6), de factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) y resistina, así como por la disminución de los niveles de adiponectina (Nagajyothi, 2008). Estos cambios se han relacionado con la presencia de insulinoresistencia, hiperinsulinemia, dislipoproteinemia aterogénica e hipertensión arterial, implicados en el desarrollo de enfermedad coronaria y de insuficiencia cardíaca (Hui, 2012). Por otra parte, se han descrito en ECC, ciertos autoanticuerpos con actividad agonista  $\beta$  adrenérgica que podrían contribuir a la generación de alteraciones metabólicas (Elies, 1996).

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

**Director del proyecto:** Pablo Arias

**Director de becarios:** Miguel Vicco

**Co-directora de becarios:** Luz Rodeles

Recientemente se ha demostrado que el espesor del tejido adiposo epicárdico (TAE) puede ser utilizado como marcador simple y confiable de la grasa visceral total, enfermedad coronaria e insuficiencia cardiaca vinculado a su producción de adipocitoquinas proinflamatorias y proaterogénicas (Iacobellis, 2014). Hasta el momento, sin embargo, no se han publicado trabajos realizados en personas con MCC midiendo el espesor del TAE, y menos aún relacionando este parámetro con el perfil clínico o con marcadores de daño cardíaco.

Es así que se constituye como objetivo de esta investigación, el evaluar la relación entre el espesor del TAE y el perfil clínico, metabólico e inmunológico en pacientes con MCC en comparación a un grupo control en busca de elementos que contribuyan a sustentar su abordaje desde un enfoque preventivo integral.

## METODOLOGÍA

Se realizó un estudio observacional, de corte transversal e inclusión prospectiva, en el que se estudiaron pacientes concurrentes al Servicio de Clínica Médica del Hospital "J. B. Iturraspe" de la ciudad de Santa Fe, institución provincial en convenio con la Facultad de Ciencias Médicas de la UNL. El protocolo de trabajo fue aprobado por el Comité de Bioética de dicha institución y el Comité Provincial.

Se configuraron dos grupos: estudio y control, cuyas características se detallan a continuación (tabla 1):

Tabla 1. Criterios para la inclusión de pacientes al estudio.

Grupo de estudio		Grupo control
Inclusión	Exclusión	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ser mayor de 18 años</li> <li>• Tener diagnóstico serológico de infección por <i>T. Cruzi</i> por ELISA</li> <li>• Tener capacidad de comprender y brindar consentimiento informado</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tratado para enfermedad de Chagas</li> <li>• Enfermedad de Chagas en fase aguda</li> <li>• Enfermedad de Chagas en fase crónica con impacto cardíaco relevante</li> <li>• Tratamiento inmunosupresor</li> <li>• Patologías autoinmunes o inmunodepresión</li> <li>• Co-infecciones crónicas (TBC, toxoplasmosis, etc)</li> <li>• Hipertrigliceridemia marcada, endocrinopatías no tratadas, insuficiencia renal, hepática o respiratoria, enfermedades hematooncológicas, enfermedades autoinmunes o infecciones relevantes conocidas al momento de la inclusión</li> <li>• Embarazo o puerperio inmediato</li> <li>• Toma de medicación con efecto en el metabolismo glucídico o lipídico</li> <li>• IMC &lt;18 o &gt;30</li> <li>• Hábito etílico actual o abandono &lt;2 años/tabáquico de jerarquía/drogas ilícitas</li> <li>• Evidencia clínica y/o electro/ecocardiográfica de cardiopatía isquémica.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Serología negativa para enfermedad de Chagas</li> <li>• Similar distribución de edad, sexo e IMC al grupo de estudio</li> <li>• Mismos criterios de exclusión</li> </ul>

Los individuos fueron evaluados mediante: examen clínico, serología específica para *T. Cruzi* realizada en el Laboratorio Central de la Provincia (al menos dos técnicas positivas: ELISA + hemaglutinación indirecta; con inmunofluorescencia indirecta en caso de discordancia) y laboratorio general realizado en el Laboratorio del hospital. También se efectuó electrocardiograma de 12 derivaciones y radiografía de tórax para estadificación clínica de la MCC.

Por ecocardiograma doppler transtorácico se determinó el espesor de tejido adiposo epicárdico en los ejes paraesternal largo y paraesternal corto. La ejecución de la técnica estuvo a cargo de un cardiólogo entrenado del Servicio de Consultorios Externos del Hospital, según protocolo original de la técnica y a ciegas en relación a los grupos de estudio y control (Iacobellis, 2003).

