

Artículo original

# Función endotelial y concentración de proteína C reactiva de alta sensibilidad en pacientes con enfermedad de Chagas que viven en áreas no endémicas

Ana García-Álvarez<sup>a,b</sup>, Marta Sitges<sup>a</sup>, Magda Heras<sup>a</sup>, Silvia Poyatos<sup>a</sup>, Elisabeth Posada<sup>c</sup>, Maria Jesus Pinazo<sup>c</sup>, Ander Regueiro<sup>a</sup>, Joaquim Gascon<sup>c</sup> y Ginés Sanz<sup>b,\*</sup>

<sup>a</sup>Instituto Clínico del Tórax, Hospital Clínic, IDIBAPS-Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Universidad de Barcelona, Barcelona, España

<sup>b</sup>Fundación Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

<sup>c</sup>Centro de Investigación en Salud Internacional de Barcelona (CRESIB), Hospital Clínic, Universidad de Barcelona, Barcelona, España

Historia del artículo:

Recibido el 8 de marzo de 2011

Aceptado el 14 de mayo de 2011

On-line el 28 de julio de 2011

Palabras clave:

Enfermedad de Chagas

Función endotelial

Ecografía

Proteína C reactiva

Óxido nítrico

RESUMEN

**Introducción y objetivos:** El número de pacientes con enfermedad de Chagas ha aumentado de manera significativa en España. La inflamación crónica y la disfunción endotelial han sido consideradas mecanismos fisiopatológicos de la cardiopatía chagásica. Sin embargo, en los estudios clínicos se han obtenido datos contradictorios. Nuestro objetivo fue evaluar la función endotelial y las concentraciones sistémicas de óxido nítrico y proteína C reactiva de alta sensibilidad en pacientes con la forma indeterminada de la enfermedad y con miocardiopatía chagásica crónica que vivían en un área no endémica.

**Métodos:** Se determinó la vasodilatación mediada por flujo, dependiente del endotelio, y la vasodilatación mediada por nitroglicerina mediante ecografía de alta resolución de la arteria humeral en 98 individuos (32 con la forma indeterminada de la enfermedad, 22 con miocardiopatía chagásica crónica y 44 controles). Se efectuaron determinaciones de las concentraciones de óxido nítrico y proteína C reactiva de alta sensibilidad en sangre venosa periférica.

**Resultados:** La media de edad fue  $37,6 \pm 10,2$  años; el 60% eran mujeres. La vasodilatación mediada por nitroglicerina estaba significativamente reducida en la miocardiopatía chagásica crónica en comparación con los controles (mediana, 16,8 frente a 22,5%;  $p = 0,03$ ). No se observaron diferencias significativas en la vasodilatación mediada por flujo ni en los valores de óxido nítrico, aunque se vió una tendencia a una menor vasodilatación mediada por flujo tras la corrección según el diámetro basal de la arteria humeral en la miocardiopatía chagásica crónica. Las cifras de proteína C reactiva fueron significativamente mayores en los pacientes con la forma indeterminada de la enfermedad y con miocardiopatía chagásica que en los controles ( $p < 0,05$ ).

**Conclusiones:** Se observó una reducción de la vasodilatación mediada por nitroglicerina que sugiere una disfunción de las células de músculo liso vascular en pacientes con miocardiopatía chagásica crónica residentes en un área no endémica. Se observaron cifras superiores de proteína C reactiva en la forma indeterminada de la enfermedad y en las fases iniciales de la miocardiopatía chagásica crónica, lo que podría estar relacionado con la respuesta inflamatoria a la infección o la afección cardiovascular temprana.

© 2011 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Endothelial Function and High-Sensitivity C-reactive Protein Levels in Patients With Chagas Disease Living in a Nonendemic Area

ABSTRACT

**Introduction and objectives:** The number of patients with Chagas disease in Spain has increased significantly. Chronic inflammation and endothelial dysfunction have been considered among the pathophysiological mechanisms of Chagas heart disease. However, there have been conflicting data from clinical studies. Our purpose was to assess endothelial function and systemic levels of nitric oxide and high-sensitivity C-reactive protein in patients with the indeterminate form and with chronic Chagas cardiomyopathy living in a nonendemic area.

**Methods:** Flow-mediated endothelium-dependent vasodilatation and nitroglycerin-mediated vasodilatation were assessed with high-resolution ultrasound of the brachial artery in 98 subjects (32 with the indeterminate form, 22 with chronic Chagas cardiomyopathy and 44 controls). Nitric oxide and high-sensitivity C-reactive protein levels were measured in peripheral venous blood.

