

Andrés Mariano Ruiz, Ana María De Rissio, Adelina Riarte, Elsa Velazquez, Mónica Esteva, Octavio Fusco y Jorge Yanovsky.  
 Instituto Nacional de Parasitología "Dr. Mario Fatala Chaben" /ANLIS y Polychaco SAIC.

## INTRODUCCION

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas es una de las endemias más importantes de América Latina estimándose los infectados por el *T. cruzi* en el orden de 15.000.000 de individuos. Alrededor del 30% de la población infectada desarrolla una miocardiopatía con diferente evolución en ritmo, lesiones y signos clínicos que cuando provocan la muerte lo hacen mediando una arritmia aguda con muerte súbita o una insuficiencia cardiaca progresiva. La muerte súbita es el evento final más frecuente entre los parasitados, siendo su anticipación un desafío científico, ya que aún en los pacientes con enfermedad de Chagas con inexistencia de síntomas clínicos específicos o de escasa relevancia, mueren, dentro de los 10 años de haber sido detectados adultamente frecuencia, un 10% de ellos. Esto proyectado al universo de todos los infectados podría representar no menos de 100.000 mil muertes anuales entre adultos relativamente jóvenes (50 años de edad promedio) aparentemente "normales". Esto es el doble de lo estimado previamente. Se ha demostrado que parte de estos signos clínicos están asociados con la presencia de anticuerpos contra receptores neurotransmisores de tipo muscarínicos (Ac anti M<sub>2</sub>), cuya expresión se detectó en diferentes poblaciones de pacientes infectados en América Latina siendo la prevalencia entre 30-35%.

En razón de la elevada prevalencia de Ac anti M<sub>2</sub> que mostraban algunas evaluaciones preliminares en estos pacientes, determinamos con anterioridad la prevalencia en 438 pacientes adultos seroreactivos y 386 niños de 9 meses a 16 años, que concurrieron a nuestro instituto derivados de otros centros públicos y privados, obteniendo una prevalencia para estos anticuerpos de: 35.3% y 30.8% respectivamente (Tabla1). Analizando la distribución de la positividad de Ac anti M<sub>2</sub> en la población infantil estudiada, se detectó una prevalencia del 22.6% en 155 niños de 9 meses a 7 años y del 36.5% en 231 de 8 a 16 años. (Tabla2) (Fig 1).

Nos propusimos extender la detección de esa inmunoglobulina con actividad farmacológica en niños y adultos infectados por *T. cruzi* y observar las modificaciones que podrían surgir luego del tratamiento específico.

Tabla 1: Prevalencia de Anticuerpos anti M<sub>2</sub> en adultos y en niños

Población	Serología para <i>T. cruzi</i> react.	React. AC Anti M <sub>2</sub>	Prevalencia%
Niños de 9 meses a 7 años	155	35	22.6
Niños 8 a 16 años	231	84	36.5

Tabla 2: Prevalencia de Anticuerpos anti M<sub>2</sub> en niños por grupo etario

Población	Serología para <i>T. cruzi</i> react.	React. AC Anti M <sub>2</sub>	Prevalencia%
Adultos	438	155	35,3
Niños 9 meses a 16 años	386	119	30,8

## OBJETIVO

Demostrar, la presencia de los anticuerpos antimuscarínicos (Ac anti M<sub>2</sub>) en niños menores de 14 años y adultos con enfermedad de Chagas crónica, antes y después del tratamiento con benznidazol (BZN), utilizando un inmunoensayo enzimático contra receptores a neurotransmisores autonómicos para diagnóstico presuntivo del Síndrome de Disautonomía Periférica en la enfermedad de Chagas.

## MATERIALES Y METODOS

**Población:** Se analizaron 38 pacientes seroreactivos, entre 2 y 14 años de edad que recibieron benznidazol (5 mg/kg/d por 60 días) y 61 pacientes (25 placebo y 36 tratados) intervinientes en un ensayo clínico aleatorizado a doble ciego en fase 3 (TRAENA) tratados con BZN a la dosis de 5 mg/kg/d por 60 días. Este ensayo involucró un total de 764 personas con distinto grado de compromiso cardíaco y diez años de seguimiento (TRAENA). Las pruebas serológicas utilizadas fueron la inmunofluorescencia (IFI), la hemaglutinación indirecta (HAI) y el inmunoensayo enzimático (ELISA), empleando antígenos "in house" preparados y estandarizados en nuestro Instituto a partir de parásitos enteros y lisados de epimastigote de *T. cruzi*, cepa Tulahuen (IFI y ELISA) y lisados de parásitos de un pool de cepas de *T. cruzi* (HAI). La HAI y la IFI fueron realizadas con diluciones seriadas 1/2 de los sueros y se consideró reactivos cuando los títulos fueron igual o mayor a 1/32 en ambas pruebas. El ELISA fue llevado a cabo según Voller et al, utilizando una dilución 1/200 de las sueros incubados en microplacas precubiertas con un lisado de epimastigotes de *T. cruzi* (sobrenadante de 30000g), concentración 20 ug/ml. Los sueros con valores mayores a 0.200 de densidad óptica a 490nm fueron considerados reactivos. La sensibilidad varía desde 99.7% a 100% y la especificidad desde 97% a 97.9%

Para la detección de los anticuerpos antimuscarínicos se utilizó el reactivo CHAGACOR Laboratorios Lemos, ensayo inmunoenzimático heterogéneo no competitivo basado en el método indirecto para la detección de anticuerpos contra receptores a neurotransmisores autonómicos. La lectura se realiza a 450nm. Un ensayo se considera válido si la DO promedio de los controles negativos es menor a 0.400 y la DO del control positivo es mayor o igual que el cut-off.

## RESULTADOS

Los estudios de los 38 pacientes seroreactivos, entre 2 y 14 años de edad previos al tratamiento, mostraron que el 42.1% (16/38) tenían Ac anti M<sub>2</sub>, mientras que en el seguimiento entre 6 y 24 meses del pos-tratamiento se observó una disminución a 7.8% (3/38) Fig. 2

En relación a los adultos, los 61 pacientes intervinientes en el ensayo aleatorizado a doble ciego fase 3 TRAENA, 25 eran placebos y 36 tratados, previo al tratamiento 27/61 (44.3%) presentaron Ac anti M<sub>2</sub>, mientras que a los 60 días pos-tratamiento se encontraron 10/25 (40%) en la población placebo mientras que en la tratada con BZN se encontraron 6/36 (16.6%). A los 10 años pos-tratamiento los valores fueron 12/24 (50.0%) y 8/34 (23.5%) respectivamente para Placebo y BZN. Fig. 3

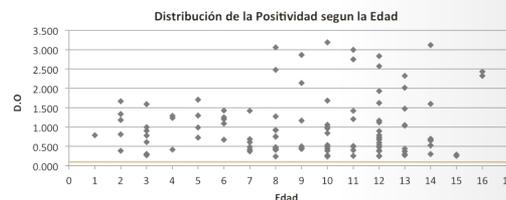


Figura 1: Anticuerpos anti M<sub>2</sub> en niños de 9 meses a 16 años, distribución según la edad.

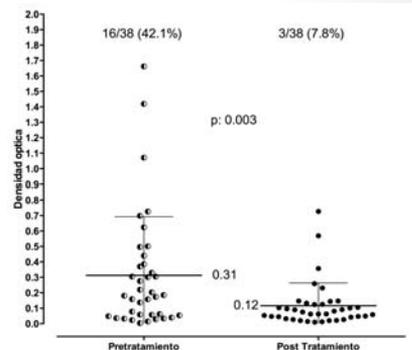


Figura 2: Anticuerpos anti M<sub>2</sub> en menores de 14 años tratados con benznidazol

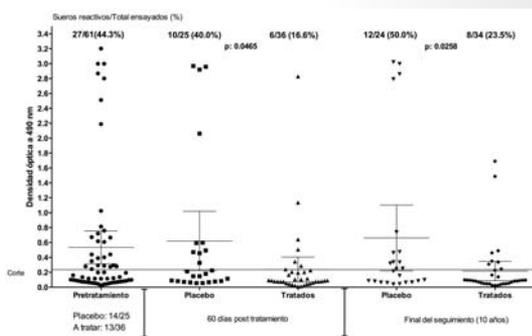


Figura 3: Anticuerpos anti M<sub>2</sub> en adultos crónicos bajo tratamiento con benznidazol (TRAENA)

## CONCLUSION

Los Ac anti M<sub>2</sub> están presentes con una frecuencia que es común en los diferentes grupos estudiados y con independencia de las formas clínicas que dividen a los infectados como indeterminados o cardíacas. Más aún la aparición de estos anticuerpos en el curso de la infección es muy temprana como lo demuestra la elevada prevalencia en niños, similar a la de los adultos. Estos resultados reafirman lo publicado por otros autores, quienes detectaban la presencia de Ac anti M<sub>2</sub> antes que cualquier señal de disfunción cardíaca.

La demostración temprana de anticuerpos antimuscarínicos en niños infectados los que negativizan con el tratamiento con benznidazol, alienta a suponer que el diagnóstico precoz de la infección y el tratamiento parasiticida podrían abortar la instalación de lesiones viscerales principalmente cardíacas. Los resultados observados en jóvenes y adultos sugieren que la disminución de Ac anti M<sub>2</sub> está asociada a la eficacia del tratamiento como también a la acción del BZN sobre la actividad de los anticuerpos sobre los receptores neurotransmisores.