**Determinación de anticuerpos:** de la misma muestra de sangre venosa obtenida anteriormente, se fraccionó suero para determinar autoanticuerpos adrenérgicos (anti- $\beta$ 1AR, anti- $\beta$ 2AR, anti-p2 $\beta$ ) así como anticuerpos contra proteínas parasitarias (anti-B13, anti-FRA y anti-homogenato) por ensayo inmunoenzimático indirecto. Como antígenos se utilizaron péptidos sintéticos H26R y H26Q correspondiente a la segunda asa del receptor  $\beta$ 1 y  $\beta$ 2 adrenérgico humano respectivamente ya secuenciado por

Emorine et al. (Emorine, 1987) y las proteínas B13, p2 $\beta$ , Homogenato y antígeno flagelar de *T. cruzi* producida según técnica descrita en publicaciones previas del grupo (Vicco, 2013). Estos procedimientos se realizaron en el Laboratorio de Investigaciones Biomédicas de la Facultad de Medicina. Los resultados de las determinaciones de anticuerpos se expresan como Índices de densidad óptica (IDO) calculados a partir de la DO obtenida de cada caso dividida por el punto de corte (media de DO de las muestras de los pacientes controles + 2 desvíos estándar).

**Análisis estadístico:** Se analizó la distribución de los resultados numéricos mediante la prueba de Kolmogórov-Smirnov. Los resultados distribuidos normalmente fueron analizados mediante pruebas T de dos vías o mediante ANOVA, según corresponda. Los que no cumplieron la condición de normalidad fueron analizados con pruebas no paramétricas (Mann-Whitney, Wilcoxon, Friedman), según corresponda. Las diferencias entre proporciones (variables cualitativas) fueron evaluadas mediante pruebas de  $\chi^2$ . Una  $p < 0,05$  fue considerada significativa. Las correlaciones fueron calculadas siguiendo el método de Pearson o de Spearman, según correspondiera.

## RESULTADOS

Luego del primer año de trabajo, se incluyeron hasta el momento 45 pacientes, 29 del grupo de estudio y 16 del grupo control, cuyas características principales se consignan en la **tabla 2**. La media de edad fue de  $47,2 \pm 12,2$  años, el 57,8% (n=26) fueron mujeres. No se observaron diferencias significativas entre los grupos en relación a la edad, sexo e IMC.

Tabla 2: Características los grupos. \* T de Student; # U de Mann Whitney.

Variable	MCC (n=29)	CONTROL (n=16)	p
Sexo (F/M)	21 / 8	5 / 11	ns
Edad (años)	$48,9 \pm 10,3$	$44,1 \pm 14,9$	ns
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	$27,7 (26,5-29,1)$	$27,1 (23,7-28,3)$	ns
Espesor TAE (mm)	$4,23 \pm 1,36$	$3,21 \pm 0,959$	$0,010^*$
HOMA IR	$3,77 (1,87-6,68)$	$2,36 (1,39-3,97)$	ns
Glucemia (mg/dl)	$104 \pm 17,6$	$92,6 \pm 18,2$	$0,037^*$
Triglicéridos (mg/dl)	$160 \pm 66,3$	$143 \pm 34,1$	ns
LDL (mg/dl)	$129 (99,8-152)$	$119 (92,8-136)$	ns
HDL (mg/dl)	$40,5 \pm 9,60$	$41,5 \pm 7,71$	ns
IDO Anti- $\beta$ 1AR	$0,833 \pm 0,248$	$0,616 \pm 0,183$	$0,005^*$
IDO Anti- $\beta$ 2AR	$1,12 \pm 0,309$	$0,604 \pm 0,204$	$<0,001^*$
IDO Anti-p2 $\beta$	$1,19 (0,856-1,79)$	$0,605 (0,360-0,640)$	$<0,001^{\#}$
IDO Anti-FRA	$2,35 (0,856-3,17)$	$0,610 (0,487-0,670)$	$<0,001^{\#}$
IDO Anti-Homogenato	$2,60 (1,20-5,29)$	$0,590 (0,390-0,800)$	$<0,001^{\#}$

Los pacientes con MCC presentaron mayor espesor de TAE que los pertenecientes al grupo control ( $4,23 \pm 1,36$  mm vs  $3,21 \pm 0,959$  mm;  $p=0,010$ ). Sin embargo, no hubo diferencias en el espesor de TAE entre los diferentes estadios de ECC.

La glucemia en ayunas fue mayor en el grupo de estudio ( $104 \pm 17,6$  vs  $92,6 \pm 18,2$ ;  $p=0,037$ ). Con respecto al resto de los parámetros metabólicos estudiados (índice HOMA-IR, LDL, HDL y triglicéridos), si bien mostraron valores más elevados en el grupo de estudio, las diferencias no

fueron estadísticamente significativas.

Por otro lado, como puede observarse en la figura 1, el espesor del TAE se correlacionó positivamente con parámetros metabólicos como el IMC ( $Rho=0,546$ ;  $p<0,546$ ), la circunferencia de cintura ( $r=0,481$ ;  $p<0,001$ ), el índice aterogénico ( $r=0,342$ ;  $p=0,023$ ), el índice HOMA-IR ( $r=0,42$ ;  $p=0,004$ ), el colesterol total ( $r=0,368$ ;  $p=0,013$ ) y la trigliceridemia ( $r=0,478$ ;  $p=0,001$ ).