**Results:** Mean age was  $37.6 \pm 10.2$  years and 60% were female. Nitroglycerin-mediated vasodilatation was significantly reduced in chronic Chagas cardiomyopathy compared to controls (median 16.8% vs 22.5%;  $P = .03$ ). No significant differences were observed in flow-mediated vasodilatation and nitric oxide levels, although a trend towards lower flow-mediated vasodilatation after correction by baseline brachial artery

Keywords:

Chagas disease

Endothelial function

Ultrasounds

C-reactive protein

Nitric oxide

\* Autor para correspondencia: Fundación Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III, Melchor Fernández Almagro 3, 28029 Madrid, España.

Correo electrónico: gsanz@cnic.es (G. Sanz).

diameter was observed in chronic Chagas cardiomyopathy. Levels of C-reactive protein were significantly higher in patients with the indeterminate form and with Chagas cardiomyopathy compared with controls ( $P < .05$ ).

**Conclusions:** Reduced nitroglycerin-mediated vasodilatation suggesting dysfunction of vascular smooth muscle cells was found in patients with chronic Chagas cardiomyopathy living in a nonendemic area. Higher C-reactive protein levels were observed in the indeterminate form and early stages of chronic Chagas cardiomyopathy, which could be related to the inflammatory response to the infection or early cardiovascular involvement.

Full English text available from: [www.revespcardiol.org](http://www.revespcardiol.org)

© 2011 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Abreviaturas

DMF: vasodilatación mediada por flujo dependiente del endotelio  
 DMN: vasodilatación mediada por nitroglicerina  
 MCC: miocardiopatía chagásica crónica  
 PCR: proteína C reactiva  
 VI: ventrículo izquierdo

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas continúa siendo una causa frecuente de miocardiopatía dilatada en Latinoamérica. Además, como consecuencia de la migración, esta enfermedad ha pasado a ser un problema de salud pública en zonas en las que no es endémica, como España, donde estudios recientes estiman una prevalencia de entre 48.000 y 68.000 personas infectadas por *Trypanosoma cruzi*<sup>1</sup>. La fisiopatología de la miocardiopatía chagásica crónica (MCC) continúa sin conocerse bien. La inflamación crónica y la disfunción endotelial se han considerado mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad, y los datos experimentales lo respaldan<sup>2</sup>. Sin embargo, los estudios clínicos sobre la función endotelial y la concentración sistémica de óxido nítrico (NO)<sup>3-7</sup> en la enfermedad de Chagas han producido resultados contradictorios. La mayoría de los estudios en los que se ha determinado la proteína C reactiva (PCR) han mostrado un aumento de la concentración en los niños durante la fase aguda de la enfermedad<sup>8</sup> y en los pacientes en estadios muy graves de la MCC, pero no así en la forma indeterminada ni en las fases iniciales de la MCC<sup>9,10</sup>. Además, no hay datos sobre la función endotelial o las cifras de PCR de alta sensibilidad (PCRas) en los pacientes con enfermedad de Chagas residentes en áreas no endémicas y, por lo tanto, sin reinfección. Nuestro objetivo es determinar la función endotelial y los valores sistémicos de NO y PCRas en una cohorte de pacientes afectados con la forma indeterminada de la MCC y residentes en un área no endémica.

## MÉTODOS

### Población en estudio

Se llevó a cabo un estudio transversal en una cohorte de individuos adultos consecutivos evaluados en nuestro centro entre enero de 2008 y junio de 2009. El diagnóstico de la enfermedad de Chagas se basó en la confirmación microbiológica, según lo descrito con anterioridad<sup>11</sup>. Se incluyó como controles a individuos de áreas endémicas con serología negativa para *T. cruzi*. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: cardiopatía de otra etiología, hipertensión, diabetes mellitus, enfermedades sistémicas o inmunitarias, otras infecciones activas o tratamiento antiparasitario

previo. El protocolo de la investigación fue aprobado por el comité ético de nuestro centro y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los participantes.

En función de las entrevistas médicas estructuradas, la exploración física, el electrocardiograma de 12 derivaciones y la ecocardiografía bidimensional convencional, se clasificó a los participantes en 3 grupos: grupo control (sujetos con serología de enfermedad de Chagas negativa); grupo indeterminado (sujetos con serología de enfermedad de Chagas positiva, electrocardiograma normal y valores normales de las dimensiones del ventrículo izquierdo [VI] y la función sistólica del VI total y regional), y grupo de MCC (pacientes con serología de *T. cruzi* positiva y alguna de las anomalías electrocardiográficas características de la enfermedad de Chagas<sup>11</sup> o alguna anomalía de motilidad de la pared regional, un diámetro telediastólico del VI > 55 mm o una fracción de eyección del VI [FEVI] < 50%). Las dimensiones del VI se determinaron según las recomendaciones de la *American Society of Echocardiography*<sup>12</sup> y la FEVI se calculó con el método biplanar de Simpson modificado.

