

## Pacientes con cardiomiopatía dilatada chagásica y cardiopatía no chagásica presentan niveles elevados del factor de necrosis tumoral .

*Elisa D'Angelo-Mendoza<sup>1</sup>, Claudina Rodríguez-Bonfante<sup>2</sup>, Ignacio Camacho<sup>1</sup>, Johana Martínez<sup>1</sup>, Tania Perdomo<sup>1</sup>, Alejandro Cabrera<sup>4</sup> y Rafael Bonfante-Cabarcas<sup>3</sup>.*

<sup>1</sup>Unidad de Biología Celular y Microscopía. <sup>2</sup>Unidad de Parasitología. <sup>3</sup>Unidad de Bioquímica. Centro de Investigaciones Biomédicas, Decanato de Medicina, Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado" (UCLA), Barquisimeto.

<sup>4</sup>Consulta de Cardiología, Hospital "Baudilio Lara". Quíbor, estado Lara, Venezuela.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas, cardiopatía chagásica, cardiopatía dilatada, FNT , factor de necrosis tumoral , citocinas.

Resumen. La Enfermedad de Chagas representa un problema de salud pública en Venezuela, que afecta principalmente individuos que viven en áreas rurales. El 30% de los infectados evoluciona hacia una Miocardiopatía Chagásica Crónica (MCC) caracterizada por insuficiencia cardíaca, arritmias de difícil tratamiento, incapacidad laboral y muerte súbita. No existen factores predictores definitivos para la evolución de la forma indeterminada (asintomático) hacia la MCC. En el presente trabajo se estudiaron 115 pacientes de la consulta de cardiología del Hospital "Baudilio Lara" (Quíbor, estado Lara, Venezuela) y 12 individuos sanos procedentes de la misma zona. Ambos grupos fueron evaluados desde el punto de vista clínico, radiológico, electrocardiográfico, ecocardiográfico y serológico; se determinó la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* y los niveles séricos del Factor de Necrosis Tumoral (FNT ). Los pacientes con Enfermedad de Chagas fueron clasificados en Grupos: I (asintomáticos), II (asintomáticos, fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) normal y trastornos de la conducción) y III (síntomáticos, trastornos de conducción y FEVI < 70%) y los pacientes con Cardiopatía no Chagásica en dilatados y no dilatados. Los resultados mostraron un 33.04% de seropositividad, observándose un incremento significativo de los niveles séricos del FNT en los pacientes con Enfermedad de Chagas en las fases evolutivas I y III, al ser comparado con el grupo control. Los pacientes en fase II mostraron valores séricos similares al control. Los valores del FNT en los pacien-

tes con Enfermedad de Chagas se correlacionaron negativamente en forma significativa ( $p < 0,05$ ) con los valores de la fracción de eyección. Los cardiopatas no chagásicos mostraron incrementos significativos de los niveles séricos del FNT, respecto al control y los valores fueron comparables al observado en pacientes con cardiopatía chagásica. Los resultados confirman que la elevación del FNT puede ser un mecanismo inmunopatogénico clave en la progresión de las cardiopatías.

Patients suffering dilated chagasic cardiopathy or non chagasic cardiopathy show an increased levels of tumor necrosis factor .  
*Invest Clín 2005; 46(3): 229 - 240*

Key words: Chagas' disease, chagasic cardiopathy, dilated cardiopathy, TNF, tumor necrosis factor, cytokines.

Abstract. Chagas' disease is a public health problem in Venezuela, affecting people living in rural areas. 30% of the patients evolve to a Chronic Chagasic Myocardopathy (CCM) characterized by heart failure, arrhythmias, incapacity to work and sudden death. There are not predictive factors to determine the evolution from the indeterminate form of the disease (asymptomatic form) to CCM. In the present paper we have studied 115 patients enrolled in the Cardiology unit at the Baudilio Lara Hospital in Quibor (Lara State, Venezuela) and 12 healthy patients coming from the same area. Patients were evaluated by means of clinical history; echocardiography, electrocardiography and radiology. The presence of anti-*T. cruzi* antibodies and levels of Tumor Necrosis Factor (TNF) were determined in serum samples. Chagas' disease patients were classified in 3 groups: I (asymptomatic), II (asymptomatic with normal left ventricular ejection fraction (LVEF) and electrocardiographic alterations) and III (symptomatic, electrocardiographic alterations and LVEF < 70%). The results showed that 33.04% of the patients had anti-*T. cruzi* antibodies in their serum; we also observed a significant increase in the serum levels of TNF in groups I and III of Chagas' disease patients as compared with the control healthy group. Chagas' disease patients belonging to Group II displayed similar TNF levels as controls. We observed a statistically significant ( $p < 0.05$ ) negative correlation between serum TNF values and LVEF. Patients suffering of non-chagasic myocardopathy had a significant increase of TNF as compared with control patients and similar levels to those observed in Chagas' disease group III patients. These results confirm that the elevation of TNF serum levels could be a immunopathogenic mechanism in the evolution of myocardopathies.