En relación a los anticuerpos (**tabla 2**), se presentan los valores correspondientes a cada grupo, que resultaron significativamente mayores en los pacientes con ECC.

El IDO de anticuerpos anti- $\beta$ 2AR ( $r=0,474$ ;  $p=0,001$ ) presentó correlación positiva moderada con el espesor de TAE, no así el resto de los anticuerpos estudiados.

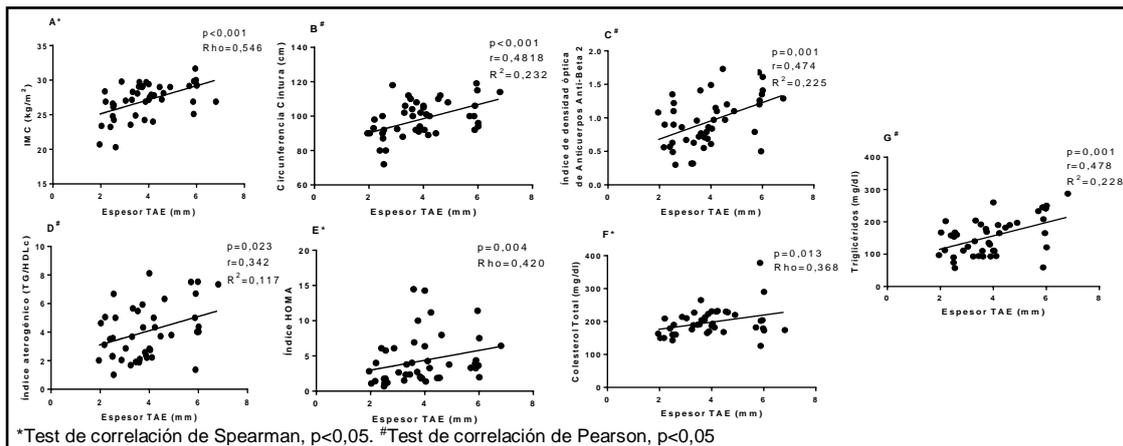


Figura 1: Correlaciones entre el espesor del TAE y parámetros inmunometabólicos.

## CONCLUSIONES

En nuestra muestra, los pacientes con MCC presentaron mayor espesor de TAE que los pacientes provenientes del grupo control. Además, este indicador se correlacionó con parámetros metabólicos de insulinoresistencia y dislipoproteinemia aterogénica.

Por otra parte, se detectó una correlación positiva con los niveles de autoanticuerpos anti-β2AR que, de producir un efecto agonista sobre este tipo de receptores, podría contribuir a las alteraciones metabólicas referidas dada su abundante distribución en distintos tejidos (hepático, adiposo, insular, muscular).

Aunque es necesario continuar estudios para precisar estas asociaciones encontradas, sus bases mecanísticas y relevancia clínica, en conjunto, estos hallazgos muestran un potencial perfil de riesgo cardiovascular mayor en estos pacientes, susceptible de ser abordado preventivamente desde el tratamiento médico en la atención integral del paciente con enfermedad de Chagas crónica.

## BIBLIOGRAFÍA

- **Chuit R, Segura EL.**, 2012. Results of control of Chagas' Disease in Argentina. *Rev Fed ArgCardiol*, 41(3), 151-155.
- **Elies R, Ferrari I**,1996. Structural and functional analysis of the B cell epitopes recognized by anti-receptor autoantibodies in patients with Chagas' disease. *J Immunol*, 157(9): 4203-11.
- **Emorine LJ, Marullo S**, 1987. Structure of the gene for human beta 2-adrenergic receptor: expression and promoter characterization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84(20):6995-9.
- **Geraix J, Ardisson LP**, 2007. Clinical and nutritional profile of individuals with Chagas disease. *Braz J Infect Dis*, 11:411-414.
- **Hui X, Lam KS, Vanhoutte PM**, 2012. Adiponectin and cardiovascular health: an update. *Br J Pharmacol*, 165(3), 574-90
- **Iacobellis G, Ribaud MC**, 2003. Echocardiographic epicardial adipose tissue is related to anthropometric and clinical parameters of metabolic syndrome: a new indicator of cardiovascular risk. *JClinEndocrinolMetab*, 88(11), 5163-8.
- **Iacobellis G.**, 2014. Epicardial adipose tissue in endocrine and metabolic diseases. *Endocrine*, 46(1), 8-15.
- **Nagajyothi F, Desruisseaux MS**, 2008. Trypanosoma cruzi infection of cultured adipocytes results in inflammatory phenotype. *Obesity (Silver Spring)*,16(9):1992-7.
- **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. *RevEspCardiol*, 66(10), 791-6.
- **WHO**, 2015. Tercer reporte de la Organización Mundial de la Salud en enfermedades tropicales olvidadas. Disponible en: [http://www.who.int/neglected\\_diseases/en/](http://www.who.int/neglected_diseases/en/).