### Evaluación de la función endotelial

La función endotelial se estudió mediante ecografía de alta resolución de la arteria humeral, aplicando una técnica anteriormente descrita<sup>13,14</sup>. De forma resumida, se examinó un corte longitudinal de la arteria humeral derecha por encima de la fosa antecubital, utilizando un transductor vascular acoplado a un sistema de apoyo mecánico, con objeto de obtener una imagen constante durante todo el estudio. Se registraron imágenes basales en reposo. Se determinó la vasodilatación mediada por flujo dependiente del endotelio (DMF) mediante el cambio de diámetro de la arteria humeral en respuesta al aumento del flujo (hiperemia reactiva) que se alcanzaba con la liberación rápida del manguito neumático colocado en el antebrazo e hinchado a 300 mmHg durante 4,5 min. Los pacientes permanecieron en reposo durante 10-15 min, para permitir la recuperación de la arteria humeral y, a continuación, se determinó la vasodilatación mediada por nitroglicerina (DMN) independiente del endotelio, 5 min después de la administración de una dosis sublingual de nitroglicerina (0,4 mg). Un evaluador experimentado analizó todas las imágenes utilizando un diseño ciego. El diámetro arterial se determinó a partir de las imágenes de ecografía bidimensional en el pico de la onda R del electrocardiograma utilizando un programa informático específico para ello. La DMF y la DMN se expresaron como porcentaje de cambio del diámetro de la arteria humeral respecto a la situación basal. Además, los porcentajes se corrigieron en función del diámetro basal de la arteria humeral, puesto que ello influye en la DMF.

### Determinaciones bioquímicas

Las determinaciones de NO y PCRas se realizaron en sangre venosa periférica y se cuantificaron con kits comerciales. Las

concentraciones séricas de NO se determinaron con un detector de quimioluminiscencia (Sievers Instruments, Inc.; Boulder, Colorado, Estados Unidos). La concentración plasmática de PCRas se determinó con un método inmunoturbidimétrico comercial (ADVIA 2400 Chemistry CardioPhase™, Siemens Healthcare Diagnostics Inc.; Tarrytown, Nueva York, Estados Unidos).

### Análisis estadístico

La estimación del tamaño muestral se basó en los datos previos de nuestro grupo<sup>13</sup>. El tamaño muestral necesario para detectar una diferencia del 2,5% en la DMF entre los pacientes con enfermedad de Chagas y los controles, con un nivel de significación de 0,05 y una potencia estadística de 0,80 y suponiendo una desviación estándar general del 3%, era de 23 pacientes en cada grupo, es decir, de un total de 69 pacientes. Las variables basales continuas se expresaron en forma de mediana [intervalo intercuartílico] y las variables categóricas, mediante el número total (porcentajes). Las comparaciones de las variables continuas se realizaron con la prueba de Wilcoxon. Las correlaciones se evaluaron con el coeficiente de Pearson. Se utilizó la prueba de  $\chi^2$  o la prueba de Fisher para las variables categóricas, según fuera apropiado. Se calcularon las medias ajustadas marginalmente para los parámetros de la función endotelial según la edad utilizando modelos de regresión multivariable. Los valores de  $p < 0,05$  se consideraron estadísticamente significativos.

## RESULTADOS

Se incluyó en el estudio a 98 pacientes consecutivos: 44 en el grupo control, 32 en el grupo indeterminado y 22 en el grupo de MCC. La clasificación de la MCC se basó en datos electrocardiográficos característicos aislados en 14 pacientes, en anomalías segmentarias de la motilidad en 1 paciente y en la FEVI  $< 50\%$  en 7 pacientes. Las características basales se presentan en la **tabla 1**. Los sujetos de control eran más jóvenes que los pacientes con enfermedad de Chagas. Los pacientes con MCC tenían volúmenes del VI mayores y una FEVI inferior a la de los controles.

### Función endotelial y concentración sérica de óxido nítrico

La DMN estaba significativamente reducida en el grupo de MCC en comparación con los controles (**tabla 2**). Tras introducir un ajuste respecto a la edad ( $21,9 \pm 9,1$  frente a  $17,5 \pm 6,3$ ;  $p = 0,026$ ) o una corrección respecto al diámetro basal de la arteria humeral (**fig. 1**), la diferencia continuaba siendo estadísticamente significativa. Los pacientes del grupo indeterminado presentaron una alta variabilidad de la DMN, con valores intermedios entre los de los grupos de control y de MCC. No se observaron diferencias estadísticas de la DMF y la concentración sistémica de NO entre los grupos (**fig. 2**), aunque hubo tendencia a una DMF inferior tras la corrección según el diámetro basal de la arteria humeral en los pacientes con MCC en comparación con los controles (**fig. 1**).