*Recibido: 24-08-2004. Aceptado: 20-01-2005.*

## INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Chagas es una parasitosis causada por el *Trypanosoma cruzi* y transmitida al hombre y otros animales a través de insectos hematófagos de la subfamilia Triatominae. Es exclusiva del continente americano, endémica en 21 países, con 18-20 millones de personas infectadas y 100 millones en riesgo de infección. Se estiman 1 millón de casos nuevos anuales de esta parasitosis, que causa la muerte a 45.000 personas (1, 2). La prevalencia de la Enfermedad de Chagas parece mantenerse en Venezuela, reportándose valores de 3% (2) al 8,3% (3), siendo los estados más afectados Carabobo y Lara con 35,7% y 15,8%, respectivamente (3).

La Enfermedad de Chagas consta de fases: aguda y crónica, separadas por una fase indeterminada. La fase aguda se caracteriza por presentar el signo de Romaña, además de síntomas generales (fiebre, mialgias y cefaleas), pericarditis, miocarditis con anomalías eléctricas y arritmias, las cuales son más evidentes a nivel supraventricular y en la unión aurículo-ventricular (4-6). Para la mayoría de los infectados la fase aguda pasa inadvertida, evolucionando a la fase indeterminada conocida por su carácter asintomático. La mayoría de las personas infectadas permanecen en esta última fase por largos periodos o durante toda la vida (7). Mientras la fase crónica, ocurre en un 30-40% de los pacientes y el radio de conversión de pacientes de la fase indeterminada a enfermedad cardíaca es de aproximadamente 2-3% por año (8). Las manifestaciones patológicas de los pacientes cardíacos pueden variar desde alteraciones electrocardiográficas menores hasta falla cardíaca (9). La insuficiencia cardíaca congestiva representa un estado avanzado de la enfermedad y junto con las arritmias representa la principal causa de mortalidad (10, 11).

El daño miocárdico y el desarrollo de la miocardiopatía dilatada no se correlacio-

na con la presencia del parásito en el tejido cardíaco, este hecho ha permitido la proposición de teorías involucrando factores tróficos inflamatorios liberados por las células inmunocompetentes (12).

Existen evidencias que las citocinas pro-inflamatorias son capaces de modular la función cardíaca a través de mecanismos que incluyen el remodelamiento del músculo cardíaco o afectando al receptor adrenérgico y sus moléculas transductoras como la adenilciclase (13-15). Estudios de la participación de las citocinas en diferentes aspectos de la Enfermedad de Chagas en modelos experimentales, han mostrado que tanto la Interleucina 2 como el Interferón  $\gamma$ , dan protección durante la fase aguda de la enfermedad al disminuir la parasitemia, mientras que el FNT y la IL10 han sido asociados con una exacerbación de la patología (16).

Inicialmente, Ward y col. (17) reportaron que los pacientes con Enfermedad de Chagas no presentaban elevación en los niveles séricos de FNT, sin embargo, recientemente, Perez-Fuentes y col. (18), Ferreira y col. (19) y Talvani y col. (20) han reportado que los pacientes con Enfermedad de Chagas, tanto asintomáticos como sintomáticos tienen niveles séricos elevados del FNT y que las formas más severas de la Enfermedad de Chagas se correlacionan con los niveles del FNT (18-20).

En el presente trabajo se evaluó los niveles del FNT en suero de pacientes cardiopatas, en diferentes estadios de la Enfermedad de Chagas, procedentes de un municipio rural endémico para la Enfermedad de Chagas en Venezuela y se compararon con pacientes cardiopatas no chagásicos e individuos sanos procedentes de la misma zona.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra. Estuvo constituida por 115 pacientes de la Consulta de Cardiología del

Hospital "Baudilio Lara" (Quíbor, estado Lara, Venezuela) y 12 individuos sanos (controles) procedentes de la misma zona. Los individuos fueron evaluados desde el punto de vista clínico, radiológico, electrocardiográfico, ecocardiográfico y se tomó una muestra de sangre por venopunción para la obtención de suero. Todos los procedimientos anteriores se realizaron bajo el consentimiento previo por escrito de los participantes del estudio, los cuales fueron informados de los alcances del procedimiento.

Las muestras séricas fueron evaluadas a través de dos técnicas serológicas basadas en diferentes fundamentos, para determinar la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*: test de aglutinación directa y ELISA según protocolos descrito por Áñez y col. (21). Se consideró positivo todo paciente con dos pruebas serológicas positivas.

Los pacientes cardiopatas con serología positiva para *T. cruzi* fueron clasificados tomando en cuenta los datos clínicos, electro y ecocardiográficos, en tres grupos de acuerdo a Carrasco y col. (22): 1) pacientes asintomáticos con electrocardiograma y ecocardiograma normal (Grupo I); 2) pacientes asintomáticos con trastornos de conducción y fracción de eyección normal (Grupo II), 3) pacientes con cardiopatía, trastornos de conducción y fracción de eyección menor al 70% (Grupo III). Los pacientes cardiopatas no chagásicos fueron clasificados en dos grupos: como cardiopatas dilatados o no dilatados.

Se consideraron como criterios de exclusión al momento de la toma de muestras: enfermedad sistémica asociada de carácter metabólico, inmunológico, oncológico y/o infeccioso, enfermedades isquémicas agudas y/o recibir algún tratamiento inmunomodulador o inmunosupresor.

