



Tema Libre

Estudio comparativo de características clínicas, bioquímicas y genéticas entre pacientes chagásicos y no chagásicos: asociación entre polimorfismos genéticos y variables marcadoras de riesgo cardiovascular.

Oscar Lassen(1); Gladys Dotto(2); Silvia Ojeda(3); Alicia Garutti(2); Patricia Bertolotto(3); Sandra Tabares(4); Rafael Gallerano(1); Adela Sembaj(4).

1. Departamento de Semiología UAMI 3 Escuela de Medicina. Consultorio de Chagas e hipertensión Hospital Córdoba, Córdoba. Argentina.
2. Laboratorio Central, Hospital Córdoba, Córdoba. Argentina;
3. Facultad de Matemáticas, Astronomía y Física. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
4. Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

INTRODUCCION

En la Enfermedad de Chagas (EC), la presencia del *Trypanosoma cruzi* (T.cruzi) es un factor determinante en la evolución hacia el deterioro de la función cardiaca. Para contrarrestar la infección, el huésped activa un conjunto de mecanismos de defensa (inmune e inflamatorio) que persisten en el tiempo. Podríamos atribuir parte de la responsabilidad de la variabilidad en la expresión de síntomas y evolución de la EC a características genéticas de cada individuo que permiten que se pongan en marcha mecanismos moleculares adaptativos del huésped, para sobrellevar la función cardiaca con normalidad y no poner en riesgo la vida [1,2].

Diversos trabajos han observado asociación entre polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) de diferentes factores en diferentes cardiomiopatías [3,4]. En este sentido poco se conoce de lo que sucede con la fisiopatogenia de la Cardiomiopatía Chagásica Crónica.

Nos propusimos identificar polimorfismos en el gen de la SOD-Mn (superóxido dismutasa dependiente de Manganeseo) en el gen de Endotelina 1- y su receptor A y asociar la variabilidad génica a características clínicas y/o bioquímicas en individuos con y sin infección con T.cruzi.

MATERIAL Y METODOS

Se seleccionaron 201 pacientes entre los 42 y 72 años de edad, que asistieron en forma consecutiva al Servicio de Chagas e Hipertensión, Departamento de Medicina Interna del Hospital Córdoba, Córdoba, Argentina. Fueron tratados de acuerdo con la declaración de Helsinki y firmaron un consentimiento informado antes de la admisión. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la institución. Se excluyeron pacientes hipertensos, las mujeres embarazadas.

Se les realizó electrocardiograma de 12 derivaciones en reposo (ECG), ecocardiografía transtorácico bidimensional Doppler color (EcoCG) y radiografía de Tórax (Rx) en las dependencias del Hospital Córdoba. Las lecturas de las técnicas no invasivas fue informada por observadores independientes. En el Laboratorio central a cada sujeto se les extrajo muestras de sangre para realizar las pruebas bioquímicas rutinarias y determinación serológica de la EC según lo indicado por la [5]. Se valoró la función hepática, renal, lípidos en plasma y perfil metabólico.

Se clasificó a las pacientes Chagásicos y no chagásicos en asintomáticos cuando presentaron Rx de tórax, ECG y EcoCG y datos clínicos normales, o en sintomáticos cuando al menos una de las evaluaciones fue anormal.

El grupo sintomáticos, fue subdividido en:

- Subgrupo 1 caracterizado por pacientes con Rx de tórax con hipertrofia cardiaca leve; ECG con bloqueo completo de rama derecha (BCRD), Hemibloqueo anterior izquierdo (HBAI) y/o alteraciones de repolarización y/o

extrasístoles ventriculares; y fracción de eyección ventricular izquierda (FEVI) mayor del 50%.

- Subgrupo 2 pacientes con hipertrofia cardíaca y cambios en el ECG como BCRD, HBAI, bloqueo A-V, signos de cardiopatía isquémica y FEVI inferior al 40%.
- Subgrupo 3 pacientes con cardiomegalia severa, insuficiencia cardíaca; arritmias y FEVI inferior al 30%, y dilatación de cavidades cardíacas. Bloqueo trifásico.

Análisis Molecular: La extracción de ADN se realizó por métodos convencionales [6]. El análisis de los SNPs se realizó mediante amplificación de una secuencia polimórfica por la reacción en cadena de la polimerasa y análisis del largo de los fragmentos de restricción, generados por la digestión de enzimas de restricción específicas para cada polimorfismo (PCR-RFLP) siguiendo las indicaciones publicadas [7,8,9,10].