Los valores de NO fueron mayores en los pacientes con el cuartil más bajo de DMF (primer cuartil, incluida la respuesta

**Tabla 1**  
Características clínicas y datos ecocardiográficos convencionales de la población en estudio

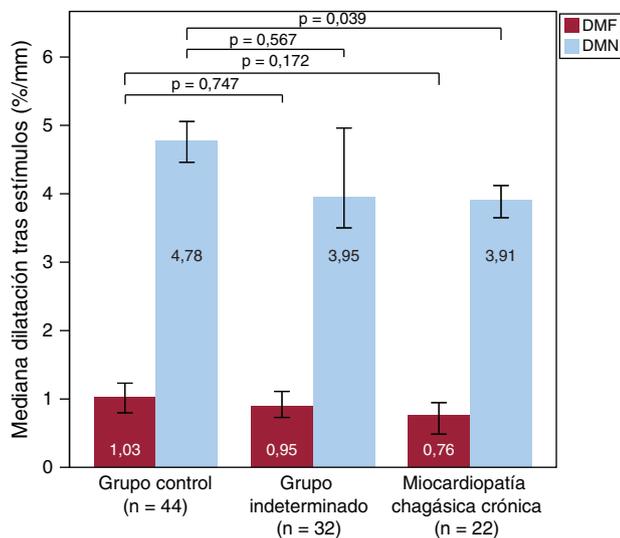
	Controles (n = 44)	Indeterminado (n = 32)	MCC (n = 22)	P <sub>1-2</sub>	P <sub>1-3</sub>
Edad (años)	34 [11,5]	36,8 [14,6]	42,7 [13]	0,034	0,002
Mujeres	26 (59)	21 (66)	12 (55)	0,663	0,725
Frecuencia cardíaca (lpm)	60 [8,8]	65 [10]	60 [15]	0,204	0,602
PA sistólica (mmHg)	110 [15]	114 [24,2]	115 [20,5]	0,09	0,08
PA diastólica (mmHg)	70 [14,8]	70 [18]	70 [20,8]	0,266	0,217
Fumadores	6 (14)	2 (6,3)	3 (13,6)	0,3	1
Hipercolesterolemia	2 (4,7)	2 (6,3)	3 (13,6)	1	1,198
CF II de la NYHA	0	0	5 (22,7)	NA	0,003
VTDVI (ml/m <sup>2</sup> )	59,5 [13,2]	56,2 [14,3]	73,4 [24,3]	0,066	< 0,001
VTSVI (ml/m <sup>2</sup> )	23,6 [7,4]	21,7 [6,6]	30,9 [23,9]	0,137	< 0,001
FEVI (%)	64,5 [5]	65 [4,8]	57,5 [22,3]	0,362	0,005

CF: clase funcional; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; MCC: miocardiopatía chagásica crónica; NA: no aplicable; NYHA: *New York Heart Association*; p<sub>1-2</sub>: comparación del grupo indeterminado con el grupo control; p<sub>1-3</sub>: comparación del grupo de MCC con el grupo control; PA: presión arterial; VTDVI: volumen telediastólico ventricular izquierdo indexado respecto a la superficie corporal; VTSVI: volumen telesistólico ventricular izquierdo indexado respecto a la superficie corporal. Las variables continuas se expresan en forma de mediana [intervalo intercuartílico]; las variables categóricas, mediante n (%).

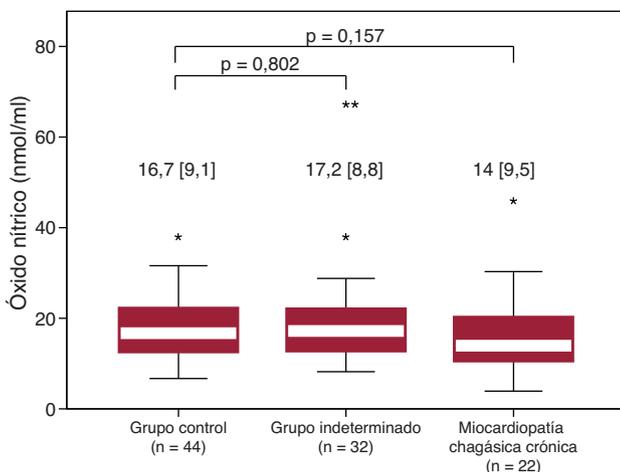
**Tabla 2**  
Función endotelial evaluada con la ecografía de la arteria humeral según el grupo

	Controles [n = 44]	Indeterminado [n = 32]	MCC [n = 22]	P <sub>1-2</sub>	P <sub>1-3</sub>
Diámetro basal de la arteria (mm)	3,5 [0,9]	3,6 [0,9]	4 [1,1]	0,663	0,135
Hiperemia reactiva	6,6 [2,2]	6,4 [3,2]	6,1 [2,4]	0,863	0,369
DMF (%)	4 [4,8]	3,4 [3,2]	3,5 [4,1]	0,897	0,262
DMF normalizada (%/mm)	1,03 [1,66]	0,95 [1,2]	0,76 [1,08]	0,747	0,172
DMN (%)	22,3 [8,6]	17,8 [11,3]	16,8 [8,9]	0,291	0,032
DMN normalizada (%/mm)	4,78 [2,7]	3,95 [3,75]	3,91 [1,86]	0,567	0,039

DMF: vasodilatación mediada por flujo dependiente del endotelio; DMN: vasodilatación mediada por nitroglicerina; MCC: miocardiopatía chagásica crónica; p<sub>1-2</sub>: comparación del grupo indeterminado con el grupo control; p<sub>1-3</sub>: comparación del grupo de MCC con el grupo control. Las variables se expresan en forma de mediana [intervalo intercuartílico].