La medición del factor del FNT en las muestras séricas obtenidas se realizó a través de un inmunoensayo enzimático (DRG

Germany EIA-3134), con anticuerpos monoclonales dirigidos contra distintos epítopes del FNT. El procedimiento se realizó siguiendo estrictamente las instrucciones del kit.

Los resultados son presentados como el promedio  $\pm$  el error estándar (SEM) y la significancia estadística de las diferencias observadas entre los diferentes grupos fue determinado a través de ANOVA, mientras la significancia estadística para la diferencia observada entre cada grupo respecto al grupo control se determinó a través del post-test de Dunnet, aceptando como significativo una  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

De las 115 muestras séricas analizadas se evidenció que 38 (33,04%) fueron seropositivas para anticuerpos anti-*T. cruzi*, mientras que 77 (66,96%) fueron negativas.

Entre los 38 pacientes cardiopatas chagásicos y según la clasificación clínica de Carrasco y col. (22): 11 (28,94%) pacientes correspondieron al Grupo I, 12 pacientes fueron clasificados como Grupo II (31,58%) y 15 (39,47%) como Grupo III. De estos pacientes se seleccionaron 36 muestras para la medición del FNT distribuidos de la siguiente manera: 10 pacientes del grupo I; 12 pacientes del grupo II y 14 pacientes del grupo III, las dos muestras restantes no fueron incluidas en el estudio por presentar los pacientes criterios de exclusión al momento de la toma de la muestra.

Para estudiar si los cambios en los niveles séricos del FNT es un fenómeno específicamente relacionado con la Enfermedad de Chagas, se incluyeron aleatoriamente 16 pacientes cardiopatas con serología negativa para anticuerpos anti-*T. cruzi*; 8 de los cuales eran pacientes cardiopatas en fase no dilatada y 8 pacientes con Cardiopatía Dilatada. Los resultados obtenidos se compararon con 12 individuos sanos no car-

diópatas y seronegativos para anticuerpos anti-*T cruzi*.

Los resultados se muestran en la Tabla I y Fig. 1, donde se puede observar que los pacientes del grupo control tuvieron una edad promedio de  $45,42 \pm 4,15$  años, inferior a los pacientes con cardiopatía chagásica y no chagásica (Tabla I). Los pacientes con cardiopatía dilatada de ambos grupos tuvieron una edad promedio similar entre ellos y superior al resto de los grupos ( $65,21 \pm 4,14$  y  $64,00 \pm 5,32$ , respectivamente). Los pacientes de los grupos control, Chagas grupos I y II, y los cardiópatas no chagásicas-no dilatados presentaron fracciones de eyección alrededor o mayores al 70%, mientras que los pacientes con miocardiopatía dilatada chagásica y no chagásica presentaron una fracción de eyección menor de 75% y significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) al resto de los grupos.

Se observó un incremento de la concentración sérica de FNT en el suero de los pacientes cardiópatas chagásicos con respecto al grupo control (control =  $72,83 \pm 5,23$  pg/mL), siendo esta diferencia estadísticamente significativa en los grupos I y III ( $129,6 \pm 13,9$  y  $126,6 \pm 4,36$  pg/mL, respectivamente), mas no en el grupo II

( $81,71 \pm 6,71$  pg/mL). De la misma forma los valores séricos de FNT estuvieron significativamente elevados en las cardiopatías no chagásicas ( $145,2 \pm 24,8$  y  $121,6 \pm 23,3$  pg/mL, para la cardiopatía no dilatada y dilatada, respectivamente) respecto al grupo control, con valores similares a los observados en pacientes con Cardiopatía Chagásica (Tabla I y Fig. 1).

Al clasificar los pacientes con Enfermedad de Chagas de acuerdo a la percepción sintomática que refería el mismo paciente, en Asintomáticos (Grupos I y II) y Sintomáticos (Grupo III) y compararlos con los pacientes controles sanos observamos que los pacientes chagásicos asintomáticos y sintomáticos tienen niveles séricos de FNT significativamente ( $p < 0,05$ ) mayores que los pacientes controles, con valores de  $103,5 \pm 8,82$  pg/mL para los asintomáticos.

Al analizar la correlación entre los valores de la fracción de eyección y los niveles séricos de FNT, se obtuvo una correlación negativa, la cual al ser analizada por el test de Spearman se obtuvieron valores de  $r = -0,43$  y de  $p = 0,01$  (Fig. 2), indicando que existe una relación significativa entre los valores de FNT y el grado de funcionalidad cardíaca.