Análisis estadístico: Las diferencias en las variables clínicas y bioquímicas entre grupos se evaluaron mediante análisis de χ^2 . Se consideró estadísticamente significativo un $p < 0,05$. Se analizó mediante Kruskal Wallis no paramétrico la interacción entre polimorfismos genéticos y los valores plasmáticos bioquímicos. Los análisis se realizaron mediante INFOSAT.

RESULTADOS

En la **Tabla 1** se presentan los datos demográficos y las principales características clínicas de los dos grupos de pacientes. La mayor de edad de los individuos chagásicos no resultó un factor estadísticamente confundente para observar mayor severidad en la lesión cardíaca entre los miembros de este grupo. No se observaron diferencias estadísticas en relación al género y en los parámetros bioquímicos. La evaluación cardíaca por Rx de tórax mostró mayor proporción de individuos no chagásicos con cardiomegalia grado I ($p < 0,03$), mientras que la cardiomegalia grado II y IV fue estadísticamente más frecuente entre los pacientes con Chagas ($p < 0,0001$). En este grupo se observó mayor frecuencia de trastornos de repolarización de grado 2 ($p < 0,05$) y afección electrocardiográficas severas ($p < 0,02$). Las imágenes del EcoCG muestran que la mayoría de pacientes sin Chagas no presentan alteraciones ($p < 0,0001$), mientras que las alteraciones más severas y fracción de eyección < 50 se detectan entre los pacientes chagásicos.

	Chagásicos	No chagásicos	p
N	72	129	
Edad	61±11	56±14	<0,005
Sexo			
Femenino	48 (66,7%)	77 (59,7%)	0,407
Masculino	24 (33,3%)	52 (40,3%)	0,407
Glucemia	95 (87-107)*	94 (84-109)*	0,782
CPK	92 (76-134)*	90 (70-120)*	0,358
LDH	332±96	343±104	0,457
Creatinina	0,89 (0,76-1,07)*	0,87 (0,75-1,04)*	0,718
Colesterol	221±56	214±57	0,415
TG	156±66	161±83	0,666
HDL-col	49±11	49±12	0,854
LDL	126±35	124±36	0,526
Rx			
1. Sin alteraciones (0)	9 (12,9%)	26 (21,9%)	0,179
2. cardiomegalia grado I (1)	11 (15,7%)	37 (31,1%)	<0,03
3. cardiomegalia grado II (2)	30 (42,8%)	50 (42,0%)	0,964
4. cardiomegalia grado III y IV (3)	20 (28,6%)	6 (5,0%)	<0,0001
ECG			
1. Sin alteraciones (0)	9 (12,5%)	29 (23,8%)	0,09
2. BCRD+ HBAI + HVI grado 1	16 (22,2%)	42 (34,4%)	0,103
3. + cambios isquémicos grado 2	41 (56,9%)	50 (41,0%)	<0,05
4. + FA o Bloqueo A-V completo grado 3	6 (8,4%)	1 (0,8%)	<0,02
EcoCG			
1. Sin alteraciones (0)	13 (18,3%)	73 (59,8%)	<0,0001
2. FE 50% + dilatación de cavidades- grado 1	18 (25,4%)	25 (20,5%)	0,542
3. FE menor de 40%- grado 2	3 (4,2%)	8 (6,6%)	0,711
	37 (52,1%)	16 (13,1%)	<0,0001

4. FE menor de 30% + dilatación de cavidades- grado 3			
---	--	--	--

Tabla 1. Datos demográficos y características Clínicas de los Grupos de pacientes. Los números representan el número de individuos y entre paréntesis el porcentaje y *mediana (rango intercuartílico 25th-75th), la edad se expresa como la media más menos desvío estándar. Los valores de p en negrita son estadísticamente significativos. Nivel de significación $p < 0.05$
 Valores Normales: Glucemia normal entre 70 mg/dL y 110 mg/d, CPK valores normales entre 24 a 194 U/ml, LDH < 480 UI/ml, AP < 270 UI/mL, Creatinina 0.7 - 1.4 mg/dL, Colesterol < 200 mg/dl, TG < 150 mg/dl, HDL-*chol* > 40 mg/dl, LDL < 100 mg/dl.