**Figura 1.** Vasodilatación mediada por flujo dependiente del endotelio y vasodilatación mediada por nitroglicerina en los distintos grupos. La dilatación tras los estímulos se expresa como porcentaje del cambio de diámetro de la arteria humeral, con una corrección según el diámetro arterial basal. Las columnas indican la mediana y el intervalo intercuartílico. DMF: vasodilatación mediada por flujo dependiente del endotelio; DMN: vasodilatación mediada por nitroglicerina.

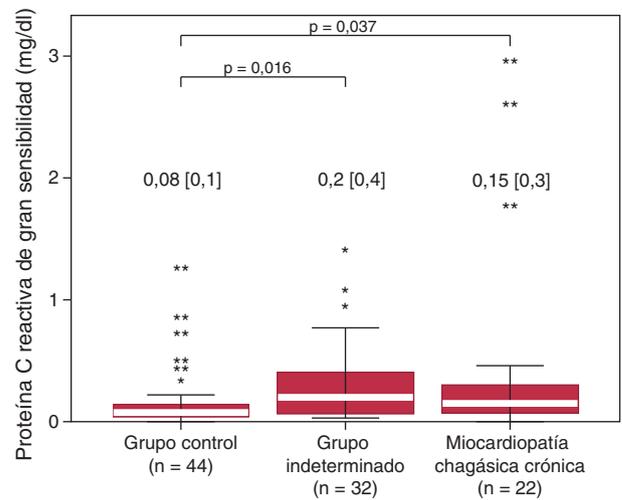


**Figura 2.** Concentraciones sistémicas de óxido nítrico en los diversos grupos. Los valores se expresan en forma de mediana e intervalo intercuartílico. \*Valor extremo menor (observación  $1,5 \times$  intervalo intercuartílico fuera del recuadro central). \*\*Valor extremo mayor (observación  $3 \times$  intervalo intercuartílico fuera del recuadro central).

vasoconstrictora a la dilatación mínima) en comparación con los pacientes con la DMF más alta (cuarto cuartil) (mediana, 18,3 frente a 12,7 nmol/ml;  $p = 0,026$ ). No se observó asociación alguna entre las cifras de NO y la DMN.

### Concentración sérica de proteína C reactiva de alta sensibilidad

Los valores sistémicos de PCRas fueron mayores en los pacientes con la forma indeterminada en comparación con los controles (mediana, 0,2 frente a 0,08 mg/dl;  $p = 0,016$ ) y en los pacientes con MCC en comparación con los controles (mediana, 0,15 frente a 0,08;  $p = 0,037$ ). La distribución de las concentraciones de PCRas en cada



**Figura 3.** Concentraciones plasmáticas de proteína C reactiva de alta sensibilidad en los distintos grupos. Los valores se expresan en forma de mediana e intervalo intercuartílico. \*Valores extremos menores. \*\*Valores extremos mayores.

grupo se muestra en la figura 3. La PCRas sérica mostraba una correlación inversa con la FEVI ( $r = -0,34$ ;  $p = 0,001$ ) y una correlación positiva con el tiempo de desaceleración de la onda E mitral ( $r = 0,22$ ;  $p = 0,036$ ), los leucocitos totales ( $r = 0,51$ ;  $p < 0,001$ ) y la interleucina 6 ( $r = 0,3$ ;  $p = 0,08$ ). No se observó asociación alguna entre los valores de PCRas y la DMF o la DMN.

### DISCUSIÓN

La DMN se redujo en los pacientes con MCC en comparación con los controles. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en cuanto a la DMF y la concentración sistémica de NO, aunque hubo tendencia a una DMF inferior en el grupo de MCC tras la corrección según el diámetro basal de la arteria humeral. Los valores séricos de PCRas fueron significativamente superiores en los grupos indeterminado y de MCC en comparación con los controles.

La actividad de la nitroglicerina depende de su conversión a NO en el interior de las células de músculo liso, lo cual produce una activación de la guanilato ciclasa, acumulación de guanosina monofosfato cíclico y posterior vasodilatación. Así pues, nuestros resultados indican que los cambios estructurales o funcionales del músculo liso vascular, como los que se producen en las células de músculo liso gastrointestinales en la forma digestiva, pueden darse en la MCC. Estos resultados concuerdan con los de estudios experimentales recientes. Un análisis de microchips de expresión génica en células de músculo liso de arteria coronaria humana con infección por *T. cruzi*<sup>15</sup> ha puesto de manifiesto una regulación positiva de la expresión de trombospondina 1, que antagoniza la vía de NO-guanilato ciclasa y, por lo tanto, regula negativamente el tono vascular. En otros estudios experimentales, la infección por *T. cruzi* de células de músculo liso produjo una activación sostenida de las cinasas 1 y 2 reguladas por señales extracelulares<sup>16</sup> y de otras enzimas involucradas en la lesión vascular y la proliferación de células musculares<sup>17</sup>. Si hubiera cambios funcionales en las células de músculo vascular, la observación de diferencias significativas en la DMN y no en la DMF podría estar relacionada con la magnitud muy inferior de la DMF, que hace que disminuya la potencia estadística. Otra posibilidad es que, dado que la hiperemia reactiva activa dos vías (NO-guanilato ciclasa y prostaciclina), un aumento compensatorio de la vía de la prostaciclina podría ocultar

las diferencias en la DMF<sup>18</sup>. De hecho, se ha observado un aumento de la concentración de metabolitos de ciclooxigenasa en la infección experimental por *T. cruzi*<sup>19</sup>. Por otro lado, aunque la NO sintasa inducible puede estar aumentada en la enfermedad de Chagas, sobre todo en la infección aguda, esta enzima no parece intervenir directamente en la DMF<sup>20</sup>. La ausencia de diferencias estadísticamente significativas en la DMN entre el grupo indeterminado y el grupo control podría explicarse en parte por la alta variabilidad de los valores de DMN en el grupo indeterminado. Esta observación era predecible, puesto que se esperaba que el grupo indeterminado fuera más heterogéneo y que pudiera incluir a pacientes con serología positiva pero sin afección cardiovascular (teóricamente con una DMN normal) y a pacientes con una lesión cardiovascular incipiente (teóricamente con una DMN situada entre los valores normales y los del grupo de MCC).

Se ha evaluado la función endotelial en la enfermedad de Chagas, con resultados contradictorios en estudios previos, todos los cuales tuvieron un tamaño muestral inferior al del nuestro. Guzmán et al<sup>4</sup> observaron una disfunción tanto de la dilatación dependiente del endotelio como de la DMN en 22 pacientes seropositivos asintomáticos. En cambio, Torres et al. observaron una reducción de la vasodilatación tras la infusión de acetilcolina, pero con una preservación de la respuesta con adenosina en 9 pacientes con MCC, y Consolim-Colombo et al<sup>3</sup> compararon a 9 pacientes con MCC con 10 sujetos sanos, y no observaron diferencias tras la infusión de acetilcolina o nitroprusiato. Las diferentes metodologías utilizadas para valorar la función endotelial y la potencia estadística insuficiente en algunos casos podrían explicar en parte las discrepancias de los estudios previos. También hay controversia respecto a los valores sistémicos de NO en la enfermedad de Chagas. Pissetti et al<sup>6</sup> observaron cifras de NO inferiores en los pacientes con enfermedad de Chagas en comparación con los controles, mientras que Pérez-Fuentes et al<sup>5</sup> observaron que estaban significativamente aumentados. Está bien documentado que la infección por *T. cruzi* desencadena una producción sustancial de NO en la fase aguda<sup>21</sup>. Sin embargo, en un modelo experimental en perros a los que se inculó el parásito, se observó que los valores séricos de NO eran más altos a los 14 y 28 días, pero no a los 35 días<sup>22</sup>. Las características distintivas de nuestra población, en especial en cuanto a la ausencia de reinfecciones y la inclusión de pacientes con MCC en fases tempranas de la enfermedad (definidas principalmente por los signos electrocardiográficos) podrían explicar la ausencia de diferencias en las cifras de NO en nuestro estudio.

Se han observado valores séricos de PCR significativamente más altos en los niños en la fase aguda de la enfermedad y en los estadios avanzados de la MCC. Aunque no hubo diferencias significativas en las fases iniciales, se ha descrito de manera uniforme una tendencia al aumento progresivo de la PCR y otros marcadores inflamatorios según la gravedad de la cardiopatía de Chagas<sup>9,10</sup>. En nuestro estudio, con el empleo de una determinación de PCRas, los valores observados en el grupo indeterminado y en el grupo de MCC fueron superiores a los de los controles. Tal como se muestra en la figura 3, la distribución de la PCR en todos los grupos mostraba una asimetría con una desviación positiva, sobre todo en el grupo indeterminado y en el grupo de MCC. Saravia et al<sup>23</sup> observaron una distribución similar con el empleo de PCRas. Es de destacar que, en la forma indeterminada, los valores extremos podían tener más interés que los de la mediana, puesto que sólo un tercio de los pacientes tenían manifestaciones cardíacas. La PCR, un marcador inespecífico de la inflamación que aumenta en presencia de infecciones y enfermedades cardiovasculares, se ha asociado a un aumento del riesgo de eventos cardiovasculares. Además, la PCR puede desempeñar un papel directo en el fomento de la inflamación vascular, la lesión vascular y los eventos clínicos de enfermedad cardiovascular, aunque esto sigue siendo objeto de controversia<sup>24,25</sup>. En la enfermedad de

Chagas, no se ha determinado aún si las cifras de PCR elevadas están relacionadas con la respuesta inflamatoria a la infección, la afección cardiovascular inicial o ambas cosas. En nuestro estudio, la PCR mostró una correlación leve con la FEVI y con el tiempo de desaceleración de la onda E mitral, así como una correlación moderada con el recuento leucocitario total y con los niveles de interleucina 6<sup>11</sup>. Serán necesarios estudios longitudinales para determinar si los valores de PCR superiores en las fases indeterminada y temprana de la MCC se asocian a la progresión de la lesión cardiovascular.

Nuestros resultados pueden tener implicaciones clínicas. Aunque aproximadamente un tercio de los pacientes con infección por *T. cruzi* contraen una MCC, en la actualidad no es posible identificarlos. Además, no hay ningún marcador temprano de la curación o la progresión de la enfermedad tras el tratamiento antiparasitario. Nuestros resultados indican que la determinación de la DMN y los valores de PCR podrían ser útiles para la detección precoz de la afección cardiovascular en los pacientes con la forma indeterminada de la enfermedad de Chagas, para los que la medicación antiparasitaria y contra la insuficiencia cardíaca podría aportar un efecto beneficioso superior y en los que debe considerarse un seguimiento más estrecho. Además, la determinación de la DMN y la PCR podría ser útil para el seguimiento de la respuesta a los tratamientos farmacológicos. Serán necesarios estudios longitudinales más amplios para evaluar la utilidad clínica de estos resultados.

Es preciso reconocer algunas limitaciones del estudio. Con el empleo de la ecografía de la arteria humeral, podemos medir indirectamente la función del músculo liso vascular, pero no podemos diferenciar la lesión estructural (es decir, la fibrosis) de la funcional. Además, no se midió ningún metabolito derivado de la vía de la prostaciclina. El diseño transversal del presente estudio no permite hacer inferencias respecto a la causalidad. Aunque se evitaron posibles factores de confusión importante con los criterios de exclusión utilizados, podría haber factores de confusión no evaluados.

## CONCLUSIONES

Se observó una reducción de la DMN que sugiere una disfunción de las células de músculo liso vascular en pacientes con una fase inicial de la MCC residentes en un área no endémica. Los pacientes que se encontraban en las fases iniciales de la forma indeterminada de la MCC presentaban valores de PCRas más elevados. Esta observación podría estar relacionada con la respuesta inflamatoria a la infección o con la afección cardiovascular inicial.

## FINANCIACIÓN

El estudio fue financiado por subvenciones del Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España (PI 070773) y la Red HERACLES (RD06/0009/0008).

## CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Gascon J, Bern C, Pinazo MJ. Chagas disease in Spain, the United States and other non-endemic countries. *Acta Trop*. 2010;115:22-7.
2. Rossi MA, Tanowitz HB, Malvestio LM, Celes MR, Campos EC, Blefari V, et al. Coronary microvascular disease in chronic Chagas cardiomyopathy including