TABLA I  
CONCENTRACIÓN DE FNT EN SUERO DE INDIVIDUOS SANOS CONTROLES,  
CARDIÓPATAS CHAGÁSICOS Y NO CHAGÁSICOS

Pacientes	n	Edad (años)	Fracción de eyección (%)	FNT- (pg/mL)
Sano	12	$45,42 \pm 4,15$	$88,15 \pm 1,33$	$72,38 \pm 5,23$
Serología Positiva	Grupo I	$57,50 \pm 3,27$	$71,93 \pm 2,33$	$129,6 \pm 13,9^*$
	Grupo II	$59,58 \pm 2,85$	$67,83 \pm 2,24$	$81,71 \pm 6,71$
	Grupo III	$65,21 \pm 4,14$	$41,31 \pm 3,57^*$	$126,6 \pm 4,36^*$
Serología Negativa	No dilatada	$55,63 \pm 4,75$	$70,69 \pm 1,38$	$145,2 \pm 24,8^*$
	Dilatada	$64,00 \pm 5,32$	$45,42 \pm 4,93^*$	$121,6 \pm 23,3^*$

Los datos representan el promedio  $\pm$  error estándar. El valor de ANOVA para FNT es 0,0003.

\*Significa  $p < 0,05$  con respecto al control calculado mediante el post-test de Dunnet utilizando el programa Prism 4,0.

## DISCUSIÓN

La miocarditis crónica es el principal hallazgo patológico asociado con la Enfermedad de Chagas, durante la cual se produce un proceso inflamatorio difuso mediado por células del tipo hipersensibilidad retardada, que se caracteriza por la presencia de linfocitos pequeños, macrófagos, células plasmáticas y leucocitos segmentados (23). Recientemente se ha estudiado el papel de estas células infiltrantes productoras de citocinas en la miocardiopatía chagásica, por ejemplo; se ha observado que los monocitos de pacientes en la etapa indeterminada de la enfermedad presentan bajos niveles de expresión de la molécula de superficie HLA-DR y altos niveles de IL-10, mientras que los pacientes con enfermedad cardíaca expresan altos niveles de FNT $\alpha$  (24), asimismo los linfocitos T CD4+ CD28+ han sido correlacionados con la liberación incrementada de FNT $\alpha$  en las formas cardíacas y con IL-10 en la forma indeterminada de la enfermedad (25). También se ha señalado el papel de las citocinas tanto en la infección humana como experimental de *T. cruzi*, estudios en los que se ha sugerido la importancia del IFN-gamma y FNT $\alpha$  en los mecanismos inmunopatogénicos relacionados con la cardiopatía chagásica (26).

En el presente trabajo se evaluó la concentración sérica del FNT $\alpha$  en pacientes con cardiopatía chagásica en las diferentes fases de la enfermedad y en pacientes con cardiopatía no chagásica, y se comparó con los niveles séricos observado en individuos sanos. Se observó un incremento en los niveles de esta citocina en los pacientes cardiopatas chagásicos, con respecto a individuos sanos, incremento que fue estadísticamente significativo en las fases I y III de la enfermedad, sin embargo; al clasificar los pacientes de acuerdo a la percepción sintomática que refería el mismo paciente, en asintomáticos (fases I y II) y sintomáticos

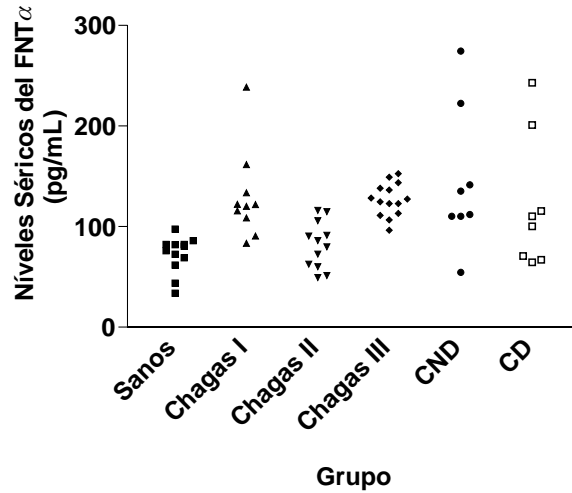


Fig. 1. Concentración sérica del FNT $\alpha$  en pacientes con Cardiopatía Chagásica y No Chagásica. La medición del FNT $\alpha$  en las muestras séricas obtenidas se realizó a través de un inmunoensayo enzimático con anticuerpos monoclonales dirigidos contra distintos epítopes del FNT $\alpha$ . Se compararon pacientes Sanos con pacientes con Enfermedad de Chagas en Fase I (Chagas I), en Fase II (Chagas II) y en Fase III (Chagas III) y con pacientes con cardiopatía no chagásica: dilatada (MD) y no dilatada (MCND). Obsérvese que todos los grupos de pacientes con excepción de los pacientes con Enfermedad de Chagas en Fase II, mostraron niveles séricos significativamente elevados de FNT $\alpha$  al ser comparados con los individuos sanos (Anova  $p = 0,0003$ ; post-test de Dunnet  $p < 0,05$ ).

(fase III), observamos que los pacientes con Enfermedad de Chagas tanto asintomáticos como sintomáticos, presentaron en forma significativa ( $p < 0,05$ ) niveles elevados de esta citocina al ser comparados con los individuos controles. Similares resultados fueron observados por Perez-Fuentes y col. (18) Ferreira y col. (19) y Talvani y col. (20), quienes midieron los niveles de FNT $\alpha$  en pacientes con Enfermedad de Chagas en fase asintomática y en pacientes con cardiopatía chagásica crónica, observando un in-

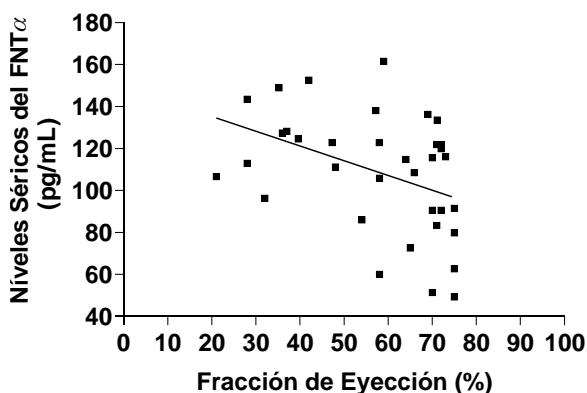


Fig. 2. Correlación entre los niveles séricos del FNT  $\alpha$  y la fracción de eyección del ventrículo izquierdo en pacientes con Enfermedad de Chagas. La concentración sérica de FNT  $\alpha$  fue determinada mediante ELISA y la fracción de eyección por ecocardiografía. Cada punto representa el resultado individual para cada paciente; la línea representa una regresión lineal. El análisis de los datos a través de la prueba de correlación de Spearman mostró una correlación negativa entre las variables análisis con significancia estadística ( $p < 0,05$ ) (ver resultados).

cremento en los niveles de esta citocina en estos pacientes, con respecto a los individuos controles sanos.

El corazón es un órgano productor de FNT, tanto los macrófagos y linfocitos miocárdicos, como los cardiomiocitos sintetizan FNT (27). El FNT ha sido considerado como una citocina moduladora de la respuesta del huésped contra infecciones parasitarias, entre ellas la infección por *T cruzi*, controlando la multiplicación del patógeno y limitando la extensión y duración del proceso inflamatorio (28). Ejerce un amplio rango de actividades biológicas que incluyen proliferación y diferenciación celular, apoptosis, citotoxicidad, inflamación e inmunomodulación (29). La inapropiada producción de FNT o la activación sostenida de las señales generadas por su receptor

han sido implicadas en la patogénesis de un amplio espectro de patologías autoinmunes (30).

El FNT tiene diferentes propiedades biológicas particularmente dañinas en la función cardíaca, como inducción de apoptosis de las células musculares esqueléticas, efecto inotrópico negativo, estimulación del remodelamiento del ventrículo izquierdo e inducción de cardiomiopatía dilatada en humanos. Los estudios *in vitro* sugieren una compleja interacción del FNT con el corazón, con efectos pleiotrópicos sobre el desempeño del cardiomiocito, incluyendo la inducción de iNOS cuando los niveles de esta citocina son muy elevados. El efecto del FNT en el corazón varía según la cinética del proceso: el incremento brusco induce un efecto cardiodepresor inmediato que incluye liberación de esfingomiosina y supresión del tránsito de calcio, mientras que la administración crónica de FNT deprime la síntesis de precursores del mecanismo del fosfo-inositol e inhibe la actividad piruvato deshidrogenasa y la función mitocondrial (31, 32).

Aunque durante la fase I de la cardiopatía chagásica no se evidencian signos electrocardiográficos o ecocardiográficos de daño al miocardio, el examen microscópico por biopsia de tejido cardíaco de pacientes infectados en la fase indeterminada (asintomática) revelan una miocarditis focal leve (33) y el análisis ultraestructural ha evidenciado la presencia de células inflamatorias que incluyen linfocitos, células plasmáticas, macrófagos, neutrófilos y mastocitos, que se acumulan en áreas focales del tejido intersticial del miocardio (34). Las manifestaciones clínicas pueden aparecer cuando las lesiones focales hayan afectado estructuras estratégicas del corazón como el sistema de conducción o el sistema nervioso autónomo intrínseco (35). La presencia de una inflamación activa explicaría la elevación de citocinas en la fase I de la Enfermedad de

Chagas, tal y como ha sido observado en nuestro trabajo y reportado en trabajos previos (18-20).

En el presente trabajo no se observaron incrementos estadísticamente significativos en los niveles de FNT de los pacientes del grupo II, cuando éstos fueron analizados respecto a los pacientes del grupo control, aun cuando se observó un discreto aumento (Tabla I y Fig. 1). Sin embargo, al analizar los niveles del FNT en relación a la funcionalidad cardíaca, medida a través de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, se obtuvo una correlación negativa de carácter estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ) (Fig. 2), indicando ciertamente que los niveles séricos del FNT se asocian directamente con un deterioro de la función cardíaca en los pacientes con Enfermedad de Chagas. Estos datos donde se relaciona funcionalidad ventricular con niveles del FNT son similares a estudios anteriores (18-20).

Los resultados observados en el grupo II discrepan de los resultados reportados en la literatura, donde pacientes con trastornos de conducción y fracción de eyección normal presentaban niveles elevados del FNT (18-20). En las zonas rurales endémicas para la Enfermedad de Chagas en Venezuela, coexisten factores mórbidos y socio-culturales no analizados en este trabajo, que podrían eventualmente inducir la disminución de los niveles séricos del FNT, por ejemplo; ha sido reportado que la infestación con *Ascaris lumbricoides* y/o *Trichuris trichiura*, así como el consumo habitual de alcohol se asocian con niveles bajos del FNT, y que las células mononucleares de estos individuos liberan una menor cantidad de citocinas ante estímulos mitogénicos (36, 37).

La misma Enfermedad de Chagas tiene periodos de supresión de la inmunidad mediada por células, en la etapa indeterminada la inflamación disminuye prácticamente en su totalidad cuando los factores supreso-

res modulan la respuesta del huésped, la inflamación se hace leve y focal y pasa por cambios cíclicos que podrían conllevar a una completa resolución. Este equilibrio facilitado por los factores supresores permite una mayor supervivencia del huésped en ausencia de síntomas y signos de la enfermedad. La forma crónica cardíaca y sintomática representada por una miocarditis difusa mediada por células, afloraría cuando los mecanismos supresivos operativos en la fase indeterminada son suprimidos en la etapa crónica (35, 38). Una vez instaurada la fase III el incremento de las citocinas, depende de la expresión miocárdica activada por la elevación de la presión de las paredes del ventrículo, que a su vez contribuye con la disminución de la contractilidad miocárdica (27).

Por otra parte, se ha reportado que en la población rural de los estados centro occidentales de Venezuela, hay una alta prevalencia constitucional de trastornos electrocardiográficos y que no existe diferencia entre la presencia o ausencia de estos signos electrocardiográficos y la serología para la Enfermedad de Chagas (39, 40). Esto indica que gran parte de nuestros pacientes clasificados como en fase II, podrían corresponder en realidad a la fase I de la Enfermedad de Chagas, permitiendo entonces considerar a ambos grupos como un grupo homogéneo de pacientes chagásicos asintomáticos, los cuales al ser comparado con los controles sanos nos permiten observar un incremento estadísticamente significativo de los niveles séricos del FNT en los pacientes chagásicos asintomáticos ( $p < 0,05$ ), indicando esto, que la falta de significancia estadística en el discreto incremento observado en el grupo II podría ser debido al número de pacientes analizados.

En nuestro trabajo se pudo apreciar además un incremento en los niveles séricos de FNT en pacientes cardiopatas no chagásicos. El incremento en los niveles de



esta citocina se ha observado en pacientes con falla cardíaca de diferentes etiologías (27) y se ha sugerido la participación de mecanismos inmunológicos. Al respecto, se han desarrollado dos modelos murinos de miocarditis, uno producido por infección del virus Coxsackie B3 (CB3) cardiotrópico y un segundo modelo generado por la inmunización con miosina cardíaca. En ambos se observó una inflamación miocárdica en la cual el FNT podía modular la respuesta frente a la infección por el virus y aumentar la secuela autoinmunitaria, demostrando la importancia de esta citocina en las cardiopatías de origen viral, parasitario o autoinmune (41). Las evidencias de que el FNT produce un daño directo al corazón (42) apoya la noción de que esta citocina juega un papel preponderante en la patogénesis de la insuficiencia cardíaca (21). Se desconoce si otras citocinas liberadas a partir de la elevación de FNT contribuyen a la cardiodepresión o si señales apoptóticas activadas por FNT participan en el proceso (30).

Uno de los puntos intrigantes en la fisiopatología de la miocardiopatía chagásica crónica, al ser comparada con miocardiopatías dilatadas de otras etiologías, es determinar el papel que juega el parásito en la instalación del remodelamiento del músculo cardíaco y en la evolución hacia una miocardiopatía dilatada con insuficiencia. La explicación más plausible es que la persistencia del parásito, aunque sea en bajas densidades, mantiene un proceso inflamatorio activo y crónico, que dependiendo de las características inmunogenéticas o de características inmunológicas inducidas por el medio ambiente interno o externo al huésped, predominará una respuesta celular con producción de determinada citocina; si predomina los linfocitos T productores de IL-10 el paciente se estabilizará en una etapa indeterminada y si predomina los linfocitos T productores de FNT el paciente evo-

lucionará hacia una forma cardíaca (24, 25). Sin embargo, a pesar de ser atractiva está hipótesis por sus implicaciones terapéuticas, el proceso inflamatorio podría ser mantenido por fenómenos autoinmunes (35).

En conclusión, nuestros datos permiten confirmar que los niveles séricos del FNT se encuentran elevados en los pacientes con Enfermedad de Chagas tanto asintomáticos como en los sintomáticos y que existe una correlación negativa entre los niveles de la citocina y la funcionalidad cardíaca expresada en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo. Está elevación no está restringida a los pacientes con cardiopatía chagásica, ya que, los pacientes con cardiopatías no chagásicas presentan también niveles elevados de esta citocina. Finalmente, sugerimos que factores normalmente no considerados en estudios similares, ni en este estudio, tales como parasitosis intestinal y/o hábitos alcohólicos sean considerados en futuras investigaciones.

#### AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue financiado por el Centro de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) proyecto N° 04-ME-2001 y por el Vicerrectorado Académico de la UCLA a través de las direcciones de Extensión, Postgrado y el CDCHT: proyecto "Una Visión Integral de la Enfermedad de Chagas".

#### REFERENCIAS

1. Moncayo A. Chagas' disease. En: World Health Organization. Tropical disease research, progress 1991-92. Geneva: WHO. 1993; 67-75.
2. Moncayo A. Chagas' disease: current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the southern cone countries. Mem Inst. Oswaldo Cruz. 2003; 98: 577-591.

3. OPS/OMS. <http://www.ops-oms.org/Ve/site/venezuela/ven-sit-salud-nuevo.htm>. 2002.
4. Fuenmayor AJ, Fuenmayor AM, Carrasco H, Parada H, Fuenmayor C y Jugo D. Results of electrophysiologic studies in patients with acute Chagasic myocarditis. *Clin Cardiol* 1997; 20: 1021-1024.
5. Parada H, Carrasco HA, Añez N, Fuenmayor C, Inglessis I. Cardiac involvement is a constant finding in acute Chagas' disease: a clinical, parasitological and histopathological study. *Int J Cardiol* 1997; 60:49-54.
6. Añez N, Carrasco H, Parada H, Crisante G, Rojas A, Gonzalez N, Ramirez JL, Guevara P, Rivero C, Borges R, Scorza JV. Acute Chagas' disease in western Venezuela: a clinical, seroparasitologic and epidemiologic study. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60:215-222.
7. De Oliveira Macedo V. Forma Indeterminada da Doença de Chagas. En Pinto Dias JC y Rodríguez Coura J. Eds. *Clínica y Terapéutica da Doença de Chagas*. Rio de Janeiro Editorial Fiocruz. 1997; p:135-151.
8. Brener Z, Gazzinelli R. Immunological control of *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas' disease. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 114: 103-110.
9. Rassi A, Tranchesi J, Tranchesi B. Doença de Chagas. En Veronesi A. Eds. *Doenças Infecciosas Parasitarias*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 1991; p. 674-705.
10. Costa G. Cardiopatía Crónica: Insuficiencia Cardíaca. En Pinto Dias, J.C. y Rodríguez Coura, J. Eds. *Clínica y Terapéutica da Doença de Chagas*. Rio de Janeiro, Editorial Fiocruz. 1997; p: 223-236.
11. Bestetti RB, Coutinho-Netto J, Staibano L, Pinto LZ, Muccillo G, Oliveira JS. Peripheral and coronary sinus catecholamine levels in patients with severe congestive heart failure due to Chagas' disease. *Cardiology* 1995; 86: 202-206.
12. Milei J, Stornino R, Jorg M, Chiale P, Schetjman D, Sterin-Borda L, Borda E, Denduchis B. Patogenia. En Stornino R y Milei J. Eds. *Enfermedad de Chagas*. Buenos Aires. Editorial Doyma Argentina S.A. 1994; p:103-128.
13. Gulick TS, Chung MK, Pieper SJ, Lange LG, Schreiner GF. Interleukin 1 and tumor necrosis factor inhibit cardiac myocyte beta adrenergic responsiveness. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 6753-6757.
14. Chung MK, Gulick TS, Rotondo RE, Schreiner GF, Lange LG. Mechanism of cytokine inhibition of  $\beta$ -adrenergic agonist stimulation of cyclic AMP in rat cardiac myocytes. Impairment of signal transduction. *Circ Res* 1990; 67:753-763.
15. Blum A, Miller H: Role of cytokines in heart failure. *Am Heart J* 1998; 135:181-186.
16. Dutra WO, Gollob KJ, Pinto-Días JC, Gazzinelli G, Correa-Oliveira R, Coffman RL, Carvalho-Parra JF. Cytokine mRNA profile of peripheral blood mononuclear cells isolated from individuals with *Trypanosoma cruzi* infection. *Scand J Immunol* 1997; 45:74-80.
17. Ward LS, Guariento ME, Fernandes GA, Maciel RM. Serum cytokines in chronic Chagas' disease. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999; 32:285-289.
18. Perez-Fuentes R, Guegan JF, Barnabe C, Lopez-Colombo A, Salgado-Rosas H, Torres-Rasgado E, Briones B, Romero-Diaz M, Ramos-Jimenez J, Sanchez-Guillén M del C. Severity of chronic Chagas disease is associated with cytokine/antioxidant imbalance in chronically infected individuals. *Int J Parasitol* 2003; 33:293-299.
19. Ferreira RC, Ianni BM, Abel LC, Buck P, Mady C, Kalil J, Cunha-Neto E. Increased plasma levels of tumor necrosis factor-alpha in asymptomatic/"indeterminate" and Chagas disease cardiomyopathy patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98:407-411.
20. Talvani A, Rocha MO, Barcelos LS, Gomes YM, Ribeiro AL, Teixeira MM. Elevated concentrations of CCL2 and tumor necrosis factor-alpha in chagasic cardiomyopathy. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 943-950.
21. Añez N, González N, Crisante G, Rojas A, Premoli G, Ramírez JL, Guevara P y Chiurillo MA. Curso Taller: Pruebas confirmatorias en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. XVIII Jornadas "José

- Witremundo Torrealba". 1999; San Carlos, Venezuela.
22. Carrasco HA, Parada H, Guerrero L, Duque M, Duran D, Molina C. Prognostic implications of clinical, electrocardiographic and hemodynamic findings in chronic Chagas' disease. *Int J Cardiol* 1994; 43:27-38.
  23. Reis DD, Jones EM, Tostes Jr S, Lopes ER, Gazzinelli G, Colley DG, McCurley TL. Characterization of inflammatory infiltrates in chronic chagasic myocardial lesions: presence of tumor necrosis factor- $\alpha$  cells and dominance of granzyme A+, CD8+ lymphocytes. *Am J Trop Med Hyg* 1993; 48: 637-644.
  24. Souza PE, Rocha MO, Rocha-Vieira E, Menezes CA, Chaves AC, Gollob KJ, Dutra WO. Monocytes from patients with indeterminate and cardiac forms of Chagas' disease display distinct phenotypic and functional characteristics associated with morbidity. *Infect Immun* 2004; 72:5283-5291.
  25. Menezes CA, Rocha MO, Souza PE, Chaves AC, Gollob KJ, Dutra WO. Phenotypic and functional characteristics of CD28+ and CD28- cells from chagasic patients: distinct repertoire and cytokine expression. *Clin Exp Immunol* 2004; 137:129-138.
  26. Cunha-Neto E, Rizzo LV, Albuquerque F, Abel L, Guilherme L, Bocchi E, Bacal F, Carrara D, Ianni B, Mady C, Kalil J. Cytokine production profile of heart-infiltrating T cells in Chagas' disease cardiomyopathy. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31:133-137.
  27. Sharma R, Al-Nasser FO, Anker SD. The importance of tumor necrosis factor and lipoproteins in the pathogenesis of chronic heart failure. *Heart Fail Monit* 2001; 2: 42-47.
  28. Derouich-Guergour D, Brenier-Pinchart MP, Ambroise-Thomas P, Pelloux H. Tumor necrosis factor alpha receptors: role in the physiopathology of protozoan parasite infections. *Int J Parasitol* 2001; 31: 763-769.
  29. Aggarwal BB, Natarajan K. Tumor necrosis factor: developments during the last decade. *Eur Cytokine Netw* 1996; 7: 93-124.
  30. Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science* 2002; 296:1634-1635.
  31. Laucella SA, Rottenberg ME, De Titto EH. Role of cytokines in resistance and pathology in *Trypanosoma cruzi* infection. *Rev Argent Microbiol* 1996; 28:99-109.
  32. Muller-Werdan U, Engelmann H, Werdan K. Cardiodepression by tumor necrosis factor-alpha. *Eur Cytokine Netw* 1998; 9:689-691.
  33. Mady C, Cardoso RH, Barretto AC, da LP, Bellotti G, Pileggi F. Survival and predictors of survival in patients with congestive heart failure due to Chagas cardiomyopathy. *Circulation* 1994; 90:3098-3102.
  34. Palacios-Pru E, Carrasco H, Scorza C, Espinoza R. Ultrastructural characteristics of different stages of human chagasic myocarditis. *Am J Trop Med Hyg* 1989; 41: 29-40.
  35. Andrade ZA. Immunopathology Chagas' disease. *Mem. Inst Oswaldo Cruz* 1999; 94: 71-80.
  36. Geiger SM, Massara CL, Bethony J, Soboslay PT, Carvalho OS, Correa-Oliveira R. Cellular responses and cytokine profiles in *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* infected patients. *Parasite Immunol* 2002; 24:499-509.
  37. Mendall MA, Patel P, Asante M, Ballam L, Morris J, Strachan DP, Camm AJ, Northfield TC. Relation of serum cytokine concentrations to cardiovascular risk factors and coronary heart disease. *Heart* 1997 Sep; 78(3):273-277.
  38. Barbosa Jr AA, Andrade ZA. Identificação do *Trypanosoma cruzi* nos tecidos extracardíacos de portadores de miocardite crônica chagásica. *Rev Soc Bras Med Trop* 1984; 17:123-126.
  39. Novoa-Montero, D. ¿Cardiopatía crónica endémica rural chagásica, o crónica común en chagásicos y no chagásicos? (Conclusiones de veinte años de investigaciones epidemiológicas y clínico-cardiológicas en

- Venezuela). Rev Soc Ven Microbiol 2002; 22:88-98.
40. Salones O, Santoya L, Sibulo C, Suárez S, Terán L, Jara A, Rodríguez-Bonfante C, Arrieche S. Estudio electrocardiográfico de individuos seropositivos y seronegativos para *Trypanosoma cruzi* de la comunidad de arenales, municipio Torres, estado Lara. Acta Cient Venez 2004; 55 (Sup.1): 145.
  41. Cihakova D, Sharma RB, Fairweather D, Afanasyeva M, Rose NR. Animal models for autoimmune myocarditis and autoimmune thyroiditis. Methods Mol Med 2004; 102:175-194.
  42. Feldman AM, Combes A, Wagner D, Kadakomi T, Kubota T, Li YY, McTiernan C. The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure. J Am Coll Cardiol 2000; 35:537-544.