La distribución de frecuencias genotípicas de los polimorfismos estudiados en la población enfermos de Chagas y no chagásicos no presenta diferencias significativas. Esta distribución concuerda con el equilibrio Hardy Weinberg, indicando que se puede considerar a las poblaciones como genéticamente semejantes (**Tabla 2**).

Polimorfismo Genético	Chagásicos n (%)	No- chagásicos n (%)	p valor χ^2 test
+138/ex1 ins/del A ET-1 gen			
3A/3A	19 (25.8)	18 (14)	
3A/4A	45 (62)	88 (68)	
4A/4A	8 (10.3)	23 (18)	p=0.184
His323His ETA, gen			
CC	16 (22.8)	43 (33.3)	
CT	50 (70.1)	70 (54.3)	
TT	6 (7.9)	16 (12.5)	p =0.180
Ala-9Val SOD Mn gen			
Ala/Ala	12 (17.5)	21 (16)	
Ala/Val	47 (64.9)	85 (66)	
Val/Val	12 (17.5)	23 (18)	p=0.0068
Ile58Thr SOD Mn-gen			
Ile/ Ile	28 (38.6)	21 (16.7)	
Ile/ Thr	25 (35.1)	62 (47.9)	
Thr/Thr	19 (26.3)	46 (35.4)	p=0.0229

Tabla 2. Distribución de genotipos de los polimorfismos +138/ex1 ins/del A ET-1, Ala-9Val SOD y Ile58Thr SOD Mn en pacientes chagásicos, no chagásicos y controles. Los números indican el número de pacientes, entre paréntesis el porcentaje de individuos que llevan el genotipo. Ala: alanina, Val: valina, Ile: isoleucina, Thr: treonina, 3A: tres adeninas delección; 4A: cuatro adeninas inserción; C: citosina, T: timina. Nivel de significación $p < 0.05$.

La distribución de frecuencias polimórficas según el género calculado por la prueba de Chi cuadrado de Pearson, determinó una asociación significativa en población masculina chagásica y la baja frecuencia del genotipo homocigota CC del polimorfismo H323H del gen del receptor A de endotelina. Se observó relación entre el género femenino y el polimorfismo Ile/Thr + Thr/Thr del gen del SOD-Mn ($p=0.001$) (**Tabla 3**).

	Polimorfismo His323His ETA, del gen del Receptor A de Endotelina-1					
	Masculino			Femenino		
	CC n (%)	CT + TT n (%)	p valor	CC n (%)	CT + TT n (%)	p valor
No chagásicos	16 (30)	28 (70)		34 (43.8)	36 (56.3)	
Chagásicos	1 (4.8)	23 (95.2)	0.020	15 (32.4)	33 (67.6)	0.222
	Polimorfismo Ile58Thr del gen de SOD Mn					
	Masculino			Femenino		
	Ile/ Ile n (%)	Ile/ Thr + Thr/Thr n (%)	p valor	Ile/ Ile n (%)	Ile/ Thr + Thr/Thr n (%)	p valor
No chagásicos	13 (25)	39 (75)		13 (17.2)	64 (82.8)	
Chagásicos	8 (33.3)	16 (66.7)	0.345	19 (41.2)	28 (58.8)	0.010

Tabla 3. Distribución de frecuencias genotípicas de los polimorfismos del gen del Receptor A de endotelina y del gen de SOD-Mn
 Los números indican el número de pacientes, entre paréntesis el porcentaje de individuos que llevan el genotipo. Ile: isoleucina, Thr: treonina, C: citosina, T: timina. Nivel de significación $p < 0.05$.

Se evaluó la interacción entre los parámetros bioquímicos en la condición chagásicos y no chagásicos comparando asintomáticos de los no asintomáticos con los polimorfismos mediante la Prueba de Kruskal Wallis no paramétrico. Este análisis reveló una interacción entre la condición no chagásico y el polimorfismo Ile58Thr del gen SOD Mn para algunas variables bioquímicas. En los pacientes no chagásicos se observó que siendo asintomáticos son estadísticamente diferentes por que presentan genotipos diferentes para actividad fosfatasa alcalina y ácido úrico. La combinación genotípica Ile/ Thr + Thr/Thr muestra los valores más bajos en plasma para las dos variables mencionadas (**Tabla 4**). El polimorfismo ala/val del gen de SOD-Mn, mostró una asociación entre Ácido úrico ($p=0.0013$) y colesterol ($p=0.0320$) para el homocigota ala/ala, los pacientes que portan este genotipo presentan valores bajos en plasma (**Tabla 4**).