- an overview on history, pathology, and other proposed pathogenic mechanisms. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4:e674.
3. Consolim-Colombo FM, Lopes HF, Rosetto EA, Rubira MC, Barreto-Filho JA, Baruzzi AC, et al. Endothelial function is preserved in Chagas' heart disease patients without heart failure. *Endothelium*. 2004;11:241-6.
  4. Guzmán JC, León H, Casas JP, García RG, Silva FA, Bermudez JJ, et al. Autonomic and vascular dysfunction in the undetermined form of Chagas disease. *Rev Colomb Cardiol*. 2004;11:105-13.
  5. Pérez-Fuentes R, López-Colombo A, Ordóñez-Toquero G, Gomez-Albino I, Ramos J, Torres-Rasgado E, et al. Correlation of the serum concentrations of tumour necrosis factor and nitric oxide with disease severity in chronic Chagas disease (American trypanosomiasis). *Ann Trop Med Parasitol*. 2007;101:123-32.
  6. Pissetti CW, Correia D, Braga T, Faria GE, Oliveira RF, Ribeiro BM, et al. [Association between the plasma levels of TNF-alpha, IFN-gamma, IL-10, nitric oxide and specific IgG isotypes in the clinical forms of chronic Chagas disease]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42:425-30.
  7. Torres FW, Acquatella H, Condado JA, Dinsmore R, Palacios IF. Coronary vascular reactivity is abnormal in patients with Chagas' heart disease. *Am Heart J*. 1995;129:995-1001.
  8. Medrano NM, Luz MR, Cabello PH, Tapia GT, Van Leuven F, Araújo-Jorge TC. Acute Chagas' disease: plasma levels of alpha-2-macroglobulin and C-reactive protein in children under 13 years in a high endemic area of Bolivia. *J Trop Pediatr*. 1996;42:68-74.
  9. Aparecida da Silva C, Fattori A, Sousa AL, Mazon SB, Monte Alegre S, Almeida EA, et al. Determinación de la concentración plasmática de proteína C reactiva en pacientes con diferentes formas clínicas de la enfermedad de Chagas. *Rev Esp Cardiol*. 2010;63:1096-9.
  10. López L, Arai K, Giménez E, Jiménez M, Pascuzo C, Rodríguez-Bonfante C, et al. Las concentraciones séricas de interleucina 6 y proteína C reactiva se incrementan a medida que la enfermedad de Chagas evoluciona hacia el deterioro de la función cardiaca. *Rev Esp Cardiol*. 2006;59:50-6.
  11. García-Álvarez A, Sitges M, Pinazo MJ, Regueiro-Cueva A, Posada E, Poyatos S, et al. Chagas cardiomyopathy: the potential of diastolic dysfunction and brain natriuretic peptide in the early identification of cardiac damage. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4:e826.
  12. Schiller NB, Shah PM, Crawford M, DeMaria A, Devereux R, Feigenbaum H, et al. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr*. 1989;2:358-67.
  13. Sitges M, Roig E, Morales M, Azqueta M, Pérez Villa F, Pare C, et al. La disfunción endotelial periférica en la miocardiopatía dilatada idiopática se asocia con mayor disfunción ventricular y concentraciones plasmáticas elevadas de factor de necrosis tumoral. *Rev Esp Cardiol*. 2005;58:477-83.
  14. Sitges M, Heras M, Roig E, Duran M, Masotti M, Zurbano MJ, et al. Acute and mid-term combined hormone replacement therapy improves endothelial function in post-menopausal women with angina and angiographically normal coronary arteries. *Eur Heart J*. 2001;22:2116-24.
  15. Nde PN, Johnson CA, Pratap S, Cardenas TC, Kleshchenko YY, Furtak VA, et al. Gene network analysis during early infection of human coronary artery smooth muscle cells by *Trypanosoma cruzi* and its gp83 ligand. *Chem Biodivers*. 2010;7:1051-64.
  16. Mukherjee S, Huang H, Petkova SB, Albanese C, Pestell RG, Braunstein VL, et al. *Trypanosoma cruzi* infection activates extracellular signal-regulated kinase in cultured endothelial and smooth muscle cells. *Infect Immun*. 2004;72:5274-82.
  17. Hassan GS, Mukherjee S, Nagajyothi F, Weiss LM, Petkova SB, De Almeida CJ, et al. *Trypanosoma cruzi* infection induces proliferation of vascular smooth muscle cells. *Infect Immun*. 2006;74:152-9.
  18. Puybasset L, Bea ML, Ghaleh B, Giudicelli JF, Berdeaux A. Coronary and systemic hemodynamic effects of sustained inhibition of nitric oxide synthesis in conscious dogs. Evidence for cross talk between nitric oxide and cyclooxygenase in coronary vessels. *Circ Res*. 1996;79:343-57.
  19. Cardoni RL, Antunez MI. Circulating levels of cyclooxygenase metabolites in experimental *Trypanosoma cruzi* infections. *Mediators Inflamm*. 2004;13:235-40.
  20. Strunk V, Hahnenkamp K, Schneuing M, Fischer LG, Rich GF. Selective iNOS inhibition prevents hypotension in septic rats while preserving endothelium-dependent vasodilation. *Anesth Analg*. 2001;92:681-7.
  21. Gutierrez FR, Mineo TW, Pavanelli WR, Guedes PM, Silva JS. The effects of nitric oxide on the immune system during *Trypanosoma cruzi* infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104 Suppl 1:236-45.
  22. Vieira PM, Francisco AF, De Souza SM, Malaquias LC, Reis AB, Giunchetti RC, et al. *Trypanosoma cruzi*: Serum levels of nitric oxide and expression of inducible nitric oxide synthase in myocardium and spleen of dogs in the acute stage of infection with metacyclic or blood trypomastigotes. *Exp Parasitol*. 2009;121:76-82.
  23. Saravia SG, Haberland A, Bartel S, Araujo R, Valda G, Reynaga DD, et al. Cardiac troponin T measured with a highly sensitive assay for diagnosis and monitoring of heart injury in chronic chagas disease. *Arch Pathol Lab Med*. 2011;135:243-8.
  24. Lagrand WK, Visser CA, Hermens WT, Niessen HW, Verheugt FW, Wolbink GJ, et al. C-reactive protein as a cardiovascular risk factor: more than an epiphenomenon? *Circulation*. 1999;100:96-102.
  25. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*. 2000;102:2165-8.