Polimorfismos genéticos	Asintomáticos	Sintomáticos	p
Ile58Thr del gen de SOD Mn	Media (DE)	Media (DE)	
	Fosfatasa Alcalina (mU/mL)		
Ile/ Ile	220.81	258.26	0.0129
Ile/ Thr +Thr/Thr	175.00*	259.69	
	Ácido Úrico (mg/dL)		
Ile/ Ile	1.48	1.54	0.0013
Ile/ Thr +Thr/Thr	0.88*	1.62	
	Ácido Úrico (mg/dL)		
Ala/val del gen de SOD Mn	Ácido Úrico (mg/dL)		
Ala/ala	0.51*	1.79	0.003
Ala/val+val/val	1.64	1.46	
	Colesterol (mg/dL)		
Ala/ala	172.00*	228.9	0.027
Ala/val+val/val	195.35	220.71	

Tabla 4. Análisis de polimorfismos Ile58Thr y Ala/val del gen de SOD Mn en pacientes no Chagásicos según la condición sintomática/asintomática.

Asintomáticos: pacientes con Rx, ECG y EcoCG compatibles con registros normales, Sintomáticas: Pacientes con alteraciones en Rx, ECG y EcoCG. Ile isoleucina; Thr treonina; ala alanina; val valina * indica el genotipo con diferencia estadística <0.05 . Los números representan la media, entre paréntesis la desviación estándar

El mismo comportamiento se observó al analizar los polimorfismos del eje endotelina, evidenciando una interacción significativa entre variables bioquímicas y el genotipo según la condición sintomático/asintomático de los pacientes no Chagásicos. Se observa que el genotipo 3A/4A + 4A/4A se asocia con pacientes no Chagásicos asintomáticos. Los valores medios determinados en pacientes asintomáticos portadores de 3A/4A + 4A/4A se muestran en la **Tabla 5**.

Polimorfismos genéticos	Asintomáticos	Sintomáticos	p
	Media (DE)	Media (DE)	
+138/ex1 ins/del A ET-1 gen			
	GOT (mU/mL)		
3A/3A	37,00 (12,91)	31,03 (17,83)	0.0413
3A/4A + 4A/4A	23,00 (6,54)*	31,85 (34,63)	
	Ácido Úrico (mg/dL)		
3A/3A	5,29 (1,72)	5,60 (1,59)	0.0007
3A/4A + 4A/4A	3,86 (1,02)*	5,54 (1,61)	
	Colesterol (mg/dL)		
3A/3A	206,0 (50,63)	224,18 (59,96)	
3A/4A + 4A/4A	180,0 (52,07)*	223,27 (54,57)	0.0326
	LDL (mg/dL)		
3A/3A	130,29 (37,65)	124,64 (31,21)	0.0130
3A/4A + 4A/4A	97,24 (30,06)*	127,64 (33,67)	
His323His ETA, gen	Fosfatasa Alcalina (mU/mL)		
CC	198,50 (55,43)*	264,51 (88,26)	0.0319
CT + TT	210,57 (56,82)	254,51 (67,00)	
	Colesterol (mg/dL)		
CC	172,30 (43,05)*	241,02 (64,84)	0.0029
CT + TT	198,50 (56,45)	205,28 (40,16)	

Tabla 5. Análisis de polimorfismos de endotelina-1 y su receptor A y la condición sintomática/asintomática de pacientes no Chagásicos.

Asintomáticos: pacientes con Rx, ECG y EcoCG compatibles con registros normales, Sintomáticas: Pacientes con alteraciones en Rx, ECG y EcoCG. 3A

del: tres adeninas delección; 4A ins: cuatro adeninas inserción; C: citosina, T: timina. * indica el genotipo con diferencia estadística <0.05. Los números representan la media, entre paréntesis la desviación estándar.

El análisis de interacción entre polimorfismos en los pacientes chagásicos no mostro ninguna interacción con ningún genotipo, de modo que, los valores de los parámetros bioquímicos correspondientes a los pacientes chagásicos, no permite establecer una asociación con algún genotipo particular.

Se observa la **Tabla 6** que el alelo T es estadísticamente menos frecuente entre los pacientes no chagásicos asintomáticos. Para el grupo de pacientes chagásicos no se observa ninguna diferencia para ninguno de los alelos de estos polimorfismos.

Alelos	Asintomáticos	Sintomáticos	
		Grado I	Grado II y III
3A	50 (10)	71 (7)	56 (32)
4A	50 (10)	28 (4)	44 (27)
C	73 (8)*	57 (7)	60 (35)
T	27 (3)*	43 (6)	40 (23)

Tabla 6. Frecuencias alélicas de los polimorfismos ET-1 y ET(A) en Pacientes No chagásicos con y sin sintomatología.

Los valores representan el número de individuos expresados en porcentaje, entre paréntesis el tamaño de la muestra. *p<0,05

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

El presente trabajo comparó en pacientes chagásicos y no chagásicos las características clínicas y cardiológicas asociadas a la composición genética, a fin de detectar algún perfil genético combinado con factores de riesgo convencionales que describan a los pacientes chagásicos asintomáticos y que los diferencie de los sintomáticos y de la población no chagásica. Encontramos que los pacientes chagásicos muestran una mayor afección cardiovascular que se manifiesta en edades tempranas independiente del género y que siendo genéticamente semejantes a los individuos no chagásicos, las variantes genéticas analizadas no contribuyen en ninguna manera a la evolución de la sintomatología. Es más, factores protectivos como el sexo femenino, la edad joven, niveles de lípidos plasmáticos normales no privilegian al paciente de su condición de cardiópata.

En la condición no chagásico, se observó la participación genética de los polimorfismos estudiados asociada a determinados parámetros bioquímicos de riesgo cardiovascular.

BIBLIOGRAFIA

1. Consenso de Enfermedad de Chagas Mazza. 2011.SOCIEDAD ARGENTINA DE CARDIOLOGÍA CONSEJO DE ENFERMEDAD DE CHAGAS "DR. SALVADOR MAZZA Rev Argent Cardiol; 79: 544-564
2. J Rodríguez-Coura, J.Borges-Pereira. 2010 Chagas Disease: 100 years after its discovery. A systemic review. Acta Tropica;215:5-13
3. Brown MJ, Sharma P, Stevens PA .2000.Association between diastolic blood pressure and variants of the endothelin-1 and endothelin-2 genes. J Cardiovasc Pharmacol; 35(4 Suppl 2):S41-43
4. Brugada R, Kelsey W, Lechin M.,et al .1997 . Role of candidate modifier genes on the phenotypic expresión of hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. J Investig 45 (9):542-51
5. OMS/OPS 1998 Normas Nacionales e Internacionales de Laboratorio para la Enfermedad de Chagas. Tratado Cono Sur. Buenos Aires, Ministerio de Salud de la Nación.
6. Sambrook J and. Russell DW. 2001 Molecular Cloning a Laboratory Manual. 3º Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York
7. Akyol O, Yanik M, Elyas H. 2005 Association between Ala-9Val polymorphism of Mn-SOD gene and Schizophrenia Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological. Psychiatry; 29 123-131.
8. Asai T, Ohkubo T, Katsuya T, Higaki J, Fu Y, Fukuda M, Hozawa A, Matsubara M, Kitaoka H, Tsuji I, Araki T, Satoh H, Hisamichi S, Imai Y, Ogihara T. 2001 Endothelin-1 gene variant associates with blood pressure in obese Japanese subjects: the Ohasama Study. Hypertension. 1;38(6):1321-4
9. Borgstahl GE, Parge HE, Hickey MJ, Johnson MJ, Boissinot M, Hallewell RA, Lepock JR, Cabelli DE, Tainer JA. 1996 Human mitochondrial manganese superoxide dismutase polymorphic variant Ile58Thr reduces activity by destabilizing the tetrameric interface Biochemistry. Apr 9;35(14):4287-97.
10. Colombo MG, Ciofini E, Paradossi U.,et al 2006. ET-1 Lys198Asn and ET (A) receptor H323H polymorphisms in heart failure. A case-control study. Cardiology; 105(4):246-52.

Publicación: Noviembre 2013

Preguntas, aportes y comentarios serán respondidos por los autores a través de la lista de **Enfermedad de Chagas**.
Llene los campos del formulario y oprima el botón "Enviar".
Ver mensajes: [Noviembre](#)

Formulario desactivado

30/11/2013

Preguntas, aportes o comentarios

Nombre y apellido:

Argentina

Dirección de email:

Confirmación de email: